

# *Acta Toxicológica Argentina*

---

Publicación de la Asociación Toxicológica Argentina  
Buenos Aires - Argentina



Asociación Toxicológica Argentina

Volumen 26  
N° 3  
Diciembre 2018

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

## Asociación Toxicológica Argentina

### Comisión directiva

#### Presidente

Mirtha M. Nassetta

#### Vicepresidente

Ricardo A. Fernández

#### Tesorera

Mirta Ryczel

#### Secretaria

Julietta S. Borello

#### Vocales

Fernanda Simoniello

Jorge Zavatti

Patricia Lucero

#### Vocales suplentes

Ana Irene Cañas

Augusto Piazza

Noemí Reartes

#### Comité científico

Aldo Sergio Saracco

Silvia Cristina Cortese

María Graciela Bovi Mitre

Gerardo Daniel Castro

Adriana Silvia Ridolfi

#### Órgano de fiscalización

Daniel González

Patricia Quiroga

Adriana Piñeiro

#### Tribunal de honor

José A. Castro

Edda C. Villaamil Lepori

Elda Cargnel

### 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; Dirección de Salud y Educación Ambiental ACUMAR*

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

Julietta Borello, *Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR)*

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

Patricia Lucero, *Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR)*

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

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

Edda C. Villaamil Lepori, *Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA*

#### 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*

Amalia Laborde, *Universidad de la República, Uruguay*

Bruno Lomonte, *Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica*

Veniero Gambaro, *Università di Milano, Italia*

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

Nelly Mañay, *Universidad de la República, Uruguay*

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

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

Haydée N. Pizarro, *CONICET, Argentina*

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

María M. Salseduc, *Laboratorios Bagó, Argentina*

Carlos Sèvcik, *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

Analysis of histopathological abnormalities in the gills of *Astyanax jacuhiensis* (Characidae) for assessment of water quality in the Ijuí River, southern Brazil  
*Rodrigues Batista, Jeferson; Zimmermann Prado Rodrigues, Gabriela; da Rosa Neto, Emitério; Gehlen, Günther; Basso da Silva, Luciano* ..... 99

Análise do impacto do uso de organofosforados e carbamatos em trabalhadores rurais de um município da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul  
*Klein, Bianca N.; Staudt, Keli J.; Missio, Raquel; Peruzzi Hammad, Marielli; Almeida Alves, Izabel* ..... 104

### Reportes de casos

Primer registro de una picadura causada por un macho de *Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841 (Araneae: Theridiidae)  
*Peralta, Luciano; Ansalidi, María F.; Zeinsteger, Pedro* ..... 113

### Revisiones

Os riscos do uso de plantas medicinais durante o período gestacional: uma revisão bibliográfica  
*Abreu da Silva, Ana C., Botelho de Santana, Lourenço L.* ..... 118

Addenda ..... 126

Instrucciones para los autores ..... 131

Los resúmenes de los artículos publicados en Acta Toxicológica Argentina se pueden consultar en la base de datos LILACS, en la dirección literatura científica del sitio [www.bireme.br](http://www.bireme.br)

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

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

## ARTÍCULOS ORIGINALES

---

### Analysis of histopathological abnormalities in the gills of *Astyanax jacuhiensis* (Characidae) for assessment of water quality in the Ijuí River, southern Brazil Análisis de anomalías histopatológicas en las branquias de *Astyanax jacuhiensis* (Characidae) para la evaluación de la calidad del agua del Río Ijuí, sur de Brasil

Rodrigues Batista, Jeferson<sup>1</sup>; Zimmermann Prado Rodrigues, Gabriela<sup>1</sup>; da Rosa Neto, Emitério<sup>2</sup>; Gehlen, Günther<sup>1,2</sup>; Basso da Silva, Luciano<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Pesquisa em Indicadores de Qualidade Ambiental, Universidade Feevale, RS 239, 2755. CEP 93525-075, Novo Hamburgo, RS, Brazil. <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental, Universidade Feevale.

\*lucianosilva@feevale.br

Recibido: 21 de febrero de 2018.

Aceptado: 2 de noviembre de 2018

**Abstract.** The aim of this study was to assess histopathological alterations in the gills of *Astyanax jacuhiensis* from different points along the Ijuí River and to determine if these abnormalities can be used as biomarkers in biomonitoring studies. Fish specimens were collected from three sites on the Ijuí River in winter and summer and examined histologically for abnormalities of the secondary lamellae of their gills. For each fish, estimates were made of the frequencies of lamellae with edema, hyperplasia, hypertrophy, epithelium lifting, lamellar fusion or deformation, in addition to the overall frequency of abnormal lamellae and the number of abnormalities per lamella. No differences were observed between sampling points during the winter. In summer the frequency of lamellae with hypertrophy was significantly higher at site 3 (Pirapó) than at site 2 (Santo Ângelo) and the frequency of abnormal lamellae was increased at site 1 (Ijuí) in comparison to site 3. Additionally, all three sample points had a significantly higher value in the winter than in the summer for one of the histological parameters analyzed. These results indicate temporal and spatial variation in the level of contamination of the Ijuí River and also shows that fish gill histopathology can be used for in situ biomonitoring studies.

**Keywords:** Environmental quality; Biomarker; Gills alterations, Histopathology.

**Resumen.** El agua de la cuenca del río Ijuí, en el sur de Brasil, se utiliza principalmente para irrigar los cultivos y para el abastecimiento público de agua. El objetivo del presente estudio fue evaluar alteraciones histopatológicas en las branquias de *Astyanax jacuhiensis* en diferentes puntos del Río Ijuí y determinar si tales anomalías pueden ser usadas como biomarcadores en estudios de biomonitoramiento. Los especímenes fueron recolectados en tres puntos del río durante el invierno y el verano y luego las lamelas secundarias de las branquias fueron examinadas histológicamente para la presencia de anomalías. Para cada pez se estimaron las frecuencias de lamelas con edema, hiperplasia, hipertrofia, desprendimiento del epitelio, fusión y deformación lamelar. Además, se obtuvieron las frecuencias de lamelas alteradas, así como el número medio de cambios por lamela. No se observaron diferencias entre los puntos de recolección durante el invierno. En el verano, la frecuencia de lamelas con hipertrofia fue significativamente mayor en el punto 3 (Pirapó) que en el punto 2 (Santo Angelo), y el punto 1 (Ijuí) presentó mayor frecuencia de lamelas alteradas que el punto 3. Además, en los tres puntos muestreados, el período de invierno presentó valores superiores para uno de los parámetros histológicos analizados. Estos resultados indican variación espacial y temporal en los niveles de contaminación del Río Ijuí y demuestran que el análisis histológico de las branquias de peces puede ser utilizado en estudios de monitoreo in situ.

**Palabras clave:** Calidad ambiental; Biomarcadores; Alteraciones branquiales; Histopatología.

### Introduction

Pollution of freshwater ecosystems has become a matter of great concern because of the threat to public water supplies and to the aquatic biota (Jordão *et al.* 2002). Contaminated fresh-

waters induce changes to structural and physiological aspects of the biota (Vutukuru *et al.* 2007). In this context, fish have been employed as sentinel organisms in biomonitoring studies,

because of the key position they occupy in the trophic chain (Viarengo *et al.* 2007).

A biomarker has been defined as a biological response to a chemical or complex mixtures that gives a measure of exposure, and sometimes also of toxic effects (Peakall and Walker 1994). Biomarker responses exhibited by fish to pollutants can be used as early warning signs of putative stressors and can often be used to identify the type of stressor (Vutukuru *et al.* 2007). It is generally accepted that histopathological biomarkers reflect the effects of exposure to a variety of aquatic contaminants (Mallatt 1985; Nascimento *et al.* 2012).

The fish gill is a multifunctional organ involved not only in respiration but also in osmoregulation, metabolism of circulating hormones, nitrogen excretion and acid base balance (Olson 1991). Gills have large surface areas in direct contact with potential irritants, and so histopathological examination of these organs is critical to assessment of general fish health, and enables their use as biomarkers of water pollution (Olojo *et al.* 2005; Farombi *et al.* 2007; Flores-Lopes and Thomaz, 2011; Van Dyk *et al.* 2012). A variety of factors including environmental pollutants and many parasites can induce morphological anomalies in fish gills. This organ typically responds rapidly to various irritants and the gill lesions that result have a negative effect on the performance of the fish and increase its susceptibility to secondary diseases, potentially causing fish mortality (Flores-Lopes and Thomaz 2011).

In the present study, a fish species known in Brazil as lambari (*Astyanax jacuhiensis* [Cope 1894] Characiformes: Characidae) was used to assess the water quality of a river, which is subject to the influence of agriculture. The hydrographic basin of the Ijuí River is located in Brazil's southernmost state, Rio Grande do Sul, and has a total area of 10,779 km<sup>2</sup> and a population of 508,336 inhabitants. Water is primarily used to irrigate crops and for the public water supply. The most significant environmental problems in the region of the Ijuí River hydrographic basin are discharge of untreated sewage into water bodies, farming methods that do not include soil conservation practices, indiscriminate use of pesticides, and processes of erosion and silting of springs and other water sources (Fepam 2010). This study was conducted with the objective of conducting a water quality assessment at three different points along the Ijuí River, employing ab-

normalities observed in the gills of *Astyanax jacuhiensis* as biomarkers.

### Materials and methods

Specimens of *A. jacuhiensis* were collected with a landing net at three points along the Ijuí River. Collections were conducted during the winter (July) of 2012 and the summer (January) of 2013, exerting sufficient sampling effort to capture five fish at each point. Sampling site 1 (28° 17' 05" S and 053° 48' 32,6" W) is located upstream of Ijuí municipality (78.915 inhabitants); sampling site 2 (28° 19' 23,5" S and 054° 17' 37,4" W) is located downstream site 1 and upstream Santo Ângelo municipality (78.836 inhabitants), and sampling site 3 (28° 03' 03,2" S and 055° 10' 49,2" W) is located downstream site 2 and upstream Pirapó municipality (2.738 inhabitants), around 30 km from the Ijuí River mouth, which flows into the Uruguay River. The distance between sites 1 and 2 is around 40 km and the distance between sites 2 and 3 is approximately 110 km. In the area of the three sampling sites there is intensive use of the land for agriculture. In the present study, ethical guidelines for the protection of animal handling and welfare were followed.

After capture, fish were killed by decapitation and the first arch of the right gill was removed from each fish and fixed in Bouin solution for 16h, washed in running water and then stored in alcohol at 70 %. The samples were later dehydrated in a graded series of alcohols and then set in paraffin. A rotary microtome (Leica, model RM 2125) was used to prepare 7 µm sections which were mounted on gelatin-coated slides preparatory to staining with hematoxylin/eosin (H.E).

The slides were examined under an optical microscope (Olympus CX 41) and images were digitized using a CCD camera (Micrometrics DSC 3000). For the histological study, from six to ten images were analyzed per fish. Eight secondary lamellae were viewed per image and any occurrences of the following histological abnormalities were noted: hyperplasia of the gill filament epithelium, lamellar hypertrophy, edema, lamellar fusion and deformation and epithelial lifting of gill filament. For each fish, the frequency of lamellae with each type of abnormality was estimated, as was the overall frequency of abnormal lamellae. Additionally, the total number of abnormalities was used to calculate the mean number of abnormalities per lamella.

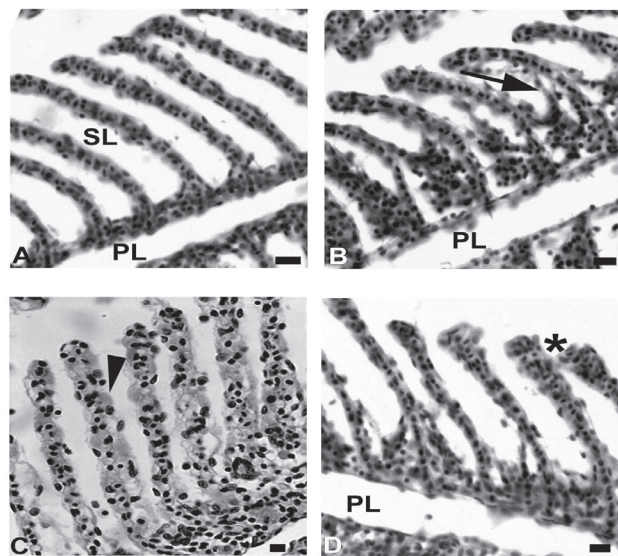
Data were expressed as mean ± standard de-

viation. Differences between sampling sites were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test and different sampling periods at the same site were compared using the *T*-test. The level of significance was set at  $p \leq 0.05$ . All analyses were conducted using the statistical package for social sciences (SPSS) for Windows, version 18.0.

## Results

The results of fish collected during the winter revealed all seven types of gill abnormalities; only lamellar deformation was not observed at site 3 and hyperplasia of the gill filament epithelium was observed at site 1 only. *Figure 1* shows images of normal secondary lamella, hyperplasia and epithelial lifting of gill filament.

There were no significant differences between the three sites in samples collected during the winter considering the frequencies of the individual types of lamellar abnormalities, as well as the overall frequency of abnormal lamellae and the mean number of abnormalities per lamella (*Table 1*). At all three sites, more than 65 % of lamellae exhibited some type of abnormality, with around 1.2 abnormalities per lamella.



**Figure 1.** Histological sections of gills of *A. jacuhiensis* stained with HE. (A) General view of gills, presenting primary (PL) and secondary (SL) lamellae with no alterations from fishes captured in the summer at the site 3. (B) Epithelial lifting and hyperplasia of gill filament (arrow) observed in the animals from site 1 in the winter. (C) Secondary lamella exhibiting hypertrophic cells (arrowhead) in the gills of fishes from site 2, collected in the winter. (D) Secondary filaments from site 3 from fishes obtained in the winter showing less hyperplasia (asterisk). Bars = 10  $\mu$ m.

In summer, fish exhibiting lamellar deformation were not observed (*Table 1*). In this sampling period significant differences between sampling sites were observed for the frequency of lamellae with hypertrophy ( $p = 0.01$ ) and for the overall frequency of abnormal lamellae ( $p = 0.046$ ). The frequency of lamellae with hypertrophy at site 3 was significantly higher than at site 2, while site 1 did not differ from sites 2 and 3. The overall frequency of abnormal lamellae differed significantly between sites 1 and 3 (69% vs. 41%), but neither of these two were different from site 2 (61% of abnormal lamellae).

Comparison of results for fish captured in winter with those captured in the summer at the same sampling sites revealed significant differences for all three sites (*Table 1*). In all cases, higher frequencies of abnormalities were observed in winter samples than in summer samples. At site 1, there was a difference in the frequency of lamellar deformation ( $p = 0.038$ ), at site 2 the frequencies of lamellar hypertrophy differed ( $p = 0.013$ ) and at site 3 the number of abnormalities per lamella was different ( $p = 0.025$ ).

## Discussion

Pollution is defined as undesirable alterations in the environment that can have harmful consequences for organisms. Water resources have been impacted by discharge of high levels of pollutants resulting from anthropogenic activities. In this context, biological responses to stress induced by pollutants can be used as early warnings signs of toxic effects (Flores-Lopes and Thomaz 2011). Gills are vital structures for fish health and consequently abnormalities to these structures can damage the animal and can be used as indicators of environmental contamination.

In the present study, abnormalities observed in the gills of *A. jacuhiensis* were used as potential biomarkers of water quality in the Ijuí River. This species feeds on insects, zooplankton, algae, plants and the eggs of other fish and can tolerate physical and chemical variations to water (Bemvenuti and Moresco 2005). Therefore, the species is a good choice for assessment of the water column and suspended or dissolved materials. Nascimento *et al.* (2012) observed that the water column dweller *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier 1829) had gills most susceptible to changes, making the species more suitable for assessing environmental quality in rivers.

The results observed for this species demonstrated that about 60% of secondary lamellae

**Table 1.** Histopathological abnormalities in gills of *A. jacuhiensis* collected at three sampling sites along the Ijuí River, RS, Brazil.

Sampling period/site	Edema	Lamellar hypertrophy	Lamellar hypertrophy	Epithelial lifting	Lamellar fusion	Lamellar deformation	Abnormal Lamella	Abnormalities /Lamella
Winter								
Site 1	0.16±0.04	0.08±0.11	0.22±0.08	0.34±0.24	0.17±0.17	0.03±0.02*	0.79±0.08	1.26±0.07
Site 2	0.15±0.09	0.21±0.09*	0.27±0.24	0.07±0.07	0.18±0.18	0.01±0.02	0.68±0.12	1.20±0.26
Site 3	0.15±0.06	0.20±0.07	0.18±0.10	0.16±0.27	0.09±0.11	0.00±0.00	0.66±0.19	1.12±0.18*
p	0.85	0.41	0.95	0.24	0.66	0.11	0.57	0.75
Summer								
Site 1	0.37±0.10	0.03±0.05ab	0.26±0.14	0.12±0.25	0.11±0.08	0.00±0.00*	0.69±0.06a	0.88±0.27
Site 2	0.24±0.12	0.00±0.00a*	0.30±0.18	0.06±0.09	0.10±0.12	0.00±0.00	0.61±0.21ab	0.73±0.40
Site 3	0.20±0.12	0.07±0.08b	0.16±0.08	0.03±0.03	0.01±0.03	0.00±0.00	0.41±0.18b	0.45±0.19*
p	0.11	0.01	0.38	0.82	0.12	1.0	0.046	0.09

a,b Sites marked with different letters differ significantly. \* Significant difference between winter and summer in the same sampling site.

presented alterations and the most frequent changes in the gills were hyperplasia of epithelium, followed by lamellar hypertrophy, edema, lamellar fusion and epithelial lifting of gill filament. Most gill damage is either direct, as a result of the action of pollutants on the cells, or indirect, caused by defense or compensatory mechanisms (Wendelaar-Bonga 1997).

The frequencies of abnormalities observed in gills from *A. jacuhiensis* did not exhibit differences between sample points at either of the two sample times, suggesting that, in terms of their effects on gills, the environmental conditions in the Ijuí River were similar at all three sites. Edema and epithelial lifting were observed at all three sites and are the first signs of serious abnormalities in gills (Tophon *et al.* 2003). Henares *et al.* (2008) observed lamellar fusion, edema and epithelial lifting of gill filaments in gills of *Oreochromis niloticus* after exposure to the herbicide Diquat. Considering that the primary economic activity in the Ijuí River basin is agriculture, it is possible that some of the abnormalities observed in gills of *A. jacuhiensis* are the result of exposure to pesticides. However, different irritants may cause almost identical lesions and gill structural damage may merely reflect a generalized stress response rather than toxicant- or parasite-specific responses (Mallatt 1985; Haaparanta *et al.* 1997). At all three sites, samples collected during the winter exhibited significantly higher values for one of the histological parameters analyzed, which indicates temporal variation

in xenobiotic concentration and/or composition along the entire extent of the Ijuí River, with winter exhibiting more stressful conditions. The data reported here are similar to findings from another study that also observed more severe damage to fish gills during the winter (Camargo and Martinez 2007).

Field studies using biomarkers offer the advantage of only quantifying pollutants that are biologically available and can integrate the effects of multiple stressors (Adams 1990). Morphological parameters are higher-level responses following chemical and cellular interaction and are generally indicative of irreversible damage. Histopathological alterations in the gills of *A. jacuhiensis* proved to be a very suitable biomarker for *in situ* studies, since seasonal or temporal variation was detected at all three sampling sites. However, caution should be taken in interpreting these results because the number of samples by region and season are small to establish definitive conclusions.

## References

Adams S.M., Shugart L.R., Southworth G.R., Hinton D.E. Application of bioindicators in assessing the health of fish populations experiencing contaminant stress. In McCarthy J.F., Shugart L.R., editors. Biomarkers of environmental contamination. Boca Raton: Lewis Publishers; 1990. P. 333-353.

Bemvenuti M.A., Moresco A. Peixes: áreas de banhados e lagoas costeiras do extremo sul do



Brasil. Porto Alegre: ABRH; 2005, P. 63.

Camargo M.M.P., Martinez C.B.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop Ichthyol.* 2007;5(3):327-336.

Farombi E.O., Adelowo O.A., Ajimoko Y.R. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in african catfish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *Int J Environ Res Public Health.* 2007;4(2):158-165.

Flores-Lopes F., Thomaz A.T. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Braz J Biol.* 2011; 71(1):198-188.

Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) Henrique Luiz Roessler. 2010. Qualidade das águas da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos. [online]. Available from: [http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/bacia\\_uru\\_ijui.asp](http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/bacia_uru_ijui.asp) (Accessed: December 12, 2017).

Haaparanta A., Valtonen E.T., Hoffmann R.W. Gill anomalies of perch and roach from four lakes differing in water quality. *J Fish Biol.* 1997;50(3):575-591.

Henares M.N., Cruz C., Gomes G.R., Pitelli R.A., Machado M.R.F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida Diquat® na brânquia e no fígado de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Acta Sci Biol Sci.* 2008;30(1):77-82.

Jordão C.P., Pereira M.G., Bellato C.R., Pereira J.L., Matos A.T. Assessment of water systems for contaminants from domestic and industrial sewages. *Environ Monit Assess.* 2002;79(1):75-100.

Mallatt J. Fish Gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Can J Fish Aquat Sci.* 1985;42(4):630-648.

Nascimento A.A., Araújo F.G., Gomes I.D.,

Mendes R.M.M., Sales A. Fish gills alterations as potential biomarkers of environmental quality in a eutrophized tropical river in South-Eastern Brazil. *Anat Histol Embryol.* 2012;41(3):209-216.

Olojo E.A.A., Olurin .KB., Mbaka G., Oluwemimo A.D. Histopathology of the gill and liver tissues of the African catfish *Clarias gariepinus* exposed to lead. *Afr. J. Biotechnol.* 2005;4:117-122.

Olson K.R. Vasculature of the fish gill: anatomical correlates of physiological functions. *J Electron Microscop Tech.* 1991;19(4):389-405.

Peakall D.B., Walker C.H. The role of biomarkers in environmental assessment (3). *Vertebrates. Ecotoxicology.* 1994;3(3):173-179.

Thophon S.M., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhuan S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer* in acute and sub-chronic cadmium exposure. *Environ Pollut.* 2003;121(3):307-320.

Van Dyk J.C., Cochrane M.J., Wagenaar G.M. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere.* 2012;87(4):301-311.

Viarengo A., Lowe D., Bolognesi C., Fabbri E., Koehler A. The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2007;146(3):281-300.

Vutukuru S.S., Pauleena J.S., Rao J.V., Anjaneyulu Y. Architectural changes in the gill morphology of the freshwater fish, *Esomus danricus* as potential biomarkers of copper toxicity using automated video tracking system. *Environl Bioindic.* 2007;2(1):3-14.

Wendelaar-Bonga S.E. The stress response in fish. *Physiol Rev.* 1997;77(3):591-625.

## **Análise do impacto do uso de organofosforados e carbamatos em trabalhadores rurais de um município da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul** **Impact analysis of the use of organophosphates and carbamates rural workers of the municipality in a northwest region of Rio Grande do Sul**

Klein, Bianca N.<sup>1</sup>; Staudt, Keli J.<sup>2</sup>; Missio, Raquel<sup>1</sup>; Peruzzi Hammad, Marielli<sup>1</sup>; Almeida Alves, Izabel<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. URI Campus Santo Ângelo, Rua: Universidade das Missões, 464, Bairro Universitário, Santo Ângelo, RS, Brasil, CEP 98.802-470. Telefone: (55) 3313-7900. Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre/RS, Brasil.

\*izabelalmeida@hotmail.com

Recibido: 23 de febrero de 2018.

Aceptado: 6 de noviembre de 2018.

**Resumo.** Anualmente milhões de agricultores são intoxicados no mundo, e destes, mais de 20 mil morrem em consequência da exposição a agrotóxicos. Intoxicações por organofosforados (OF) e carbamatos (CAR) representam as maiores ameaças à saúde dos trabalhadores rurais. Os OF e CAR atuam na inibição da enzima colinesterase, sendo assim a inibição desta mostra-se um excelente indicador da severidade da intoxicação. O objetivo deste estudo foi analisar o impacto do uso de OF e CAR em trabalhadores rurais na cidade de Mato Queimado/RS. Foi realizado um estudo transversal, prospectivo e experimental. Investigaram-se 27 trabalhadores rurais expostos. Foram realizadas coletas sanguíneas e dados epidemiográficos nos meses de fevereiro e março de 2014. A atividade da colinesterase foi determinada através do método bioquímico cinético colorimétrico. A faixa etária média dos participantes foi 34,6 anos ( $\pm$  8,5). A forma de contato mais prevalente foi a aplicação do produto (88,9%). O tempo médio de exposição foi de 10,7 anos. 70,4% relataram usar equipamentos de proteção individual (EPI), sendo mais frequente o uso de máscara (55,5%). A média dos valores de colinesterase para foi de 3244,45 U/l ( $\pm$  345,8), níveis estes abaixo dos de referência. Através dos resultados obtidos nesta pesquisa torna-se imprescindível a utilização de meios de monitoramento biológico dos trabalhadores rurais na finalidade de prevenção e promoção da saúde.

**Palavras-chave:** Inseticidas organofosforados; Carbamatos; Trabalhadores rurais; Colinesterase

**Abstract.** Annually millions of rural workers are intoxicated in the world, and of these, more than 20,000 die as a result of exposure to pesticides. Intoxication by insecticides organophosphate (OF) and carbamates (CAR) represent the greatest threats to the health of rural workers. OF CAR and act on the inhibition of cholinesterase enzyme, thus inhibition of this proves to be an excellent indicator of the severity of the intoxication. The objective of this study was to analyze the impact of using OF CAR and in rural workers in the city of Mato Queimado/RS. A cross-sectional, prospective and experimental study was conducted. Twenty-three rural workers exposed were investigated. Sample collection and data demographic were conducted in February and March 2014. The cholinesterase activity was determined by biochemical kinetic colorimetric method. The average age of participants was 34.6 years ( $\pm$  8.5). The most prevalent form of contact is via the application of the product (88.9%). The mean duration of exposure was 10.7 years. Still, 70.4% reported using personal protective equipment (PPE), more frequent use of mask (55.5%). The average values for cholinesterase was 3244.45 U/l ( $\pm$  345.8) levels below those of the reference. The results obtained in this study are essential to use biological monitoring means of rural workers in purpose of prevention and health promotion.

**Keywords:** Insecticides organophosphates; Carbamates; Rural workers; Cholinesterase.

### **Introdução**

A lei federal N° 7.802/1989 define agrotóxicos como sendo: “Os produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção das florestas nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídri-

cos e industriais. Com finalidade de preservar a produção da ação danosa de seres vivos considerados nocivos” (Lei federal N° 7.802/1989). Estima-se que milhões de agricultores são intoxicados anualmente no mundo e destes, mais de 20 mil morrem em consequência da exposição à agrotóxicos, e destes a maioria reside em países ainda em desenvolvimento. Como prin-

principais causas desta ocorrência pode-se citar a falta de legislação e de controle do uso adequado destes produtos, associados ao baixo nível de informação dos trabalhadores quanto aos riscos que estão expostos (Pires et al. 2005).

Autoridades de diversos países e principalmente a Organização Mundial da Saúde (OMS) preocupam-se com os inúmeros casos de intoxicações por pesticidas organofosforados (OF) e carbamatos (CAR), destes os OF representam as maiores ameaças para a saúde, devido seu potencial toxicológico e facilidade de exposição (Faria et al. 2004).

O avanço da prática agrícola no Brasil deu-se com o surgimento de novas tecnologias que envolvem a utilização de sementes geneticamente modificadas e insumos industriais como os fertilizantes e os agrotóxicos. A implementação destas técnicas, infelizmente, nem sempre estão acompanhadas por programas de qualificação dos trabalhadores, e como consequência expõem as populações rurais a riscos ocupacionais. Destacam-se os riscos ocupacionais causados pelo uso prolongado de substâncias químicas como os OF e CAR, substâncias estas altamente perigosas que são capazes de produzir desequilíbrios ambientais e diversos problemas à saúde humana (Moreira et al. 2002).

Os OF são ésteres derivados do ácido fosfórico, e altamente lipossolúveis, o que favorece a acumulação destes compostos no organismo (Moreau et al. 2008). Já os CAR são ésteres do ácido carbâmico e apresentam lipossolubilidade (inferior aos OF) e pouca solubilidade em água, são considerados de toxicidade aguda média, não apresentam capacidade de acumulação nos tecidos gordurosos, e sua concentração tende a ser maior nos órgãos envolvidos na sua biotransformação, como por exemplo, o fígado. Por apresentar maior instabilidade que os OF, são menos persistentes no organismo e no meio ambiente, sendo que sua degradação ocorre mais rapidamente (Oda et al. 2008).

A colinesterase é uma enzima com função de catalisar a hidrólise da acetilcolina e outras colinas, regulando a transmissão do impulso nervoso nas sinapses do nervo e na junção neuromuscular. Dois tipos de colinesterase são determinadas: acetilcolinesterase (AChE) e a pseudocolinesterase também conhecida como butirilcolinesterase. Enquanto a acetilcolinesterase é encontrada nas hemácias e terminações de nervos colinérgicos, a pseudocolinesterase encontra-se no plasma, fígado, músculo liso e adipócitos (Strelitz et al. 2014).

A pseudocolinesterase é geralmente utilizada como referência em testes clínicos que refletem os níveis de enzimas no sangue que sofrem quimicamente com a ação de colinesterase, como os OF e CAR. No plasma de humanos a proporção de pseudocolinesterase a acetilcolinesterase é de 1.000: 1. Como as concentrações de acetilcolinesterase no sistema nervoso periférico dificilmente serão realizadas, os valores de pseudocolinesterase servem como substituto de informações para projetar perigos potenciais para saúde humana (Tunsaringkarn et al. 2013).

A cinética da inibição da acetilcolinesterase parece ser dependente de dois fatores: a afinidade pela enzima e a capacidade de fosforilação. A ligação com o OF gera uma enzima estável, fosforilada e não reativa, que em circunstâncias normais pode ser muito pouco reativada, gerando sinais e sintomas prolongados e persistentes, resultando em manifestações do tipo: muscarínicas como, por exemplo, náuseas e vômitos; nicotínicas como taquicardia, midríase e em sistema nervoso central, como quadros de cefaleia e tremores. Os OF são considerados inibidores irreversíveis da AChE (Ecobichon 1996; Cassel et al. 2014).

A fisiopatologia da intoxicação por CAR difere dos OF em um importante aspecto, a inativação temporariamente (reversível) da acetilcolinesterase. A enzima quando carbamilada por CAR é instável e a regeneração da acetilcolinesterase é relativamente rápida, quando comparada com a enzima fosforilada pelos OF. Assim, os praguicidas CAR são menos perigosos em relação à exposição humana do que os OF (Silva 2005).

Os sinais de toxicidade podem ocorrer por três reações: estimulação dos receptores muscarínicos do sistema nervoso parassimpático autônomo; estimulação e subsequente obstrução dos receptores nicotínicos; e, efeitos à nível de sistema nervoso central (Ecobichon 1996).

A colinesterase atua no sítio aniônico e estearásico e pela força de Van der Waals, sobre as moléculas de acetilcolina, dando lugar ao complexo enzima-substrato. Pertencentes ao grupo das enzimas -estearases, que reagem com os compostos OF ficando firmemente ligadas e em alguns casos até mesmo irreversivelmente fosforilada (Oga et al. 2008).

A colinesterase responsável pela hidrólise e destruição da acetilcolina, quando inibida dá lugar a um complexo enzima-substrato que reage fortemente com as substâncias OF e CAR. Sendo assim, a inibição da colinesterase

se plasmática mostra-se um excelente indicador da severidade da intoxicação por OF e CAR (Almeida 1986).

Tendo ciência deste cenário mundial em que a agricultura caminha, é necessário analisar o impacto do uso dos agrotóxicos por trabalhadores rurais da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. O município de Mato Queimado, situado na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, tem sua economia alicerçada no setor primário, voltado principalmente para o cultivo da soja. Possui uma área territorial de 113,95 Km<sup>2</sup>, e sua população é de 2.022 habitantes, sendo que destes, os constituintes rurais predominam com 1.686, correspondendo a 83 % da população.

Tendo em vista que para a produção de grãos sadios, hoje em dia tornou-se praticamente indispensável à aplicação de OF e CAR nas culturas, o que leva a exposição aos agrotóxicos os trabalhadores deste setor. Diante da demanda crescente da produção de alimentos a nível mundial, e conseqüentemente a utilização indiscriminada de produtos que favoreçam o aumento desta produção, o município de Mato Queimado enquadra-se perfeitamente na tendência global, quanto à utilização de OF e CAR nas lavouras. Visando a saúde do trabalhador rural o presente trabalho avaliou a exposição/intoxicação de um grupo de trabalhadores rurais frente a agentes anticolinesterásicos (OF e CAR), por meio da diminuição das atividades colinesterásicas plasmáticas, verificando ainda a possível influência de alguns indicadores socioeconômicos e de utilização de agrotóxicos sobre a incidência das intoxicações.

Sendo assim, analisou-se o impacto do uso de inseticidas organofosforados e carbamatos em 27 trabalhadores rurais na cidade de Mato Queimado entre os meses de fevereiro e março de 2014 na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul.

## **Materiais e métodos**

### *Amostra*

Os trabalhadores foram contatados a partir do registro dos trabalhadores rurais na EMATER (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural) da cidade de Mato Queimado/RS. Todos os trabalhadores foram convidados à participar da pesquisa momentos antes da coleta. Sendo assim, a amostra foi composta por 27 agricultores do município que apresentavam exposição aos compostos OF e CAR em suas atividades ocupacionais. Como grupo controle negativo

foram coletadas amostras de 27 voluntários homens da cidade de Santo Ângelo/RS, que não tinham contato direto com agrotóxicos.

Como critérios de inclusão, participaram desta pesquisa trabalhadores rurais, do sexo masculino, residentes do município de Mato Queimado/RS que apresentaram exposição aos compostos OF e CAR em algum momento de sua atividade ocupacional.

Foram excluídos desta pesquisa, indivíduos que não atendiam aos critérios de inclusão citados à cima.

### *Coleta*

Realizaram-se coletas de material biológico (sangue) e coletas de dados epidemiológicos através da aplicação de um questionário (ANEXO A) entre os meses de fevereiro de 2014 e março de 2014. O período de coleta compreendeu os meses de aplicação dos produtos na lavoura.

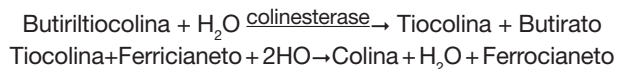
Cada tubo de coleta foi etiquetado com um código correspondente a cada indivíduo, para resguardar o anonimato dos mesmos.

As amostras foram centrifugadas a uma rotação de 5.000 rpm por 10 minutos, seguido da separação do plasma e acondicionamento à -4 °C no laboratório de bioquímica da instituição onde realizou-se as análises.

### *Dosagem da colinesterase*

A dosagem da colinesterase plasmática trata-se de um método enzimático colorimétrico, realizado em um analisador bioquímico semi-automático, modelo BIO-2000, produzido pelo fabricante Bioplus Produtos PA de São Paulo/Brasil.

O método baseia-se na determinação da atividade da enzima de Colinesterase. Sobre a ação catalítica de Colinesterase, a butiriltiocolina é hidrolisado em tiocolina e butirato:



A tiocolina reduz o hexacianoferrato (III), amarelo, em hexacianoferrato (II), incolor. O decréscimo da absorvância é medido a 405 nm.

Quanto às condições da reação e leitura, o comprimento de onda utilizado foi de 405 nm, temperatura da reação 37 °C, volume de amostra pipetado 10 µl, sendo que o volume final da reação corresponde a 1,51 mL.

Para a dosagem da colinesterase, seguiu-se o protocolo especificado pelo kit utilizado da

Colinesterase AA (Wiener lab., Rosário, Arg). Para execução da técnica, se pré-incubou o reagente B (iodeto de S-butirilcolina IBTC) (previamente reconstituído) à temperatura de 37°C durante alguns minutos. Em uma cubeta termostatizada adicionou-se 10 µL da amostra (soro) e os seguintes reagentes: 1,2 mL do reagente A (ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoioco DTNB) em tampão fosfato reconstituído, e 0,3 mL do reagente B já pré-incubado. Feita uma rápida homogeneização, procedeu-se a leitura no equipamento BIO-2000.

Para garantir a qualidade das análises foram realizadas dosagens de um material de controle (Standatrol S-E 2 niveles), com atividades conhecidas de colinesterase, em cada determinação.

Quanto aos valores de referência, seguiu-se o protocolo especificado pela bula do kit utilizado, sendo que estes valores a uma temperatura de 37 °C, para homens correspondem a: 4400-11700 U/l.

#### Análise estatística dos dados

A organização e as análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o Microsoft Office Excel 2007 do Windows 7.

#### Aspectos éticos

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI (CAAE 30220514.6.0000.5354). Todos os indivíduos

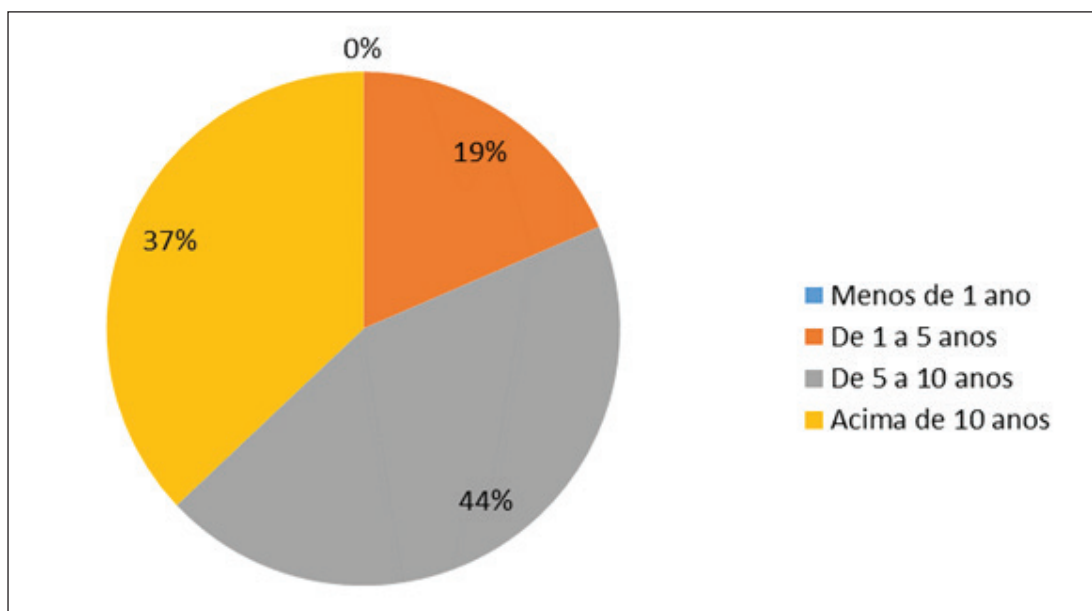
foram esclarecidos quanto à realização da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

#### Resultados

Procedeu-se a coleta de material biológico/sangue e a aplicação do questionário em 27 trabalhadores rurais do município de Mato Queimado, do sexo masculino, sendo que a faixa de idade dos pacientes envolvidos no estudo foi de 22 a 50 anos com média de 34,59 anos ( $\pm 8,50$ ). Através da aplicação do questionário foi possível observar os padrões de exposição dos trabalhadores rurais aos agrotóxicos OF e CAR. O tempo de exposição aos OF e CAR nos trabalhadores rurais, variou de 2 a 20 anos, com média de 10,7 anos ( $\pm 5,5$ ).

Dos indivíduos entrevistados, 100% (27) relataram ter contato com OF e/ou CAR em algum momento de sua atividade ocupacional. Quanto às formas de contato com agrotóxicos, observou-se que: 81,5% (22/27) dos indivíduos relataram ter contato com tais substâncias no preparo do produto, 88,9% (24/27) na aplicação do produto, 33,3% (9/27) na supervisão da aplicação na lavoura, 40,7% (11/27) no armazenamento destes agentes químicos, 11,1% (3/27) indivíduos no descarte das embalagens, e 7,4% (2/27) na limpeza e manutenção dos equipamentos.

Quanto ao tempo de exposição, observou-se que a maior incidência correspondeu à faixa de 5 a 10 anos (Figura 1).



**Figura 1.** Tempo de exposição a OF e CAR dos produtores rurais do município de Mato Queimado.

**Tabela 1.** Relação do uso de EPIs de segurança apresentada pelos trabalhadores rurais.

Usa equipamento de proteção individual	n	%
Sim	19	70,4
Não	8	29,6
Quais seriam?	n	%
Luvas	14	51,8
Botas	9	33,3
Máscara	15	55,5
Macacão	4	14,8
Óculos	6	22,2
Cabine no trator	3	11,1
Medidas de proteção geral	n	%
Observação dos ventos	16	59,2
Higienização após contato	19	70,4

A *Tabela 1* apresenta o número de indivíduos que utilizaram equipamentos de proteção individual (EPI), quais são estes equipamentos e às medidas de proteções gerais usadas.

Dos indivíduos entrevistados, 27 (100 %) afirmaram que nunca necessitaram de atendimento médico hospitalar devido a quadros de intoxicação por tais substâncias, mas relataram apresentar alguns sintomas em decorrência do uso destes produtos, sendo os mesmos expostos na *Tabela 2*.

**Tabela 2.** Relação de indivíduos que já precisaram de atendimento médico-hospitalar devido intoxicação por OF e CAR, e a sintomatologia.

Já precisou de atendimento médico?	n	%
Sim	0	0
Não	27	100
Sintomas	n	%
Cansaço	7	25,9
Tontura	4	14,8
Irritabilidade	4	14,8
Formigamento dos membros superiores	2	7,4
Formigamento dos membros inferiores	1	3,7
Irritação da pele	4	14,8
Irritação dos olhos	9	33,3
Tosse	1	3,7
Cefaleia	6	22,2
Fraqueza muscular	1	3,7
Aumento da salivação	2	7,4

Procedeu-se a dosagem da atividade da colinesterase. A média dos valores de colinesterase foi de 3244,45 U/l ( $\pm$  345,8) com variação de 2450 U/l a 3650 U/l, o que demonstrou dosagens significativamente baixas, quando comparados com os valores de referência preconizados 4400 a 11700 U/l.

Como grupo controle negativo, foram incluídas neste estudo, seis amostras biológicas de homens que relataram não ter contato com compostos químicos como OF e CAR. A faixa de idade variou de 24 a 61 anos, com uma média de 49,2 anos ( $\pm$  14,6). A média dos valores de colinesterase foi de 9906 U/l ( $\pm$  31,9) com variação de 9638 U/l a 12849 U/l. O que demonstra que estes parâmetros encontrados no grupo controle negativo, estão dentro dos limites de referência preconizados pelo kit comercial (4400 a 11700 U/l). Através do teste t de Student,  $p=0,04$ , foi possível comparar os valores de colinesterase plasmática do grupo controle com grupo dos trabalhadores expostos.

### Discussão

O efeito dos agrotóxicos sobre a saúde humana se dá, sobretudo pela contaminação de trabalhadores que lidam diretamente com o manuseio do produto bem como sua aplicação (Soares et al. 2003). Ainda segundo este, os mais atingidos pela contaminação seriam os trabalhadores rurais responsáveis pela aplicação do produto do que os consumidores de alimentos. Sabe-se que dentre os diversos tipos de inseticidas aqueles responsáveis pelo maior número de intoxicações são os compostos OF e CAR. Os dados coletados através da aplicação do questionário evidenciaram que o trabalho agrícola no município de Mato Queimado/RS é realizado por homens jovens, com idade que varia entre 22 a 50 anos, com média de idade de 34,59 anos ( $\pm$  8,41). Sendo que destes, a maioria 44,44 % dos indivíduos expressaram como tempo de exposição à OF e CAR de 5 a 10 anos, o que evidencia que muitos destes indivíduos já entraram em contato com tais substâncias ainda quando adolescentes. Fato este também observado em estudo semelhante realizado na cidade de Guanajuato no México, onde dos 87 trabalhadores expostos à OFs (33,6 %) apresentaram como tempo de exposição de 5 a 10 anos (Nava et al. 1999).

Na avaliação da atividade da colinesterase no grupo dos trabalhadores rurais, ou seja, aqueles indivíduos expostos aos OF e CAR em suas atividades ocupacionais, 27 indivíduos (100%)

apresentaram determinado grau de intoxicação por tais compostos. Para estes, a dosagem da colinesterase variou de 2450 UI/ml a 3650 UI/ml, com uma média 3244,44 UI/ml. Já no grupo controle negativo, ou seja, aqueles indivíduos que declarara não terem entrado em contato com substâncias tais como OF e CAR em suas atividades ocupacionais, a dosagem da colinesterase expressou valores de atividade dentro dos limites preconizados pelo teste. Para estes a atividade da colinesterase quando dosada apresentou limites entre 9638 UI/ml a 12849 UI/ml, com uma média 9906 UI/ml ( $\pm 31,92$ ).

Observa-se que os valores da colinesterase obtidos no grupo exposto aos OF e CAR, possui valor significativamente baixo, o que caracteriza atividade enzimática baixa e confere a estes determinado grau de intoxicação por esses compostos. Fato este que foi também observado em um estudo desenvolvido pela Universidade Federal do Ceará no ano de 2007, onde os níveis da colinesterase também mostraram-se alterados com valores abaixo da referência (Chaves 2007).

Na literatura é possível encontrar publicações como no estudo de Nava e colaboradores demonstram, assim como o presente estudo, que o uso de OF e CAR reduz significativamente os níveis da colinesterase (Nava et al. 1999). Como é o caso de um estudo desenvolvido no Estado de Minas Gerais, pela Fundação Jorge Duprat Figueiredo, entre os anos de 1991 a 2000, onde 1.064 amostras biológicas foram coletadas em trabalhadores rurais para dosagem da colinesterase e observação da intoxicação por agrotóxicos dos grupos OF e CAR. Destes, aproximadamente 50,3% dos indivíduos se encontrava ao menos moderadamente intoxicado (Soares et al. 2003).

O presente estudo também evidenciou que dos 27 trabalhadores rurais entrevistados, todos relataram entrar em contato com OF e CAR em suas atividades ocupacionais. As formas de contato evidenciadas foram através da aplicação do produto (88,9%), no preparo do produto (81,5%), armazenamento do produto (40,7%), na supervisão das lavouras (33,3%), descarte das embalagens (11,1%) e na limpeza e manutenção dos equipamentos (7,4%).

Sabe-se que os OF e CAR possuem características lipofílicas e, por conseguinte apresentam facilidade em ultrapassar as membranas da pele, do trato gastrointestinal e das células pulmonares. A principal via de penetração dos OF e CAR que causa intoxicações ocupacio-

nais é a absorção cutânea, entretanto no momento da aplicação e no preparo do produto, facilmente esses compostos foram aerossóis, e assim a inalação destes compostos é facilitada (Kundsen et al. 2007; Moreau et al. 2008). Correlacionando com os dados apresentados pelo presente estudo, o elevado número de trabalhadores que se expõe através do manuseio direto (aplicação e preparo do produto) com as reduzidas dosagens da colinesterase.

Assim como no presente estudo em que a forma de contato mais prevalente foi na aplicação do produto, um estudo desenvolvido no México comporta-se de maneira semelhante. Onde a principal via de contaminação para com OF e CAR apresentada se dá pela via respiratória (46,2%), seguida pela combinação da via respiratória mais a dérmica (38,4%), sendo que a situação mais frequente de intoxicação apresentou-se durante o manuseio direto com o produto nas atividades ocupacionais (61,5%) (Nava et al. 1999).

Pesticidas OF são inibidores da colinesterase, sendo extensivamente utilizados na agricultura. A inibição da colinesterase é um meio de monitorar a exposição aos OF (Tunsaringkarn et al. 2013). A inibição da AChE por compostos OF é bem conhecida e desencadeia um acúmulo endógeno de acetilcolina responsável pela toxicidade do sistema nervoso autônomo (Kundsen et al. 2007).

A cinética da inibição da acetilcolinesterase parece ser dependente de dois fatores: a afinidade pela enzima e a capacidade de fosforilação. A ligação com o OF gera uma enzima estável, fosforilada e não reativa, que em circunstâncias normais pode ser muito pouco reativada, gerando sinais e sintomas prolongados e persistentes, que irão requerer uma intervenção medicamentosa. Devido a esta razão os OF são considerados inibidores irreversíveis da AChE (Ecobichon 1996; Kaur et al. 2014).

Embora os OF e CAR produzam sinais e sintomas agudos semelhantes, usualmente a toxicidade dos CAR tem menor intensidade de duração do que os OF. Ainda, os OF são altamente lipossolúveis e depositam-se nos tecidos adiposos, podendo se redistribuir para a circulação agravando o quadro agudo (Oga 2008).

Quanto à sintomatologia apresentada, o indivíduo pode desenvolver; miose intensa (pupila puntiforme), bradicardia, hipotensão, taquicardia, arritmias, opressão torácica, dispneia, edema pulmonar, insuficiência respiratória aguda, irritação das mucosas, cefaleia, tonturas, des-

conforto, agitação, ansiedade, tremores, dificuldade para se concentrar, visão turva, náuseas, vômito, cólicas, incontinência urinária e diarreia (Oga et al. 2008; Paudyal 2008).

Através do desenvolvimento deste estudo, pode-se perceber que os indivíduos que mesmo com a longa exposição aos agrotóxicos e limites da colinesterase apresentarem-se significativamente baixos, estes não relatam sintomas de intoxicações. Segundo Soares (2003), isto é possível ocorrer em pessoas com exposição sistemática a inseticidas OF, porém podem facilmente simular outras patologias que podem ser confundidas com outras enfermidades (Soares 2003). Os agricultores entrevistados neste estudo relataram que os sintomas mais observados após contato com OF e CAR seriam: irritação dos olhos, seguidos por cansaço e quadro de cefaleia.

Quanto ao uso de equipamentos de proteção individual, encontramos uma divergência em relação ao estudo, pois 70,4% dos indivíduos afirmaram utilizar EPIs de segurança, enquanto que 29,6% afirmaram que não utilizaram nenhum tipo de EPI.

Este dado também foi observado em um estudo semelhante desenvolvido na cidade de Botucatu, São Paulo em uma empresa de citros. Onde dos 24 indivíduos incluídos na pesquisa, todos usavam EPIs de segurança, mesmo assim a atividade da colinesterase quando dosada apresentou limites abaixo daquele preconizado pela referência, bem como as demais sintomatologias apresentadas neste estudo em questão (Brega et al. 1998).

O fato de 70,4% do grupo pesquisado afirmar que usaram EPIs de segurança, e mesmo assim os resultados da colinesterase dar significativamente baixo pode ser explicado devido ao fato de que muitos destes agricultores se envolvem na manipulação e preparo do produto, desde a limpeza e o descarte destas embalagens, sendo que em alguns destes procedimentos, o indivíduo pode estar desprotegido, sem o uso do EPIs como é o recomendado.

Além do mais, observamos que através do questionário apenas 4 indivíduos (14,81%) afirmaram usar macacão apropriado para aplicação do inseticida, o que impossibilita que tais compostos atravessem a pele, sabemos que tais substâncias são altamente lipofílicas, como é o caso dos OF (Oga et al. 2008; Tunsaringkarn et al. 2013; Kaur et al. 2014).

Isso leva a crer que os sistemas de informação sobre o emprego seguro e correto dos agrotó-

xicos são precários. Este detalhe faz com que a maioria dos indivíduos tenha contato com os pesticidas através da via dérmica, não usando proteção adequada para aplicar ou misturar tais formulações.

Dos EPIs, o mais utilizado foi a máscara com 55,5% de adesão entre os indivíduos, seguidos de luvas com 51,8%, botas com 33,3%, óculos com 22,2%, e macacão com 14,8% de adesão. E das medidas de proteção geral 70,4% indivíduos realizam higienização após contato com OF e CAR, 59,2% realizam a observação dos ventos antes da aplicação do composto e apenas 11,1% dispõem de cabine no trator.

Salienta-se também, que o fato de o questionário ter sido livremente respondido pelos participantes desta pesquisa, o mesmo pode ter fornecido respostas tendenciosas sobre o mesmo. O que justificaria os 70,4% dos participantes relatarem o uso de EPIs, entretanto o que foi observado nos resultados da redução da colinesterase demonstra a falha na proteção individual.

Outro parâmetro que foi observado com a aplicação do questionário, e que pode ser um fator importante na explicação dos reduzidos níveis de colinesterase nos trabalhadores rurais, diz respeito ao tempo prolongado de exposição dos entrevistados, e os efeitos cumulativos que estas substâncias provocam no organismo (Mwila et al. 2013). Onde 44,4% afirmam ter de 5 a 10 anos de exposição com tais substâncias. Este trabalho confirmou o alto grau de toxicidade dos compostos OF e CAR, pois os trabalhadores rurais do município de Mato Queimado/RS expostos a estes agentes químicos desenvolveram baixa da atividade enzimática da colinesterase. Fato este que se deve à fosforilação do ingrediente ativo e a consequente inibição da acetilcolinesterase (AChE), que impede a ativação da acetilcolina nas sinapses nervosas. (Moreau et al. 2008).

Efeitos muscarínicos e nicotínicos foram observados, embora alguns trabalhadores afirmarem que não sentem nenhum desconforto após aplicação destes produtos em suas atividades ocupacionais ou que nunca precisou de atendimento médico para tais efeitos (*Tabela 2*). É importante salientar que os sintomas da intoxicação por organofosforados e carbamatos são muito fáceis de confundir com outras condições clínicas menores pelos pacientes, mascarando a intoxicação e prejudicando a busca por atendimento. Além disso, Mato Queimado é um município pequeno com 1700 habitantes,



e embora não possua hospital e unidades básicas de saúde, conta com assistência médica da cidade vizinha, com 5 km apenas de distância, que conta com um hospital de pequeno porte e três unidades básicas de saúde.

### **Conclusão**

Foi observado elevado índice de toxicidade destes compostos, sendo que das 27 amostras coletas, todas apresentaram redução significativa da colinesterase, indicando assim determinado grau de intoxicação para com tais substâncias. Pelo total de agrotóxicos utilizados no Brasil, algumas culturas agrícolas merecem atenção, devido esses produtos serem aplicados intensivamente por unidade de área cultivada, além disso, por essas culturas ocuparem extensas áreas no país e na região sul do país, como é o caso da cultura de soja.

O presente estudo pode caracterizar os aspectos da exposição ocupacional aos agrotóxicos no contexto da agricultura da cidade de Mato Queimado na região noroeste do Rio Grande do sul. Sendo este um município que tem sua economia totalmente alicerçada no setor primário, no cultivo e produção de grãos, estes agricultores expressam forte relação com as substâncias OF e CAR, conseqüentemente desenvolveram a redução da colinesterase, o que expressa a estes determinados graus de intoxicação por tais compostos.

A inibição da atividade da enzima mostra-se um excelente indicador da severidade da intoxicação por OF e CAR. Tais dosagens mostram-se importantes, uma vez que ao ser notado uma diminuição relativamente pequena da colinesterase, o trabalhador deve ser removido da exposição. A redução da colinesterase no plasma pode permanecer por trinta dias, e o da colinesterase dos eritrócitos por 90 dias após o último contato com o produto e a possível exposição. Através dos resultados obtidos nesta pesquisa torna-se imperativo a utilização de meios de monitoramento biológico destes trabalhadores com a finalidade de prevenção e promoção da saúde. Sendo assim, os trabalhadores rurais do município de Mato Queimado/RS apresentam risco ocupacional aos agrotóxicos com agravo à saúde, como demonstrado pela dosagem de biomarcadores.

### **Bibliografia citada**

Almeida F.W. Fundamentos toxicológicos de los plaguicidas. Em: Plaguicidas: Salud y Ambiente, San Cristobal de las Casas, Chiapas,

México, 1986. Memorias del Taller. Xalapa, México, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud de la OPS/INIREB; 1986. p. 62-74.

Cassel J., Staehr-Rye A.K., Nielsen C.V., Gatke M.R. Use of neuromuscular monitoring to detect prolonged effect of succinylcholine or mivacurium: three case reports. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2014;58(8):1040-3.

Ecobichon D.J., Casarett L.J. Toxic effects of pesticides. Em: Casarett & Doull's Toxicology: the basic science of poisons. 5ª Edição. Klaassen C. Ed. New York; 1996. p. 643-649.

Faria N.M.X., Facchini L.A., Fassa A.C., Tomasi E. Processo de produção rural e saúde: um estudo descritivo. *Caderno de Saúde Pública*. 2004;16(1):831-832.

Kaur S., Singh S., Chahal K.S., Prakash A. Potential pharmacological strategies for the improved treatment of organophosphate-induced neurotoxicity. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2014;92(11):893-911.

Lei federal nº 7802/1989. Que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF 11 jul. 1989.

Moreau R.L.D.M., Siqueira M.E.P.B. Ciências Farmacêuticas: Toxicologia Analítica. Rio de Janeiro: Editora Guanabara; 2008: p 289-300. Moreira J.C., Jacob S., Lima J., Faria C. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola em Nova Friburgo, RJ. *Revista Ciência da Saúde Coletiva*. 2002;7(2):299-311.

Mwila K., Burton M.H., Van D.Y.K.J.S., Pletschke B.I. The effect of mixtures of organophosphate and carbamate pesticides on acetylcholinesterase and application of chemometrics to identify pesticides in mixtures. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2013;185(3):2315-27.

Nava M.E.P., Alvarado L.M. Sintomatologia

persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados. Revista de Saúde pública do México. 1999;41(1):55-59.

Oga S., Camargo M.M.A. Fundamentos de toxicologia. 3ª edição.v.1. São Paulo: Editora Ate-  
neu; 2008. p.68-137.

Paudyal B.P. Organophosphorus poisoning. Journal of Nepal Medical Association. 2008;47(172):251 –8.

Pires D.X., Caldas E.D., Racena M.C.P. Intoxicações provocadas por agrotóxicos de uso agrícola na microrregião de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de 1992 a 2002. Caderno de Saúde Pública. 2005;21(3):804-814.

Soares W., Almeida R.M., Moro S. Trabalho rural e fatores de risco associados ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, Brasil. Caderno de Saúde Pública, RJ. 2003;19(4):1117-1127.

Strelitz J., Engel L.S., Keifer M.C. Blood acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as biomarkers of cholinesterase depression among pesticide handlers. Occupational and Environmental Medicine. 2014;71:842-847.

Tunsaringkarn T., Zupuang K., Rungsiyothin A. The Correlative Study of Serum Pseudo-cholinesterase, Biological Parameters and Symptoms Among Occupational Workers. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2013;28(4):396-402.

#### Anexo A - questionário epidemiográfico

a) Tem contato com agrotóxicos? Sim ( ) não ( )

b) Formas e contato:

- |                             |  |
|-----------------------------|--|
| ( ) preparo do produto      | ( ) aplicação do produto                 |
| ( ) supervisão na aplicação | ( ) armazenamento dos produtos           |
| ( ) descarte das embalagens | ( ) limpeza, manutenção dos equipamentos |
| ( ) Transporte              |  |

c) Tempo de exposição ..... anos

d) Usa equipamento de proteção individual? Sim ( ) Não ( )

( ) luvas ( ) botas ( ) máscara ( ) Macacão ( ) óculos ( ) nenhuma proteção

e) Medidas de proteção gerais:

- ( ) cabine de trator ( ) observação dos ventos  
( ) higienização após contato ( ) nenhuma precaução  
( ) outras

f) Data do último contato com o agrotóxico. ....

g) Esta com algum problema de saúde? .....

h) Realiza uso de alguma medicação? .....

i) Quais destes agrotóxicos você utiliza na sua atividade rural?

#### Organofosforados

- ( ) Azinfós etílico (Gusathion A®) ( ) Clorpirifós (Dursban®, Lorsban®)  
( ) Diclorvos (DDVP®, Nuvan®, Vapona®) ( ) Diazinon (Basudin®, Diazitol®)  
( ) Dimetoato (Dimexion®, Perfektion®) ( ) Fenitrotion (Sumigran®, Sumithion®)  
( ) Fention (Baytrex®, Lebaycid®) ( ) Fosfamidon (Dimecron®)  
( ) Malation (Carbofós®, Malatol, Malaton®) ( ) Metamidofós (Tameron®)  
( ) Monocrotofós (Azodrin®, Nuvacron®) ( ) Paration metílico (Folidol®).  
( ) Acefato Nortox

#### Carbamatos

- ( ) Aldicarb (Temik®) ( ) Aminocarb (Metacil®)  
( ) Carbaril (Sevin®) ( ) Carbofuran (Carboran®, Furadan®)  
( ) Landrin (Landrin®) ( ) Metacalmato (Bux®)  
( ) Mexacarbato (Zectran®) ( ) Propoxur (Baygon®, Unden®)  
( ) (CCIn, 2000). ( ) Metiocarb (Mesuroi®)

j) Que sintomas observa após aplicação do agrotóxico?

- |                          |                              |
|--------------------------|------------------------------|
| ( ) cefaleia             | ( ) tonturas                 |
| ( ) alteração da memória | ( ) irritabilidade           |
| ( ) alteração do sono    | ( ) formigamento dos membros |
| ( ) visão turva          | ( ) confusão mental          |

- |                            |                  |
|----------------------------|------------------|
| ( ) fraqueza muscular      | ( ) cansaço      |
| ( ) aumento da salivação   | ( ) vômito       |
| ( ) incontinência urinária | ( ) sangramentos |

- |                       |                         |
|-----------------------|-------------------------|
| ( ) irritação da pele | ( ) irritação nos olhos |
| ( ) taquicardia       | ( ) palpitação          |
| ( ) sudorese          | ( ) dispneia            |
| ( ) chieira torácica  | ( ) tosse               |
| ( ) gastrointestinais | ( ) outros              |

k) Já precisou de atendimento medico devido intoxicação?

( ) Sim ( ) Não

## REPORTES DE CASOS

**Primer registro de una picadura causada por un macho de  
*Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841 (Araneae: Theridiidae)  
First record of a bite produced by a male of  
*Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841 (Araneae: Theridiidae)**

Peralta, Luciano<sup>1\*</sup>; Ansaldi, M. Florencia<sup>2</sup>; Zeinsteger, Pedro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC; CONICET-UNMDP). Universidad Nacional de Mar del Plata, Funes 3350, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina (7600). <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental Villarino, CC N° 14 (S2125ZAA), Zavalla, Santa Fe, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118 S/N, La Plata, Buenos Aires, Argentina (1900).

\*luccianoperalta@hotmail.com

Recibido: 10 de enero de 2018.

Aceptado: 26 de noviembre de 2018.

**Resumen:** *Latrodectus geometricus* (Araneae: Theridiidae), es una araña llamada vulgarmente “viuda marrón”. Originaria de África, es una especie sinantrópica y cosmopolita, muy frecuente en varias ciudades del centro y norte de Argentina. A diferencia de otras especies del género no suele causar envenenamientos graves, habiéndose registrado en el mundo muy pocos casos que requirieron tratamiento los cuales evolucionaron siempre de forma favorable. Todos los casos registrados hasta la fecha fueron atribuidos a hembras, asumiendo que los machos no causan casos clínicos e incluso serían incapaces de atravesar con sus quelíceros la piel humana debido a su pequeño tamaño. Este trabajo presenta el primer registro de un accidente causado por un macho de *L. geometricus* describiendo los síntomas. El accidente ocurrió a una mujer de 21 años en Villa Gobernador Gálvez (33°01'31" S, 60°38'01" O), Santa Fe, Argentina, en marzo 2016. El ejemplar murió en el momento siendo conservado y luego identificado según su genitalia como un macho adulto de *L. geometricus*. Los síntomas se relevaron desde el accidente hasta el cese de las manifestaciones sin intervención terapéutica. En el momento la joven advirtió una sensación punzante seguida inmediatamente de ardor y eritema. Luego de 10 minutos el ardor aumentó, disminuyendo a los 20 minutos. Luego de una hora el ardor y el eritema disminuyó considerablemente. Los resultados observados respaldan que *L. geometricus* no reviste peligrosidad en Argentina y evidencian que los quelíceros de los machos pueden atravesar la piel humana, al menos en zonas de piel delgada.

**Palabras clave:** Araña viuda marrón; Latrodectismo; *Latrodectus*; Argentina

**Abstract:** *Latrodectus geometricus* (Araneae: Theridiidae) is a spider commonly known as “Brown widow”. Originally from Africa, is a synanthropic and cosmopolitan spider, very common in several cities in central and northern Argentina. Unlike other species of the genus, this spider does not cause serious poisoning, very few have been registered that required treatment and always evolved favorably. All cases listed to date were attributed to females, assuming that males do not cause clinical cases and would even be unable to pass through human skin due to the small size of their chelicerae. This work presents the first record of an accident by a male of *L. geometricus* and describes the symptoms. The accident occurred to a 21 year old woman from Villa Gobernador Gálvez (33°01'31" S, 60°38'01" W), Santa Fe, Argentina, in March 2016. The specimen died at the time, being preserved and then identified as an adult male of *L. geometricus* according to its genitalia. The symptoms were relieved from the accident to its end without applying treatments. At the time, the woman felt a sting followed immediately by burning sensation and erythema in the area. After 10 minutes the burning increased, decreasing at 20 minutes. One hour later, burning sensation disappeared and the erythema diminished considerably. The observed results support *L. geometricus* as not dangerous in Argentina and show that males actually are able to penetrate the human skin, at least in areas of thin skin.

**Keywords:** Brown widow spider; Latrodectism; *Latrodectus*; Argentina

### Introducción

El género *Latrodectus* Walckenaer 1805 (Araneae: Theridiidae) se caracteriza por presentar colulus, quelíceros sin dientes, uñas tarsales pectinadas y carecer de órgano estridulatorio; se diferencia de los demás géneros de la fami-

lia por tener los ojos laterales anteriores y posteriores bien separados entre sí (Gerschman y Schiapelli 1965). Presenta una distribución global y comprende unas 31 especies (World Spider Catalog 2017), las cuales son predatoras

de insectos, arácnidos e incluso pequeños vertebrados (Reyes-Lugo y col. 2009). Es uno de los géneros más conocidos por presentar especies con veneno neurotóxico potencialmente peligroso para el ser humano (McCrone 1964; de Roodt y col. 2017).

Todos los accidentes registrados para las diferentes especies de *Latrodectus* históricamente han sido atribuidos a hembras, dado que los machos son muy pequeños y se asume que poseen dificultad física para introducir sus quelíceros en la piel humana. Por lo tanto, no existen registros de envenenamiento por picadura de machos de este género.

La “viuda marrón”, *Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841, originaria de África, es una araña sinantrópica y cosmopolita, muy frecuente en varias ciudades del centro y norte de Argentina (Abalos 1980; Garb y col. 2004; Taucare-Ríos y col. 2016). A diferencia de otras especies del género conocidas como viudas negras, *L. geometricus* no representa un riesgo toxicológico en Argentina (de Roodt y col. 2017). Tampoco se la considera una especie peligrosa en otras partes del mundo, a pesar de que según McCrone (1964) el veneno de ejemplares de Norteamérica presentaría toxicidad con una dosis letal 50 (LD<sub>50</sub>) inferior a las demás especies del género. Sin embargo esto no ocurre con los ejemplares de Argentina, donde incluso el contenido total de cuatro glándulas de veneno de ejemplares de esta especie no puede matar o causar signos neurotóxicos en ratones de 20 g (de Roodt y col. 2017). McCrone (1964) sugiere que la menor peligrosidad de *L. geometricus* en Norteamérica se debería fundamentalmente a dos factores: la muy baja frecuencia de accidentes debida a su agresividad casi nula, y al hecho de que inyecta una dosis considerablemente menor que las otras especies del género. Pero sus resultados no parecen replicarse a escala global y es muy posible que los valores de LD<sub>50</sub> varíen con la distribución geográfica de la especie.

Hasta la fecha se han registrado muy pocos casos de accidentes provocados por *L. geometricus* en el mundo, de los cuales solo algunos requirieron tratamiento pero siempre evolucionaron de forma favorable (Muller 1993; Goddard y col. 2008; Kiriakos y col. 2008; Almeida y col. 2009). En los quince casos registrados para Sudáfrica solo se observaron reacciones locales en adultos, mientras que las reacciones sistémicas se restringieron exclusivamente a dos casos en niños, ambos niños y un adulto reci-

bieron suero anti *Latrodectus* (Muller 1993). Sin embargo, solo en diez de esos quince casos (67%) se pudo confirmar, por la identificación del ejemplar, que la causante haya sido *L. geometricus* (Isbister 2011). Goddard y col. (2008) describen el caso de un hombre de 20 años en Estados Unidos con signos sistémicos que no requirió la administración de suero. También se citan otros tres casos previos para el sur de la Florida de los cuales uno fue catalogado como severo pero no se menciona si fue necesario suministrar suero (Brown y col. 2008; Goddard y col. 2008). En Venezuela se registró un caso de una mujer adulta con signos sistémicos que no requirió suero (Kiriakos y col. 2008). En Brasil se registró un caso con una mujer de 19 años que no presentó signos sistémicos ni requirió de suero y fue dada de alta a los dos días (Almeida y col. 2009).

Cabe destacar que todos los casos registrados hasta la fecha fueron atribuidos a hembras adultas, no existiendo registros de accidentes causados por machos, por lo tanto sus síntomas son aún desconocidos. Nuestro objetivo es presentar el primer registro de un accidente causado por un macho de *L. geometricus* describiendo los síntomas hasta su cese.

### Descripción del evento

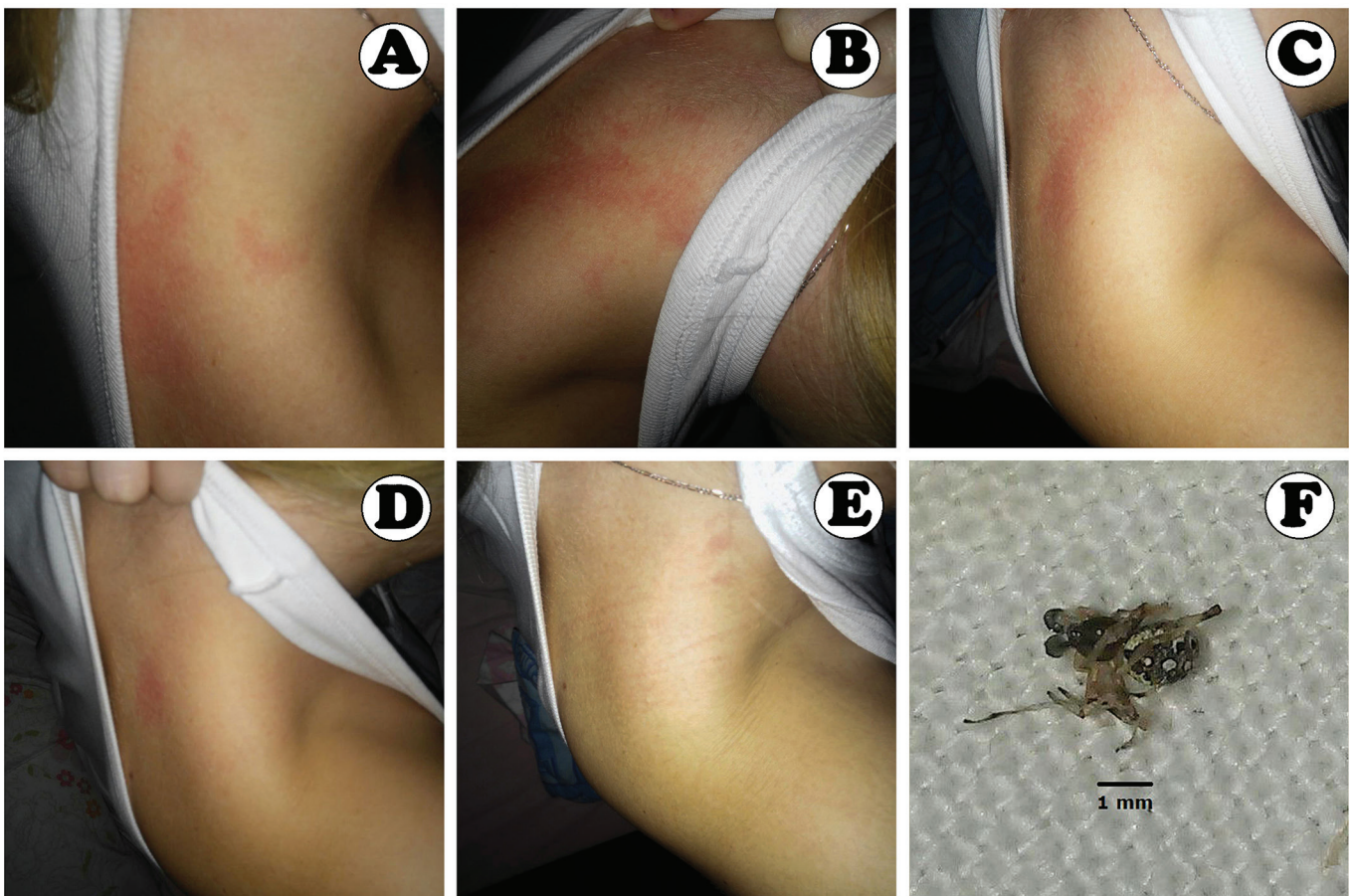
La picadura ocurrió en el interior de un domicilio de la localidad de Villa Gobernador Gálvez (33°01'31" S, 60°38'01" O), provincia de Santa Fe, Argentina a las 02:01 AM del día 13 de marzo de 2016. Una mujer de 21 años de edad al acostarse a dormir advirtió una sensación punzante en su espalda, entre el cuello y el hombro derecho. Instintivamente pasó su mano por la zona afectada aplastando y matando a la araña. A pesar de esto, el ejemplar muerto se mantuvo en buen estado pudiendo ser fotografiado y posteriormente conservado para su identificación.

El ejemplar causante del accidente fue identificado según su genitalia como un macho adulto de *Latrodectus geometricus* (Figura 1F). Adicionalmente se realizó una inspección ocular en el interior y exterior de la casa en busca de otros ejemplares de *L. geometricus*, encontrándose otros dos ejemplares machos en el interior de la vivienda sobre una cortina próxima a la cama de la joven, así como una gran cantidad de ejemplares de ambos sexos en el exterior del domicilio.

La joven relató la evolución de los síntomas desde el primer momento hasta su cese, regis-

trando el tiempo transcurrido en minutos desde el momento del accidente: Instantáneamente advirtió una sensación punzante en su espalda, en la zona comprendida entre el cuello y el hombro derecho, inmediatamente seguida de un ardor moderado. Al minuto cuatro tomó una foto del área afectada (*Figura 1A*) donde se observa eritema. Al minuto ocho refirió sentir un leve ardor y picazón en la zona afectada. Al minuto once tomó otra foto (*Figura 1B*) donde se aprecia un leve aumento en el eritema y manifestó un aumento en la intensidad del ardor y el cese de la picazón. Posteriormente, al minuto doce presentó un leve aumento en el eritema y en el minuto catorce declaró sentir una intensa sensación quemante en la zona afectada. Luego, al minuto 23 tanto el eritema como el ardor local disminuyeron considerablemente y sintió sensación de adormecimiento. Al minuto

24 tomó otra fotografía (*Figura 1C*) donde se aprecia una disminución en el eritema. Posteriormente al minuto 30 el ardor disminuyó y la sensación de adormecimiento se irradió hacia el hombro y el brazo. Al minuto 33 el ardor disminuyó considerablemente en su intensidad. Una hora después de transcurrido el accidente, ya sin presentar ardor ni adormecimiento, tomó otra foto (*Figura 1D*) donde se observa una gran disminución en el eritema. Posteriormente al sentir una notoria mejoría se dispuso a dormir. Al día siguiente, 9 horas después del accidente se despertó sin ningún síntoma, finalmente tomó otra fotografía (*Figura 1E*) donde ya no se aprecia eritema en la zona afectada. La joven no presentó síntomas compatibles con cuadros neurotóxicos ni desarrolló edema o alteraciones locales adicionales a lo descrito en ningún momento.



**Figura 1.** Evolución de la reacción local. A: minuto 04; B: minuto 11; C: minuto 24; D: minuto 60; E: 9 horas después (sin eritema); F: ejemplar macho adulto de *L. geometricus* causante del accidente.

## Comentarios

La especie *L. geometricus* presenta poblaciones establecidas en la provincia de Santa Fe (Taucare-Ríos y col. 2016), resultando muy abundante en ambientes antropizados de las ciudades de Rosario y Villa Gobernador Gálvez (Peralta y Ansaldi obs. pers. 2016). Sin embargo, es poco frecuente observarla en el interior de domicilios, siendo principalmente peridomiciliaria, si bien se han encontrado juveniles en su primeros estadios y algunos machos adultos en interiores, esto no ocurre con hembras adultas (Ansaldi obs. pers. 2016). Esto concuerda con el comportamiento de dispersión de las crías y de búsqueda de pareja por parte de los machos adultos, los cuales recorren mayores distancias. Mientras que las hembras, con un comportamiento sedentario, muestran una marcada preferencia por el exterior de los domicilios (Benamu 2001). De esta manera los accidentes intradomiciliarios son muy poco probables, aun en regiones donde la especie es muy abundante.

La ausencia de registros accidentes provocados por machos de *L. geometricus* hasta la fecha, podría deberse en parte a la casi nula agresividad de la especie, pero se pueden considerar también otros posibles motivos. Primero, rara vez los accidentados pueden observar y capturar al ejemplar causante del accidente para su posterior identificación. Segundo, se trata de una especie con un marcado dimorfismo sexual (Simó y col. 2013), donde los machos (2,7-3,2 mm) son mucho más pequeños que las hembras (7,7-13,7 mm), y debido a esto, tanto médicos como pacientes que no tengan cierto conocimiento de sistemática de arañas no podrían asociar ambos sexos a la misma especie. Tercero, es muy probable que además de ocurrir en muy baja frecuencia, al manifestar solo síntomas locales que no duran más de una hora, los accidentados no lo perciban como algo potencialmente peligroso y decidan no realizar la consulta médica. Por otro lado, algunos de los síntomas locales, pueden deberse al trauma inflingido al matar a la araña, lo cual puede enmascarar un posible accidente. Estas situaciones también podrían estar ocurriendo con las otras especies del género. Por la ausencia de signos de neurotoxicidad sistémica, local y/o general, se descarta el desarrollo de latroductismo en este caso. Se confirma que el cuadro presentado por la joven coincide con los síntomas locales que generan

la mayoría de las especies de arañas inofensivas, los cuales pueden variar en duración e intensidad pero sin requerir tratamiento médico (Isbister y White 2004). Este primer registro, a pesar de ser un caso aislado, respalda la afirmación de de Roodt y col. (2017) de que *L. geometricus* no reviste peligrosidad en Argentina. También se creía que los machos del género *Latrodectus* serían incapaces de atravesar la piel humana debido al pequeño tamaño de sus quelíceros, esto se basaba en la ausencia de registros de accidentes causados por machos del género pero carecía de sustento empírico y/o científico. Este registro también es el primero para el género y permite considerar que lo mismo podría ocurrir con machos de otras especies de *Latrodectus*.

Aunque por tratarse de un caso único los resultados observados no pueden ser totalmente concluyentes, este primer registro respalda la afirmación de que *L. geometricus* no causa latroductismo ni reviste peligrosidad en Argentina, y también queda demostrado que efectivamente los machos de esta especie pueden atravesar la piel humana, al menos en zonas de piel delgada.

Agradecimientos: el primer autor agradece a los entomólogos Armando C. Cicchino y Juan L. Farina por incentivar a que estos resultados se publiquen. Así como al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca doctoral vigente durante la realización del trabajo. Los autores agradecen a Mariana Lucía Barone por sus sugerencias.

## Bibliografía

- Abalos J.W. Las arañas del género *Latrodectus* en la Argentina. *Obra Centen Mus La Plata*. 1980;6:29-51.
- Almeida R.A.M.B., Ferreira J.R.S., Chaves C.R., Barraviera B. Envenomation caused by *Latrodectus geometricus* in São Paulo state, Brazil: a case report. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*. 2009;15(3):562-571.
- Ansaldi M.F. *Latrodectus geometricus* es peridomiciliaria, pudiendo observarse ocasionalmente juveniles y machos adultos en interiores, pero no hembras adultas. Observación personal. 2016.
- Benamu M.A. Comportamiento reproductivo de *Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841 (Araneae, Theridiidae). *Rev Per Ent*. 2001; 42:89-91.

- Brown K.S., Necaise J.S., Goddard J. Additions to the known U.S. distribution of *Latrodectus geometricus*. J Med Entomol. 2008;45:959-962.
- de Roodt A.R., Lanari L.C., Laskowicz R.D., de Oliveira V.C., Irazu L.E., González A., Giambelluca L., Nicolai N., Barragán J., Ramallo L., López R.A., Lopardo J., Jensen O., Larrieu E., Calabro A., Vurcharchuc M.G., Lago N.R., García S.I., de Titto E.H., Damín C.F. Toxicity of the venom of *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae) spiders from different regions of Argentina and neutralization by therapeutic antivenoms. Toxicon. 2017;130:63-72.
- Garb J.E., Gonzalez A., Gillespie R.G. The black widow spider genus *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae): Phylogeny, biogeography, and invasion history. Mol. Phylogenet Evol. 2004;31:1127-1142.
- Gerschman de Pikelin B.S., Schiapelli R.D. El género *Latrodectus* Walckenaer, 1805 (Araneae: Theridiidae) en la Argentina. Rev Soc Ent Arg. 1965; 27:51-59.
- Goddard J., Upshaw S., Held D., Johnson K. Severe reaction from envenomation by the brown widow spider, *Latrodectus geometricus* (Araneae: Theridiidae). South Med J. 2008;101(12):1269-70.
- Isbister G.K., White J. Clinical consequences of spider bites: recent advances in our understanding. Toxicon. 2004;43:477-492.
- Isbister G.K., Fan H.W. Spider bite. The Lancet. 2011;378(9808):2039-2047.
- Kiriakos D., Núñez P., Parababire Y., García M., Medina J., Sousa L. D. First case of human latrodectism in Venezuela. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41(2):202-204.
- McCrone J.D. Comparative lethality of several *Latrodectus* venoms. Toxicon. 1964;2:201-203.
- Muller G. J. Black and brown widow spider bites in South Africa. A series of 45 cases. S Afr Med J. 1993;83:399-405.
- Peralta L., Ansaldi M.F. *Latrodectus geometricus* es muy abundante en ambientes antropizados de las ciudades de Rosario y Villa Gobernador Gálvez. Observación personal. 2016.
- Reyes-Lugo M., Sánchez T., Finol H.J., Sánchez E.E., Suárez J. A., Guerrero B., Rodríguez-Acosta A. Neurotoxic activity and ultrastructural changes in muscles caused by the brown widow spider *Latrodectus geometricus* venom. Rev Inst Med trop. S. Paulo. 2009;51(2):95-101.
- Simo M., Rocha-Dias M., Jorge C., Castro M., Alves-Dias M., Laborda A. Habitat, redescription and distribution of *Latrodectus geometricus* in Uruguay (Araneae: Theridiidae). Biota Neotrop. 2013;13:371-375.
- Taucare-Ríos A., Bizama G., Bustamante R.O. Using Global and Regional Species Distribution Models (SDM) to Infer the Invasive Stage of *Latrodectus geometricus* (Araneae: Theridiidae) in the Americas. Environ. Entomol. 2016; 45(6):1379-1385.
- World Spider Catalog. Versión 18.5, 2017. Natural History Museum Bern [en línea]. Disponible en: <http://wsc.nmbe.ch>. (Consulta: 11 de noviembre de 2017).

## REVISIÓN

### Os riscos do uso de plantas medicinais durante o período gestacional: uma revisão bibliográfica The risks of the use of medicinal plants during the gestational period: A bibliographic review

Abreu da Silva, Ana C.<sup>1</sup>, Botelho de Santana, Lourenço L.\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitário Estácio da Bahia, Estácio- FIB. Rua Xingu, Stiep 41770130, Salvador, BA, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, 41195-000 Salvador, BA, Brasil

\*[lsantana@uneb.br](mailto:lsantana@uneb.br), [lourenco.santana@estacio.br](mailto:lourenco.santana@estacio.br)

Recibido: 4 de mayo de 2018.

Aceptado: 7 de diciembre de 2018.

**Resumo.** Esta revisão de literatura teve como objetivo principal identificar as plantas medicinais utilizadas por gestantes capazes de provocar efeitos nocivos à gestação, assim como descrever os principais metabólitos secundários responsáveis por estes efeitos. Foram utilizados artigos escritos entre os anos de 2011 e 2018, disponíveis em bases de dados eletrônicas como Scielo, Periódicos Capes, Lilacs, Medline e Science Direct. Foram selecionadas 98 publicações, destas 52 foram excluídas por apresentarem problemas metodológicos ou não se adequarem ao tema, sendo 46 artigos aproveitados. Foram apresentadas as plantas medicinais frequentemente utilizadas por mulheres durante o período gestacional, as quais acredita-se não provocarem danos a gestação. Plantas como boldo, sene, camomila, carqueja, angélica, arruda e outras são comumente utilizadas pela população gestante a fim de aliviar os desconfortos desse período, como enjojo, flatulência, insônia, azia, depressão, insônia, dores articulares, emagrecimento, dentre outros. No entanto, as plantas medicinais possuem metabólitos secundários que são considerados tóxicos e capazes de provocar efeitos embriotóxico, teratogênico e abortivo, quando utilizados durante a gestação. Diante do que foi pesquisado, avaliando a relação risco/benefício, onde os estudos apontam muitos riscos oferecidos pelas plantas medicinais utilizadas na gestação, sugere-se o uso controlado destes tratamentos durante o período gestacional com o devido acompanhamento médico.

**Palavras chave:** Abortivo; Embriotóxico; Teratogênico; Plantas medicinais

**Abstract.** This literature review had as main objective to identify the medicinal plants used by pregnant women capable of causing harmful effects to gestation, as well as to describe the main secondary metabolites responsible for these effects. Articles used in this review were written between the years 2011 and 2018 and are available in electronic databases such as Scielo, Periodical Capes, Lilacs, Medline and Science Direct. A total of 98 publications were selected, of which 52 were excluded because they presented methodological problems or did not fit the theme, with 46 articles being used. The medicinal plants frequently used by women during the gestational period were shown, which are believed not to cause pregnancy damage. Plants such as boldo, sene, camomile, carqueja, angelica, arruda and others are commonly used by the pregnant population to relieve the discomforts of this period, such as nausea, flatulence, insomnia, heartburn, depression, joint pain, weight loss, among others. However, medicinal plants have secondary metabolites that are considered to be toxic and capable of causing embryotoxic, teratogenic and abortive effects when used during pregnancy. In the light of the research, evaluating the risk / benefit relationship, where the studies point out many risks offered by the use of medicinal plants during pregnancy, it is suggested controlled use of these treatments during the gestational period with the appropriate medical follow-up.

**Keywords:** Abortive; Embryotoxic; Teratogenic; Medicinal plants

### Introdução

A utilização de plantas para tratamento de enfermidades é uma tradição presente nas mais diversas culturas há séculos, e que permanece nos dias atuais. Para muitos, a escolha se dá pelo seu fácil acesso e o baixo custo, além de acreditarem que as plantas medicinais são mais eficazes e menos nocivas à saúde do que os medicamentos alopáticos. Outros fatores

que também contribuem para a utilização das mesmas é a automedicação, a falta de acesso ao atendimento médico decorrente do custo elevado dos planos de saúde e a precariedade dos serviços públicos de saúde (Penido *et al.* 2016; Campos *et al.* 2016).

É muito comum, gestantes recorrerem ao uso de plantas medicinais para tratar os



desconfortos da gestação, como enjoos, constipação, flatulência, ganho de peso, alterações hormonais, distúrbios de sono, depressão, azia, dores musculares dentre outras. Essa escolha se dá por uma série de fatores que vão desde a credence popular, a qual preza que as plantas estão isentas de efeitos adversos, pelas questões sociais como o difícil acesso aos serviços públicos de saúde, elevados preços dos medicamentos alopáticos e desemprego (Gorrit et al. 2016; Lima et al. 2017).

O uso de plantas medicinais deve ser acompanhado de cuidados, pois as mesmas possuem substâncias potencialmente ativas e tóxicas, muitas vezes sem estudos científicos comprobatórios de sua eficácia e segurança, fato este que na maioria das vezes não é do conhecimento dos usuários. As plantas podem causar reações adversas desde alergias na pele e mucosas até distúrbios cardiovasculares, respiratórios, metabólicos, gastrintestinais e neurológicos. Muitas plantas medicinais podem provocar efeitos embriotóxicos, teratogênicos e abortivos, toxinas vegetais podem atravessar a barreira placentária e induzir malformação em embriões e fetos em desenvolvimento.

A exposição à alguns tipos de metabólitos secundários na fase pré-natal podem levar ao aborto ou teratogênese, podendo também apresentar impacto negativo nos processos de crescimento e maturação pós-natal. Muitos mecanismos teratogênicos foram associados ao uso de produtos fitoterápicos. Estes mecanismos incluem o rompimento do processo de montagem dos microtúbulos, o antagonismo dos folatos, a indução do estresse oxidativo, a teratogênese mediada por receptores específicos e a alquilação do DNA por isso o cuidado na utilização de plantas pelas gestantes deve ser redobrado, especialmente no primeiro trimestre de gestação, quando os efeitos desconhecidos podem ocasionar danos à saúde da gestante e do feto (Roman et al. 2014; Kristanc e Kreft 2016; Andrade et al. 2017).

Sendo assim, a administração de qualquer planta medicinal ou fitoterápico durante a gestação deve ser avaliada com muita cautela, pois o seu uso pode causar danos à saúde da gestante e do bebê. A relação risco/benefício do uso de plantas medicinais e derivados deve ser monitorada, pois grande parte destas plantas não possuem estudos que comprovem a sua eficácia e segurança (Maia et al. 2014; Costa et al. 2017).

O fato de muitas pessoas, inclusive gestantes,

acreditarem que produtos naturais são menos perigosos do que medicamentos alopáticos forneceu motivação para realização deste estudo, que visa evidenciar os riscos existentes no consumo indiscriminado de plantas medicinais por gestantes.

Diante dessa realidade, o objetivo principal desse trabalho foi identificar as principais plantas medicinais com efeitos embriotóxicos, teratogênicos e abortivos, assim como os metabólitos secundários presentes nestas plantas que são capazes de provocar esses efeitos e discutir os riscos possíveis que estas espécies podem causar para a saúde das gestantes.

### **Materiais e método**

A revisão bibliográfica em questão foi realizada através da busca de publicações selecionadas nas bases de dados: Literatura Latino – Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e MEDLINE. Sendo utilizados os seguintes descritores em português: Gestação, Plantas medicinais, embriotóxicos, teratogênicos e abortivos. Na língua inglesa foram os seguintes descritores: Gestation, medicinal plants, embryotoxic, teratogenic and abortive. Os artigos selecionados foram analisados para compor a pesquisa como critérios de inclusão, ficaram estabelecidos as obras que possuem efetivamente como objeto de pesquisa, os temas de plantas medicinais embriotóxicas, teratogênicas e abortivas além de obras que estavam disponíveis na íntegra e que foram publicadas entre os anos 2011 e 2018. A partir das plataformas foram selecionadas 98 (noventa e oito) publicações, destas 52 (cinquenta e dois) foram excluídas por apresentarem problemas metodológicos ou não se adequarem ao tema. Sendo assim, na revisão foram utilizadas 46 publicações adequadas aos critérios adotados para o estudo e aos objetivos propostos.

### **Efeitos adversos de plantas medicinais na gestação**

A gestação é um período de muitas mudanças no organismo feminino, que leva ao surgimento de desconfortos como enjoo, constipação, flatulência, ganho de peso, alterações hormonais, distúrbios do sono, azia, dor lombar e pélvica. Essas manifestações aparecem desde a primeira semana de gestação e persistem durante

todo período gestacional (Coutinho *et al.* 2014; Barros *et al.* 2015; Lima *et al.* 2017).

A fase que vai da terceira semana pós-fecundação até o 57 dia de gestação, configura o período onde ocorrem várias divisões celulares e é após esse momento que o embrião tem maior susceptibilidade a ação de agentes teratogênicos e embriotóxicos (Quedraogo *et al.* 2012).

As condições de saúde da mulher durante a gestação tem sido alvo de atenção especial pela ciência. Nesse estágio, a mulher se torna especialmente sensível e preocupada com o bem-estar do feto, tornando-se vulnerável a conselhos e orientações de amigos e familiares acerca de “remédios caseiros” visto como benéficos e sem risco a saúde (Borges *et al.* 2015; Gorril *et al.* 2016).

A fim de aliviar os desconfortos que surgem durante a gestação, muitas gestantes buscam nas plantas medicinais um tratamento alternativo, pois acreditam que por ser natural, estão livres de efeitos nocivos a gestação. Muitas dessas plantas possuem efeitos embriotóxicos, teratogênicos e abortivos, sendo necessário um cuidado especial no seu uso, pois as plantas do ponto de vista químico costumam ser complexas, podendo conter substâncias tóxicas, além dos seus princípios biologicamente ativos (Araújo *et al.* 2016; Wiesner *et al.* 2017).

A utilização de plantas medicinais por gestantes deve ser seguida com o cuidado semelhante ao que é dispensado no uso dos medicamentos alopáticos, sempre acompanhado de prévio conhecimento médico, já que estudos apontam para a possibilidade de fatores embriotóxicos, teratogênicos e abortivos de muitas espécies. Por isso, é importante que durante consultas pré-natais, o profissional de saúde procure investigar se a gestante tem feito o uso de plantas medicinais e derivados, a fim de traçar um plano de ação com a finalidade de uma gestação saudável (Rodrigues *et al.* 2011).

A embriotoxicidade acontece quando um agente químico produz efeitos tóxicos que podem causar perturbações no desenvolvimento embrionário, podendo ser reversível ou não, dependendo da capacidade de regeneração do tecido lesado, podendo ter como consequência o aborto (Carvalho *et al.* 2013; Kim *et al.* 2014).

A teratogenicidade ocorre quando um agente químico é capaz de alterar de forma irreversível o desenvolvimento estrutural ou funcional do embrião ou feto, podendo ocorrer durante todo período gestacional. Os agentes teratogênicos acarretam má formação seletiva para al-

guns órgãos-alvo, como por exemplos aqueles que estão diretamente ligados à formação dos membros inferiores e superiores (Arcanjo 2013; Andrade *et al.* 2017; Wang *et al.* 2017).

Muitos metabólitos secundários vegetais como os alcaloides, flavonoides, cumarinas, terpenos e antraquinonas oferecem risco durante a gestação (Fotland *et al.* 2012; Samavati *et al.* 2017; Silva *et al.* 2017). Vale ressaltar que boa parte das espécies apresentadas como possuidoras desses metabólitos que podem causar danos à saúde da gestante estão entre as plantas medicinais mais utilizadas pela população, como apresenta a *Tabela 1* a seguir.

Os alcaloides estão presentes em um número significativo das espécies vegetais que compõem a *Tabela 1*, plantas como boldo, boldo-do-chile, confrei, arruda, ipê roxo, romã, jurubeba, chapéu-de-couro e manacá são ricas nestes metabólitos, oferecendo efeitos nocivos à gestação, a literatura aponta que além dos efeitos teratogênicos, podem provocar efeitos embriotóxicos e abortivos (Costa *et al.* 2012; Campos *et al.* 2016; Wink *et al.* 2016).

Dentre os tipos de alcaloides, os estudos destacam os pirrolizidínicos, que se tornam altamente tóxicos quando biotransformados pelo fígado, podendo provocar vários danos à saúde, como hepatotoxicidade, problemas renais e pulmonares. Na gestação, o principal efeito causado pelos alcaloides pirrolizidínicos é o teratogênico, devido a sua capacidade de ligar-se com a molécula de DNA, podendo induzir interferência na diferenciação celular, afetando o organismo em desenvolvimento (Medeiros *et al.* 2014; Wyk *et al.* 2017).

Algumas gestantes utilizam erroneamente plantas como babosa, cáscara sagrada, sene e ipê roxo, principalmente o sene, para reduzir o ganho de peso durante a gestação. Estas espécies são ricas em antraquinonas, *Tabela 1*, as quais possuem ação laxativa, anti-inflamatória, antioxidante, anti-histamínica, além de serem vasoconstrictoras. A ação laxativa é a atividade terapêutica predominante destas espécies, devido as antraquinonas estimularem a contração da musculatura lisa do intestino aumentando o peristaltismo. O risco principal para as gestantes deve-se ao fato destes compostos poderem induzir contrações uterinas levando ao aborto. Adicionalmente esta classe de metabólitos secundários possui ação mutagênica podendo interferir na replicação celular do feto (Freitas *et al.* 2014).

Os flavonoides demonstrados na *Tabela 1*, são

**Tabela 1.** Plantas Medicinais com efeitos teratogênicos, embriotóxicos e abortivos utilizadas comumente por gestantes.

Nome científico Nome popular	Princípio tóxico	Efeitos adversos	Parte usada	Referência
<i>Rosmarinus officinalis</i> Alecrim	Terpenos, flavonoides	Abortivo	Folhas e galhos	Gorril <i>et al.</i> 2016
<i>Angelica archangelica</i> Angélica	Cumarinas, flavonoides	Abortivo, teratogênico	Folhas	Roman <i>et al.</i> 2014; Kristanc e Krefl 2016
<i>Ruta graveolens</i> Arruda	Flavonoides, alcaloides, cumarinas	Embriotóxico, abortivo, teratogênico	Folhas	Borges <i>et al.</i> 2015
<i>Artemisia vulgaris</i> Artemisia	Cumarinas, taninos, terpenos	Teratogênico, embriotóxico	Folhas, raiz	Messias <i>et al.</i> 2015
<i>Ferula assafoetida</i> Assa-fétida	Cumarinas, terpenos	Emenagogo, abortivo, teratogênico	Folhas	Messias <i>et al.</i> 2015; Lopes <i>et al.</i> 2017
<i>Aloe sp.</i> Babosa	Antraquinonas	Abortivo, mutagênica	Folhas, seiva	Freitas <i>et al.</i> 2018
<i>Plectranthus barbatus</i> Boldo	Alcaloides, cumarinas	Embriotóxico, abortivo, teratogênico	Folhas	Ferreira <i>et al.</i> 2017
<i>Peumus boldus</i> Boldo do Chile	Alcaloides (boldina, espateína), óleo essencial	Teratogênico, abortivo, embriotóxico	Folhas	Campos <i>et al.</i> 2016
<i>Luffa operculata</i> Bucha Paulista	Terpenos	Abortivo, embriotóxico	Frutos	Medeiros <i>et al.</i> 2014; Borges <i>et al.</i> 2015
<i>Lantana câmara</i> L. Camará, chumbinho	Flavonoides, terpenos	Teratogênico	Folhas	Campos <i>et al.</i> 2016; Traesel <i>et al.</i> 2017
<i>Matricaria recutita</i> Camomila	Flavonoides, terpenos	Abortivo	Folhas e flores	Arcanjo 2013
<i>Baccharis trimera</i> Carqueja	Flavonoides, terpenos	Abortivo	Folhas	Karam <i>et al.</i> 2013
<i>Rhamnus purshiana</i> Cáscara sagrada	Antraquinonas	Emenagogo, abortivo, genotóxico	Folhas, frutos	Arcanjo 2013; Viegas <i>et al.</i> 2014
<i>Cinnamomum camphora</i> Cânfora	Terpenos	Abortivo	Cascas	Lopes <i>et al.</i> 2014
<i>Echinodorus macrophyllus</i> Chapéu-de-Couro	Alcaloides, flavonoides, triterpenos	Abortivo	Folhas	Messias <i>et al.</i> 2015
<i>Symphytum officinale</i> Confrei	Alcaloides, terpenos	Abortivo	Folhas	Medeiros <i>et al.</i> 2014; Campos <i>et al.</i> 2016
<i>Eucaliptus globulus</i> Eucalipto	Terpenos, flavonoides	Abortivo	Folhas	Souza <i>et al.</i> 2013
<i>Maytenus ilicifolia</i> Espinheira santa	Terpenos	Abortivo	Folhas, cascas, raízes	Coutinho <i>et al.</i> 2014; Silva <i>et al.</i> 2015
<i>Mentha piperita</i> Hortelã	Terpenos, flavonoides, ácido p-cumarínico	Teratogênico	Folhas	Gorril <i>et al.</i> 2016; Silva <i>et al.</i> 2015; Anhesi <i>et al.</i> 2016
<i>Ginkgo biloba</i> L. Ginkgo biloba	Flavonoides, cumarinas	Abortivo, teratogênico	Folhas, frutos e sementes	Carvalho <i>et al.</i> 2013
<i>Tabebuia impetiginosa</i> Ipê - Roxo	Antraquinonas, flavonoides, taninos	Teratogênico, abortivo	Folhas	Gorril <i>et al.</i> 2016; Kristanc e Krefl 2016
<i>Solanun crinitum</i> Lam Jurubeba	Alcaloides	Abortivo	Frutos, raízes, folhas, flores	Campos <i>et al.</i> 2016
<i>Brunfelsia uniflora</i> Manacá	Alcaloides	Abortivo	Folhas, raízes, talos	Campos <i>et al.</i> 2016
<i>Punica granatum</i> Roma	Alcaloides	Embriotóxico	Sementes, casca, fruto tronco, casca da raiz	Ali-Shtayeh <i>et al.</i> 2015
<i>Cassia angustifolia</i> Sene	Antraquinonas, flavonoides	Abortivo	Folhas	Medeiros <i>et al.</i> 2014; Kristanc e Krefl 2016

encontrados em vegetais como: alecrim, angélica, boldo-do-chile, camará, camomila, carqueja, chapéu-de-couro, eucalipto, hortelã, Ginkgo biloba e romã (Souza *et al.* 2013; Arcanjo 2013; Campos *et al.* 2016; Silva *et al.* 2017).

O uso destas plantas ricas em flavonoides deve ser evitado por gestantes, principalmente no último trimestre de gestação, pois, à ação anti-inflamatória destes metabólitos podem prejudicar o funcionamento do coração do bebê. Isso se dá pela inibição da produção das prostaglandinas produzidas pela placenta, as quais têm a função de manter aberto o ducto arterioso que une a artéria pulmonar à aorta, e após sete meses de gestação esse canal depende das prostaglandinas para manter-se aberto, o seu fechamento pode interromper o fluxo sanguíneo levando o feto a morte (Zielinsky *et al.* 2013).

Além dos já descritos, existem outros metabólitos presentes nas plantas medicinais que podem causar danos à saúde da gestante, como as cumarinas, que estão presentes em espécies como a angélica, a assa-fétida, arruda, artemísia, boldo e ginkgo biloba, como descritos na Tabela 1. São compostos fenólicos que possuem ação anticoagulante, adstringente, anti-inflamatória, antidiarreica, antisséptica e antioxidante (Weigt *et al.* 2012).

As cumarinas, interferem na síntese dos fatores de coagulação, como por exemplo, na síntese da vitamina K, que por antagonismo inibe a formação da protrombina quebrando a homeostasia da cascata de coagulação. Estes metabólitos interagem de forma sinérgica com anticoagulantes de origem sintética, como a heparina, aumentando o risco de hemorragias ou ocorrência de eventos tromboembólicos. São considerados teratogênicos quando utilizado no primeiro trimestre de gestação, em alguns casos podem provocar o aborto (Lussana *et al.* 2012; Weigt *et al.* 2012; Vieigas *et al.* 2014).

Por fim destacam-se os terpenóides, metabólitos secundários abundantes no reino vegetal, sendo os metabólitos de maior presença nas espécies apresentadas na Tabela 1. Muitos compostos desta classe são empregados na indústria farmacêutica, pois apresentam uma grande variedade de propriedades biológicas tais como efeito antimicrobiano, antifúngico, antiviral, hipoglicemiante, analgésico antiinflamatório e antiparasitário (Oliveira *et al.* 2014; Montesano *et al.* 2018). Eles estão presentes em produtos a base de alecrim, buchinha, paulista, cânfora, hortelã, camomila, artemísia, assa-fétida, chapéu-de-couro, espinheira san-

ta, hortelã, eucalipto, carqueja, camomila. Produtos consumidos pelas gestantes para tratamento rápido de sintomas como náusea, vômito, constipação, flatulência, azia, gripe e resfriado, ansiedade e depressão (Karam *et al.* 2013; Messias *et al.* 2015; Lopes *et al.* 2017).

Os terpenoides podem causar danos à saúde da gestante, como exemplo o aborto devido ao relaxamento da musculatura uterina, que dificulta a fixação do embrião. Efeitos como embriotoxicidade e teratogenicidade também são descritos na literatura (Kristanc e Kreft 2016; Montesano *et al.* 2018).

Diante do exposto o uso de plantas medicinais durante a gestação pode representar um perigo iminente para a saúde da gestante e do bebê. Por isso, a gestante deve sempre informar ao seu médico todo remédio que esteja utilizando seja ele de origem sintética, planta medicinal ou fitoterápico.

### Conclusão

Diante do que foi apresentado neste estudo, foi possível constatar que o uso de plantas medicinais por mulheres no período de gestação ocorre de forma descontrolada e sem o devido conhecimento dos efeitos adversos que podem ser causados por essas plantas, podendo submeter o bebê a efeitos embriotóxicos, teratogênicos e abortivos. As plantas possuem na sua composição metabólitos secundários como: os alcaloides, antraquinonas, flavonoides, cumarinas e terpenos, os quais são relacionados à possíveis danos à saúde da gestante e do bebê. Desse modo, é de extrema importância que as mulheres em estado gestacional tenham o devido cuidado com a sua saúde quando se trata do uso de plantas medicinais, pois muitas das plantas medicinais não possuem estudos que indiquem sua eficácia e segurança, assim como os seus efeitos tóxicos.

### Bibliografia citada

Ali-Shtayeh M.S., Jamous R.M., Jamous R.M. Plants used during pregnancy, childbirth, postpartum and infant healthcare in Palestine. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 2015;21(2):84-93.

Andrade A.M., Ramalho M., Opitz S.P., Martins F.A. Farmacocinética e mecanismos de teratogenicidade dos medicamentos na gestação: uma revisão da literatura. *Infarma*. 2017;29(2):100-107.

Anhesi N., Rosa L.G., Pereira A.C., Melo A. Uso de Plantas Medicinais na Gestação. RETEC. 2016;9(2):101-109.

Araújo C., Santiago F., Peixoto M., Oliveira J., Coutinho, M. Use of Medicinal Plants with Teratogenic and Abortive Effects by Pregnant Women in a City in Northeastern Brazil. Rev Bras Ginecol Obstet. 2016;38(03):127-131.

Arcanjo G.M.G. Estudo da utiliza o de plantas medicinais com finalidade abortiva. REB. 2013;6:234-250.

Barros R.R., Simões L., Moretti E., Lemos A. Repercussão da dor da cintura pélvica na funcionalidade de gestantes avaliadas através da versão brasileira do Pelvic Girdle Questionnaire (PGQ-Brasil): estudo transversal. Fisioter Pesqui. 2015;22(4):404-410.

Borges R.A.M., Oliveira V.B. Riscos associados ao uso de plantas medicinais durante o período gestacional. Rev Uniandr de. 2015;16(2):101-108.

Campos S.C., Silva C.G., Campana P.R.V., Almeida V.L. Toxicidade das Espécies Vegetais. Rev Bras Plantas Med. 2016;18(1):373-382.

Carvalho M.G., Melo A.G.N., Aragão C.F.S., Raffin F.N., Moura T.F.A. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. Rev Bras PI Med. 2013;15(1):158-169.

Chen X.P., Li W., Xiao X.F., Zhang L.L., Liu C.X. Phytochemical and pharmacological studies on Radix *Angelica sinensis*. Chin J Nat Med. 2013;11(6):577-587.

Costa D.B., Coelho H.L.L., Santos D.B. Utiliza o de medicamentos antes e durante a gesta o: prevalência e fatores associados. Cad Saúde Pública. 2017;33(2):1-14.

Costa K.C.S., Bezerra S.B., Norte C.M., Nunes L.M.N., Olinda T.M. Medicinal plants with teratogenic potential: current considerations. Braz J Pharm Sci. 2012;48(3):427-433.

Coutinho E.C., Silva C.B., Chaves C.M.B., Nelas P.A.B., Pereira V.B.C., Amaral M.O., Duarte J.C. Gravidez e parto: O que muda no estilo de vida das mulheres que se tornam mães? Rev

Esc Enferm USP. 2014;48(2):17-24.

Ferreira M.D.S., Batista E.K.F., Farias I.S., Santos L.S., Oliveira J.M.G., Silva S.M.M. Avalia o fitoquímica e toxicológica dos extratos do fruto de *Buchenavia* sp. Acta bras. 2017;1(2):17-22.

Fotland T., Paulesen J.E., Sanner T., Alexander J., Husoy T. Risk assessment of coumarin using the benchmark dose (BMD) approach: Children in Norway which regularly eat oatmeal porridge with cinnamon may exceed the TDI for coumarin with several folds. Food Chem Toxicol. 2012;50(3):903-912.

Freitas V.S., Rodrigues R.A.F., Gaspi F.O.G. Propriedades farmacológicas da *aloe vera* (L.) Burm. f. Rev Bras PI Med. 2014;16(2):299-307.

Gorri  L.E., Jacomassi E., Junior S.E.M., Dalcen-ter P.R., Junior G.A., Lourenço E.L.B. Risco das plantas medicinais na gesta o: uma revisão dos dados de acesso livre em língua portuguesa. Arq Cienc Saúde UNIPAR. 2016;20(1):67-72.

Karam T.K., Dalposso L.M., Casa D.M., De Freitas G.B.L. Carqueja (*Baccharis trimera*): utiliza o terap utica e biossíntese. Rev Bras PI Med. 2013;15(2):280-286.

Kim Y., Kim J., Kim O.J., Kim W.C. Intoxication by angel's trumpet: case report and literature review. BMC Res Notes. 2014;20(7):553-555.

Kristanc L., Kreft S. European medicinal and edible plants associated with subacute and chronic toxicity part I: Plants with carcinogenic, teratogenic and endocrine-disrupting effects. Food Chem Toxicol. 2016;92:150-164.

Lima M.O.P., Tsunehiro M.O.P., Bonadio I.C., Murata M. Sintomas depressivos na gesta o e fatores associados: estudo longitudinal. Acta Paul Enferm. 2017;30:39-46.

Lima R.F.S., Turrini R.N.T., Silva L.R., Melo L.D.S. Augusto S.I. Práticas populares de cura e o uso de plantas medicinais por mães ribeirinhas no cuidado infantil. Rev Pesqui Cuid Fundam (Online). 2017;9(4):1154-1163.

Lopes G., Pinto E., Salgueiro L. Natural Products: An Alternative to Conventional Therapy for Dermatophytosis. Mycopathologia. 2017;182(1-2):143-167.

- Lussana F., Coppens M., Cattaneo M., Middeldorp S. Pregnancy-related venous thromboembolism: Risk and the effect of thromboprophylaxis. *Thrombosis Research*. 2012;129(6):673-680.
- Maia T.I., Trevisol F.S., Galato D. Uso de medicamentos no primeiro trimestre de gravidez: avaliação da segurança dos medicamentos e uso de ácido fólico e sulfato ferroso. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2014;36(12):541-547.
- Medeiros M.A., Correia F.R., Dantas F.P.M., SANTOS J.R.S., Medeiros R. Efeitos teratogênicos de *Prosopis juliflora* em ratos e análise da toxicidade das vagens. *Pesq Vet Bras*. 2014;34:1080-1093.
- Messias M.C., Menegato M.F., Prado A.C.C., Santos B.R., Guimarães M.F.M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. *Rev Bras PI Med*. 2015;17(1):76-104.
- Montesano D., Rocchetti G., Putnik P., Lucini L. Bioactive profile of pumpkin: an overview on terpenoids and their health-promoting properties. *Curr Opin Food Sci*. 2018;(22):81- 87.
- Oliveira A.M., Barreto A.A.O., Júnior L.J.Q., Guimarães A.G. Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: uma prospecção. *Revista GEINTEC*. 2014;4(4):1292-1298.
- Penido A.B., Morais S.M., Ribeiro A.B., Silva AZ; Ethnobotanical study of medicinal plants imperatriz, State of Maranhão, Northeastern Brazil. *Acta Amaz*. 2016;46(4):345-344.
- Pontes S.M., Souza A.P.M., Barreto B.F., Oliveira H.F.B., Oliveira L.B.P., Saraiva A.M., Costa D.A., Carmo E.S. Utilização de plantas medicinais potencialmente nocivas durante a gestação na cidade de Cuité-PB. *Com Ciências Saúde*. 2012;23(4):305-311.
- Quedraogo M., Baudoux T., Stévigny C., Nor-tier J., Duez P. Review of current and “omics” methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms. *J Ethnopharmacol*. 2012;140(3):492-512.
- Rodrigues H.G., Meireles C.G., Lima J.T., Toledo G.P., Cardoso J.L., Gomes S.I. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. *Rev Bras PI Med*. 2011;13(3):359-366.
- Roman S.S., Dambros A., Rosset A., Pistore M., Schimid A.R., Cansian R. Toxicidade Materna e reprodutiva de extrato hidroalcolico de *Sonchus oleraceus* L. em ratos Wistar. *Perspectiva Erechim*. 2014;38(141):69-77.
- Samavati R., Ducza E., Hajagos-Tóth J., Gaspar R. Herbal laxatives and antiemetics in pregnancy. *Reprod toxicol*. 2017;72:153-158.
- Silva F.C., Ribeiro A.B., Ribeiro P.R.S. Avaliação da qualidade de plantas medicinais comercializadas no município de Imperatriz, Maranhão. *Scientia Plena*. 2017;13(2):1-9.
- Silva L.R., Martins L.V., Felício I.B., Deus C.M., Pinheiro P.M., Ferreira A.P.P. Flavonoides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. *Acta Toxicol Argent*. 2015;23(1):36-43.
- Souza M.C.V., Tangerina M.M, Silva V.C., Vilegas W., Sannomiya M. Plantas medicinais abortivas utilizadas por mulheres de UBS: etnofarmacologia e análises cromatográficas por CCD e CLAE. *Rev Bras PI Med, Campinas*. 2013;15(4):763-773.
- Traesel G.K., Lima F.F., Santos A.C., Souza R.I., Oesterreich S.A. Evaluation of embryotoxic and teratogenic effects of the oil extracted from *Caryocar brasiliense* Cambess pulp in rats. *Food Chem Toxicol*. 2017;110:74-82.
- Vieigas C.F., Francicon C.H., Lima M.P. Abordagem etnobotânica em uma empresa do polo industrial de Manaus. *Scientia Amazonia*. 2014;3(3):51-58.
- Wang X.H., Fan L.Y., Wang S., Wang Y., Yan L.C., Zheng S.S., Martyniuk C.J., Zhao Y.H. Relationship between acute and chronic toxicity for prevalent organic pollutants in *Vibrio fischeri* based upon chemical mode of action. *J Hazard Mater*. 2017;338:458-465.
- Weigt S., Huebler N., Strecker R., Braunbeck T., Broschard T.H. Developmental effects of coumarin and the anticoagulant coumarin derivative warfarin on zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Reprod Toxicol*. 2012;33(2):133-141.

Wiesner J., Knoss W. Herbal medicinal products in pregnancy. Which data are available? *Reprod Toxicol.* 2017;72:142-152.

Wink M. Alkaloids: toxicology and health effects. *Food science – Enc food health.* 2016;1:106-114.

Wyk B.E.V., Stander MA, Long HS. *Senecio angustifolius* as the major source of pyrrolizidine

alkaloid contamination of rooibos tea (*Aspalathus linearis*). *S Afr J Bot.* 2017;110:124-131.

Zielinsky P., Picolli A., Vian I., Zillo A.M., Nicoloso H.M., Barbisan W.C., Busato S., Lopes M., Klein C. Restrição Materna de Polifenóis e Dinâmica Ductal Fetal na Gestação Normal: Um Ensaio Clínico Aberto. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(3):217-225.

## ADDENDA

### RESÚMENES DE PRESENTACIONES ORALES DE LAS XXXVI JORNADAS ARGENTINAS INTERDISCIPLINARIAS DE TOXICOLOGÍA

#### Taller

#### **Biomarcadores de genotoxicidad. Aplicaciones y resultados, el relato de los becarios**

#### **Biomarcadores de genotoxicidad en madres de niños con anomalías congénitas en la Provincia de Santa Fe** **Genotoxicity biomarkers in mothers of newborns with congenital anomalies in Santa Fe Province**

Colussi, Carlina L.<sup>1</sup>; Zanetti, Ana<sup>2</sup>; Racigh, Nora<sup>3</sup>; Lunghi, Juan<sup>4</sup>; Peralta, Laura<sup>5</sup>; Barrionuevo, Adelia<sup>4</sup>; Gigli, Mariel<sup>6</sup>; Willimburgh, Verónica<sup>6</sup>; Poletta, Gisela<sup>1</sup>; Simoniello, Fernanda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria, 3000, Santa Fe. <sup>2</sup>Hospital SamCo "Dr. J. Ferré", Rafaela. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. <sup>3</sup>Hospital de Niños "Dr. Alassia", Santa Fe. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. <sup>4</sup>Hospital "Dr. J. Iturraspe", Santa Fe. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. <sup>5</sup>Hospital "Dr. J.M. Cullen", Santa Fe. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. <sup>6</sup>Hospital Provincial de Rosario, Rosario. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. [carlicolussi@yahoo.com.ar](mailto:carlicolussi@yahoo.com.ar)

Las anomalías congénitas (AC) son defectos estructurales o funcionales que ocurren durante el período embrionario y pueden diagnosticarse antes, durante o posterior al nacimiento. Si bien pueden tener una causa multifactorial, en la mayoría de los casos es difícil identificar dichas causas. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de factores de riesgo y marcadores de genotoxicidad, en madres de recién nacidos sanos (controles) y con AC (casos) de la Provincia de Santa Fe. Se registraron AC mayores y que no fueran producto de un síndrome genético o cromosómico. Se llevó a cabo un estudio transversal, donde colaboraron los sectores de Neonatología, Obstetricia y Laboratorio de cinco hospitales públicos de la Provincia. Se les realizó una encuesta sobre datos sociodemográficos, laborales, conductuales, de salud de la madre y del niño; y se determinó –en linfocitos de sangre periférica de las madres–, el daño en el ADN a través del Ensayo Cometa (EC) y la contribución a dicho

daño por oxidación de bases pirimídicas en el ADN, utilizando la enzima endonucleasa III (sitios Endo). Se evaluaron 70 pacientes, 19 casos y 51 controles, pertenecientes a 10 departamentos de la Provincia. La media de edad fue de  $25,4 \pm 5,9$  años. Las AC detectadas fueron craneofaciales (n=2), miembros (n=4), aparato genito-urinario (n=1), digestivas (n=3), del SNC (n=6), y de la pared abdominal (n=3). No se observó diferencia significativa para EC y sitios Endo cuando se consideraron como factor: edad, consumo de tabaco, alcohol y ácido fólico en el embarazo en los casos y controles. Se halló diferencia significativa en los sitios Endo en el grupo control –entre las que habían consumido ácido fólico y las que no–, y en el grupo de madres de casos entre las que eran fumadoras pasivas y las que no lo eran. El efecto antioxidante del ácido fólico disminuiría el daño al ADN en las madres de los controles, mientras que el tabaquismo pasivo influiría en los resultados observados en las madres de niños con AC. Es necesario no sólo continuar con la evaluación de genotoxicidad de este grupo poblacional vulnerable, sino también visibilizar los factores de riesgo conductuales y ambientales, para generar estrategias de acción que apunten a reducir los riesgos de AC, con el consecuente mejoramiento en salud pública.

Agradecimientos: a las madres participantes del estudio, y a los hospitales colaboradores.

#### **Contribución del daño oxidativo al ADN a la genotoxicidad producida por plaguicidas y sus mezclas en neonatos de *Caiman latirostris*** **Contribution of oxidative damage to DNA to genotoxicity produced by pesticides and their mixtures in neonates of *Caiman latirostris***

Odetti, Lucia M.<sup>1,2</sup>; Simoniello, Ma. Fernanda<sup>1</sup>; Poletta, Gisela L.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. Ciudad Universitaria, Paraje el Pozo, CP: 3000. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). CABA, Argentina. Godoy Cruz 2290 CP: C1425FQB. <sup>3</sup>Proyecto Yacaré, Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados (FHUC-UNL/MASPyMA). Santa Fe,



Argentina. Aristóbulo del Valle 8700, CP: 3000.

luodetti@hotmail.com

El yacaré overo (*Caiman latirostris*; Crocodylia, Alligatoridae) es una de las dos especies de cocodrilianos que habitan en la República Argentina, distribuyéndose en un área considerablemente amplia del centro-norte del país. Actualmente, muchas de las poblaciones naturales de caimanes se ven afectadas por la pérdida de hábitat como consecuencia de la expansión agrícola y están constantemente expuestas a plaguicidas. El presente estudio se planteó como objetivo, evaluar el daño oxidativo en sangre periférica de yacaré overo expuestos durante sus primeros meses de vida a formulaciones de glifosato (GLI), cipermetrina (CIP), clorpirifos (CPF) y la mezcla (M) de ellos en condiciones semi-naturales. Para ello se caracterizó el estado oxidativo mediante la determinación de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT) y superóxido dismutasa, se determinó el daño oxidativo a lípidos a través de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), y el daño oxidativo al ADN a través del ensayo cometa modificado por el agregado de las enzimas ENDO III y FPG. Se realizó una exposición a 100 neonatos (20 días de edad) procedentes de 5 nidos diferentes, y fueron distribuidos equitativamente en 5 tratamientos (20 individuos en cada grupo): control negativo (CN) tratado con agua potable; un grupo expuesto a CIP (Atanor® - 0,12%); uno expuesto a CPF (Lorsban\* - 0,8%); otro a GLI (Roundup® Full II- 2 %) y un grupo expuesto a la mezcla de las tres formulaciones (2% + 0,12 % + 0,8 %). Los individuos estuvieron expuestos en condiciones semi-controladas durante tres meses y las concentraciones utilizadas fueron las recomendadas para su aplicación a campo en cultivos de soja. La toma de muestra de sangre fue realizada al finalizar el ensayo. Los resultados indicaron oxidación en las bases púrica en la formulación de GLI ( $p=0,0159$ ) y oxidación en las bases pirimídicas en la formulación de GLI ( $p=0,0079$ ), CIP ( $p=0,0159$ ), CPF ( $p=0,0238$ ) y M ( $p=0,0159$ ) con respecto al CN. A su vez se encontraron diferencias significativas en el daño oxidativo a lípidos en GLI ( $p=0,0499$ ) con respecto al CN. La interacción de las especies reactivas de oxígeno con el ADN y lípidos observado podría conducir a alteración de membranas y oxidación de bases junto con otras posibles consecuencias en la salud de estos individuos.

Agradecimientos: Proyecto Yacaré y Yacarés Santafesinos

(Gov. Sta. Fe/MUPCN), CONICET (PIP 11220130100478CO a GLP), UNL (CAI+D 2011 50120110100189 a GLP).

### Triclosán: consideraciones para su evaluación genotóxica en un modelo *in vitro*

#### Triclosan: Considerations for its genotoxic assessment in an *in vitro* model

Schiariti Lampropulos, Victoria E.<sup>1,2</sup>; López Nigro, Marcela M.<sup>1,2</sup>; Carballo, Marta A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Bioquímica Clínica, CIGETOX (Citogenética Humana y Genética Toxicológica). Junín 956, CABA (1113) (+5411)5950-8707. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC).

vschiariti@docente.ffyb.uba.ar

El triclosán (5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol) es un agente sintético con elevado poder bactericida ampliamente utilizado en productos de uso personal e industrial (jabones antibacterianos, dentífricos, cosméticos). Existen evidencias científicas a partir de experimentos en animales que indican que podría actuar como disruptor endócrino e incluso ser hepatotóxico; sin embargo, aún se desconoce si pudiera presentar actividad genotóxica. La elevada hidrofobicidad del triclosán lo convierte en una sustancia de difícil manejo *in vitro*, razón por la cual no se cuenta en la literatura con estudios de este tipo hasta el momento. Por otra parte, estudios previos *in vivo* de nuestro grupo de trabajo con crucíferas como el berro (*Rorippa nasturtium-aquaticum*) y la rúcula común (*Eruca vesicaria*) han demostrado propiedades antigenotóxicas frente a citostáticos como la ciclofosfamida. Los objetivos del presente trabajo fueron: a) conducir una evaluación sobre la capacidad citotóxica y genotóxica potencial del triclosán en un modelo *in vitro*; b) determinar en el mismo modelo experimental si los jugos de berro y rúcula pueden ser utilizados como agentes protectores contra daño inducido por xenobióticos de uso en humanos (triclosán). El diseño experimental fue realizado en línea celular CHO-K1 (con mutación de p53) utilizando el test del MTT para la evaluación de capacidad citotóxica y como biomarcadores de efecto genotóxico el ensayo cometa alcalino y el ensayo citoma. Se trabajó con suspensiones de triclosán en concentraciones en el rango de 50 a 4000  $\mu\text{M}$ , jugo de *Eruca vesicaria* en concentraciones equivalentes a una ingesta de entre 50 y 250 gramos (10, 20, 30, 40 y 50 mg/ml) y jugo de *Rorippa nasturtium-aquaticum*

en concentraciones que representan un consumo de entre 66 y 200 gramos (13,2; 20; 26,4; 33 y 40 mg/ml). Todos los tratamientos fueron realizados durante 24 horas. En el caso de los jugos de berro y rúcula, no presentaron citotoxicidad ( $p > 0,05$  versus control negativo), ni efecto genotóxico en ninguna de las concentraciones ensayadas ( $p > 0,05$  versus control negativo). Para triclosán se obtuvo una curva de viabilidad celular y una IC50 cuya interpretación fue bastante compleja, y resultados de genotoxicidad preliminares que sugieren que no existiría un efecto genotóxico en el rango de 400 a 700  $\mu\text{M}$ .

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto UBACYT 20020130100326BA

### **Poblaciones expuestas a arsénico en agua de bebida y su relación con el daño oxidativo en el ADN**

#### **Populations exposed to arsenic in drinking water and its relation to oxidative damage in DNA**

Quiroga, Ana M.<sup>1,5</sup>; Leonarduzzi, Emilia<sup>5</sup>; Lunguni, Ivana<sup>5</sup>; Grigolato, Raul<sup>5</sup>; Sigrist, Mirna<sup>2</sup>; Olmos, Valentina<sup>3</sup>; Cabagna-Zenkhusen, Mariana<sup>4</sup>; Simoniello, Ma. Fernanda<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Cát. Toxicología y Qca. Legal, FCEQyN, UNaM; <sup>2</sup>PRINARC, FIQ, UNL; <sup>3</sup>Cát. Toxicología y Qca. Legal, FFyB, UBA. <sup>4</sup>Cát. Morfología, FBCB, UNL. <sup>5</sup>Cát. Toxicología, Farmacología y Bioq. Legal, FBCB, UNL.

amq1808@hotmail.com

Las aguas subterráneas de la zona oeste de la provincia Santa Fe contienen de modo natural arsénico (As) en diferentes concentraciones. El 26 % de la población provincial vive en regiones cuya concentración de As en agua de bebida es superior a las recomendaciones de la OMS. El consumo crónico de agua con arsénico es un serio problema para la salud debido a su poder carcinógeno, neurotóxico y a su toxicidad a nivel vascular, al ingerirse en concentraciones mayores de 10  $\mu\text{g As/L}$  en agua. El tiempo de manifestación de las comorbilidades es variable y está relacionado a la sensibilidad individual, estado nutricional, ingesta diaria, concentración de As en agua y tiempo de exposición. El objetivo fue caracterizar la exposición a As en tres localidades de la región centro-oeste de Santa Fe considerando las concentraciones del metaloide en agua de bebida y la excreción en orina; evaluando aspectos vinculados a la alimentación, mediciones antropométricas, parámetros bioquímico-

clínicos y daño oxidativo al ADN. Participaron del estudio 143 habitantes de las localidades de Providencia (Pr), Humboldt (H) y Santa Clara de Sagüer (SC). Se utilizó una encuesta que permitió identificar variables socio-demográficas, de salud, laborales y nutricionales. Se determinaron parámetros bioquímicos (hematológicos y químicos) y las bases pirimidínicas oxidadas mediante la aplicación del Ensayo Cometa en sangre periférica modificado por el agregado de la enzima endonucleasa III (Sitios Endo). Los resultados muestran que en agua de pozo el contenido de As oscila entre 14 y 161  $\mu\text{g/L}$  y en las muestras de orina entre 10,30 y 121,74  $\mu\text{g/g}$  de creatinuria. En su mayoría, los participantes tienen un bajo consumo de frutas y hortalizas con alto riesgo cardiovascular asociado a circunferencia de cintura y un elevado porcentaje de dislipemias. El consumo de agua segura fue del 78% en H, 70% en Pr y del 60% en SC. Los Sitios Endo muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre H, Pr y SC. Cuando se evaluaron sexo, edad, uso de plaguicidas y hábito de fumar como factores de confusión no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$  en todos los casos). Estas comunidades se encuentran en riesgo de exposición al As en agua, observándose que dicho consumo podría poner en riesgo su salud. Además, existe un elevado consumo de alimentos ricos en grasas y un bajo consumo de alimentos fuentes de antioxidantes lo que justifica iniciar estrategias de educación alimentaria.

Agradecimientos: ASACTEI 2010-097-16; CAID 2016 UNL

### **Genotoxicidad de plaguicidas en líneas celulares humanas**

#### **Genotoxicity of pesticides in human cells lines**

Roma, Dardo A.<sup>1,2</sup>; Aiassa, Delia E.<sup>2</sup>; Mañas Torres, Fernando J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Farmacología, Departamento de Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nac. 36 km 601(5800). Teléfono: 0358-4676428 (interno 8). <sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Mutagénesis Ambiental (GeMA), Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nac. 36 km 601(5800). Teléfono: 0358-4676168.

dardoandres@gmail.com

La realización de estudios que definen los mecanismos de acción y/o los efectos citotóxicos y genotóxicos pueden ser realizados a distintos

niveles de complejidad. Los ensayos *in vitro* resultan de gran utilidad porque permiten detectar dichos efectos sobre diversos agentes en sistemas celulares. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la genotoxicidad *in vitro* del herbicida Roundup® ControlMax (equivalente a glifosato ácido 72% p/p) en la línea celular Hek-293, proveniente de células de riñón de embrión humano, a concentraciones reportadas en sangre y leche materna de personas expuestas (a través del consumo de alimentos con residuos del herbicida). Se probaron cinco concentraciones de Roundup® ControlMax: 0,0007; 0,007; 0,07; 0,7 y 3,5 µg/ml, durante tres tiempos de exposición: 1, 4 y 24 horas. Como control negativo se utilizó medio de cultivo RPMI y como control positivo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 20 µM. La viabilidad celular se analizó mediante el método de tinción por exclusión del colorante vital azul de Tripán. La genotoxicidad se evaluó a través del ensayo cometa empleando como parámetro el momento de la cola. En todos los tratamientos la viabilidad celular fue superior al 92%. Los resultados del ensayo cometa mostraron un aumento de daño al ADN estadísticamente significativo respecto del control negativo en tres de las concentraciones de Roundup® analizadas (0,07; 0,7 y 3,5 µg/ml), en todos los tiempos de exposición ( $p \leq 0,001$ ; Test de Dunns). Se observó una correlación positiva entre daño genético y concentración, cuantificado a través del Test de Spearman ( $r = 1$ ;  $p \leq 0,01$ ). Los resultados ponen de manifiesto la capacidad del herbicida Roundup® ControlMax de generar daño genético en células humanas, a concentraciones similares que las reportadas para sangre y leche materna de humanos expuestos a través de la dieta.

Este trabajo fue realizado con financiamiento de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto y CONICET.

**Taller ATA/SIBSA**  
**Trabajando para disminuir los riesgos de las amenazas ambientales por sustancias químicas**

**Biomarcadores: disminuyendo los márgenes de la incertidumbre**  
**Biomarkers: Decreasing the margins of uncertainty**

Simoniello, Ma. Fernanda

Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioq. Legal, FBCB, UNL  
fersimoniello@yahoo.com.ar

La relación entre la exposición a una sustancia peligrosa y la incidencia de efectos adversos a la salud depende de factores como la toxicidad del contaminante, la duración de la exposición y la sensibilidad del receptor, y se puede cuantificar por medio de estudios epidemiológicos o toxicológicos. Casi todos los problemas de manejo de salud ambiental involucran algún grado de incertidumbre; la estimación de emisiones; el destino y transporte de los contaminantes; la exposición humana y los efectos a la salud humana o a los ecosistemas. La combinación de marcadores de exposición, efecto y susceptibilidad permiten disminuir los márgenes de dicha incertidumbre. Desde el año 2008, nuestro laboratorio ha aportado al estudio de los efectos generados por los plaguicidas tanto en biota nativa como en personas expuestas ocupacional o ambientalmente. Los marcadores de genotoxicidad han demostrado ser válidos y robustos sin embargo, es imprescindible incluir en la batería de ensayos determinaciones que permitan detectar la exposición de los xenobióticos. Las perspectivas de aplicar biomarcadores para evaluar la exposición y los efectos biológicos, como el daño al ADN y el estrés oxidativo, permiten mejorar la caracterización del riesgo individual.

Agradecimientos: ASACTEI 2010-097-16; CAID 2016 UNL

**Taller**  
**Desafíos para controlar la inocuidad de los alimentos**

**Conclusiones preliminares del grupo de trabajo GIAH-agroquímicos (Red de Seguridad Alimentaria CONICET)**  
**Preliminary conclusions of the GIAH-agrochemical working group (CONICET Food Safety Network)**

Aiassa, Delia E.<sup>1,10</sup>; Cristos, Diego S.<sup>2,10</sup>; Fuchs, Julio S.<sup>3,10</sup>; Loewy, Ruth M.<sup>4,10</sup>; Marino, Damián J.<sup>5,10</sup>; Miglioranza, Karina<sup>6,10</sup>; Peluso, María Leticia<sup>5,10</sup>; Rovedatti, María Gabriela<sup>7,10</sup>; Simoniello, María Fernanda<sup>8,10</sup>; Wolansky, Marcelo J.<sup>3,10</sup>; Wunderlin, Daniel A.<sup>9,10</sup>; Pardo, Javier<sup>10</sup>; Van Gelderen, Carlos J.<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación GeMA, Universidad Nacional de Río Cuarto, Prov. de Córdoba. <sup>2</sup>Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA-CIA), INTA, Hurlingham, Prov. de Buenos Aires. <sup>3</sup>Instituto de Química Biológica IQUIBICEN, CONICET / Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA. <sup>4</sup>Universidad Nacional del Comahue, Neuquén, Prov. de Neuquén. <sup>5</sup>Centro de Investigaciones del Medio Ambiente, CIMA-CONICET / Universidad Nacional La Plata, La Plata, Prov. de Buenos Aires. <sup>6</sup>Instituto IIMYC, CONICET / Universidad Nacional de Mar

del Plata, Prov. de Buenos Aires. <sup>7</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA. <sup>8</sup>Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, UNL, Santa Fe, Prov. de Santa Fe. <sup>9</sup>Instituto ICYTAT, CONICET / Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Prov. de Córdoba. <sup>10</sup>Grupo de Investigación Ad Hoc Agroquímicos, Red de Seguridad Alimentaria, RSA-CONICET. [mjwolansky@qb.fcen.uba.ar](mailto:mjwolansky@qb.fcen.uba.ar)

En 2016 la Red de Seguridad Alimentaria (RSA, CONICET) incorporó un Grupo ad hoc de investigación sobre el impacto colateral de los agroquímicos utilizados en la producción alimentaria sobre la salud humana y ambiental (GIAH-Agroquímicos). En 2017 elaboramos un documento en respuesta a una solicitud de asesoramiento de la *Comisión de Recursos Naturales y Conservación del Ambiente Humano* (Cámara de Diputados de la Nación, CDN). La consulta consistió de 8 puntos relacionados a una ponderación de tipo costo/beneficio de las estrategias de control de plagas que se utilizan en el país, la adecuación de las tecnologías de aplicación de agroquímicos, los sistemas de producción, la información científica disponible sobre la relación causa-efecto entre la exposición a plaguicidas y trastornos de la salud humana, y la suficiencia de los marcos regulatorios actuales para la prevención de riesgos de toxicidad por exposición alimentaria a residuos de los productos plaguicidas. Los úl-

timos puntos constituyeron el principal foco de atención del GIAH-Agroquímicos. En esta presentación sintetizaremos nuestras conclusiones preliminares. Este GIAH se encontró limitado para realizar un análisis científico completo del estado del arte en este tema debido a la insuficiencia de los datos que se requieren para conducir una evaluación integral del riesgo de toxicidad por exposición a agroquímicos en humanos. La evidencia generada por los grupos locales de investigación y los documentos elaborados por comités de expertos internacionales sugieren que, al menos en algunos casos (poblaciones vulnerables), la exposición acumulativa a residuos de agroquímicos no siempre sigue las predicciones teóricas de los marcos regulatorios vigentes. En esta primera consideración de la inocuidad de los alimentos comercializados en el mercado de consumo interno, proponemos la necesidad urgente de una articulación eficaz entre los entes de gobierno (Salud, Ambiente, Educación, Trabajo, Desarrollo Humano, Economía), el sector académico y el sector productivo, que optimice las capacidades de monitoreo preventivo, el análisis de datos, el cumplimiento de los marcos normativos, el uso racional de tecnologías de control de plagas, y la identificación de áreas técnicas-científicas prioritarias que requieren programas de financiación permanente.

## 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/>" 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, "<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 pro-

cesador 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 tres a seis palabras clave, en el idioma correspondiente. Si el trabajo estuviese escrito en inglés, deberá tener un resumen en español. Las palabras clave iniciarán con mayúscula e irán separadas por punto y coma.

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

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

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

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

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

dejará para la sección Discusión la interpretación más extensa.

Las **tablas** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos, con las leyendas y/o aclaraciones que correspondan al pie. Las llamadas para las aclaraciones al pie se harán empleando números arábigos entre paréntesis y superíndice. Sólo los bordes externos de la primera y la última fila y la separación entre los títulos de las columnas y los datos se marcarán con línea continua. No se marcarán los bordes de las columnas. Asegúrese que cada tabla sea citada en el texto.

Las **figuras** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos. Los dibujos deberán estar en condiciones que aseguren una adecuada reproducción. Los gráficos de barras, tortas o estadísticas deberán tener formato GIF. Los números, letras y signos tendrán dimensiones adecuadas para ser legibles cuando se hagan las reducciones necesarias. Las referencias de los símbolos utilizados en las figuras deberán ser incluidas en el texto de la leyenda.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ejemplos:

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

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

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

Ejemplos:

1. **Artículo estándar en publicación periódica**  
Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid

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

2. **Libros y monografías**

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

3. **Capítulo de libro**

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

4. **Material electrónico**

a. Artículo en publicación periódica en internet

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.htm>Article

B. Página en internet

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

c. Parte de una página de internet

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

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



## INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

---

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

The goal of *Acta Toxicológica Argentina* is to publish articles concerning all areas of Toxicology, including original articles, case reports, short communications, revisions, popularization of science articles, technical notes, 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 a 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 <http://creativecommons.org/licenses/bync/2.5/ar/>". 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 submis-

sion and in English, each followed by three to six keywords 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 resolu-

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

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

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

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

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

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

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

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

**References.** Citations in the text consist of the authors' last name (up to two authors) and the year of publication in parentheses. In the case of more than one citation, list them from the oldest to the newest and separate citations by semicolons. For more than two authors, only cite the first author's last name followed by *et al.* and the year of publication.

Examples:

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

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

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

Examples:

1. **Standard article in periodical publications**

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

2. **Books and monographs**

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

3. **Book chapters**

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

4. **Electronic material**

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

B. Website

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

c. Partial website

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

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

## INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

---

**Acta Toxicológica Argentina** (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) é o órgão oficial de difusão científica da Associação Toxicológica Argentina. Engloba o Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas, tem acesso a artigos e textos completos através da SciELO Argentina. **Acta Toxicológica Argentina** tem como objetivo a publicação de trabalhos relacionados com diferentes áreas da Toxicologia, em artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, atualizações ou revisões, artigos de divulgação, resumos da tese, 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 <http://creativecommons.org/licenses/bync/2.5/ar/> 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 **italico** 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 três a seis 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](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).