

Acta Toxicológica Argentina

Vol. 31, Nº 2
Año 2023

TINTURA ETÉREA
DE
CANTÁRIDAS



Asociación
Toxicológica
Argentina

Publicación de la
Asociación Toxicológica Argentina
Buenos Aires, Argentina

FOTO DE LA PORTADA:

Frasco de cantaridina para uso medicinal, Museo del Hospital de Clínicas "José de San Martín", de la Universidad de Buenos Aires. En medicina humana, la cantaridina se usa para la eliminación de las verrugas epiteliales benignas. Las cantáridas, se usaban antiguamente como contra irritante y vesicante.

Llegó a formar parte de la lista de medicamentos requeridos por el Ejército de Los Andes. Su uso para patologías sistémicas disminuyó debido a efectos secundarios indeseables.

Foto: Eduardo Scarlato.

Acta Toxicológica Argentina es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina.

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

Integra el Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas y se puede acceder a sus artículos a texto completo a través del Portal de Revistas Científicas y Técnicas argentinas (PPCT) y a través 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,

SciELO, REDALYC, Periódica, Google Académico.



Asociación Toxicológica Argentina

Comisión directiva

Presidente

Sergio A. Saracco

Vicepresidente

Silvia Cortese

Secretario

Horacio Trapassi

Tesorero

Jorge Zavatti

Vocales

Julieta Soledad Borello

Fernanda Simoniello

Patricia Lucero

Vocales suplentes

Ignacio Gallo

Gabriela Fiorenza

Alicia Loteste

Comité científico

Ricardo Fernández

Edda Villaamil Lepori

Valentina Olmos

Susana García

Adriana Silvia Ridolfi

Tribunal de honor

José A. Castro

Marta Carballo

Elda Carnigel

Acta Toxicológica Argentina

Director

Adolfo R. de Roodt, *Instituto Nacional de Producción de Biológicos, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán", Ministerio de Salud; Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.*

Comité de redacción

Adriana S. Ridolfi, *Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.*

Aldo S. Saracco, *Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Mendoza; Ministerio de Salud del Gobierno de Mendoza, Mendoza.*

Edda C. Villaamil Lepori, *Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.*

Ricardo A. Fernández, *Hospital Infantil Municipal, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Córdoba.*

Susana I. García, *Facultad de Medicina Universidad de Buenos Aires, Sociedad Iberoamericana de Salud Ambiental.*

Comité de apoyo

Eduardo A. Scarlato, *Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires.*

Gabriela Rovedatti, *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA*

Julieta Borello, *Laboratorio de Control de Calidad Melacrom, Mercedes, Buenos Aires.*

Julio A. Navoni, *Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil.*

Laura C. Lanari, *INPB-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".*

Natalia Guiñazú, *CITAAC-CONICET, Universidad Nacional del Comahue.*

Patricia Lucero, *Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba, Córdoba.*

Comité editorial

Alejandro Alagón, *Universidad Autónoma de México, México.*

Ana María A. Ferrer Dufol, *Universidad de Zaragoza, España.*

Andrea S. Randi, *Universidad de Buenos Aires, Argentina.*

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

Amalia Laborde, *Universidad de la República, Uruguay.*

Bernardo Rafael Moya, *Centro de Información en Medicamentos y Toxicología, Angola.*

Bruno Lomonte, *Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica.*

Carlos Sèvcik, *Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela.*

Carmen Jurado, *Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses de Sevilla, España.*

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

Elizabeth de Souza Nascimento, *Universidade de Sao Paulo, Brasil.*

Eduardo N. Zerba, *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.*

Eugenio Vilanova Gisbert, *Universidad Miguel Hernández, España.*

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

Francisco O. de Siqueira França, *Universidad de Sao Paulo, Brasil.*

Gina E. D' Suze García, *Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela.*

Haydée N. Pizarro, *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.*

Heraldo Nelson Donnerwald, *Universidad Favaloro, Argentina.*

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

Jean-Philippe Chippaux, *Institut de Recherche pour le Développement; Institut Pasteur de Paris, Francia.*

José A. Castro, *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.*

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

María A. Martínez Caballero, *Universidad Complutense de Madrid, España.*

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

María M. Salseduc, *Academia de Farmacia y Bioquímica, Argentina.*

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

Nelly Mañay, *Universidad de la República, Uruguay.*

Norma Vallejo, *Universidad de Buenos Aires, Argentina.*

Veniero Gambaro, *Università di Milano, Italia.*

INDICE

(CONTENTS)

Trabajo Original

Cuantificación de cannabinoides y acetato de vitamina E en cartuchos para vaporizar incautados en Chile

Alcamán Pantoja, Katherinne Elena; Duffau Garrido, Boris Etienne; Cavieres Fernandez, María Fernanda 55

Reportes de casos

Ruptura de malformación arteriovenosa en intoxicación por monóxido de carbono

Pérez Tuñón, Jorge Guillermo; Bazán Godínez, Sandra; Martiñón Ríos, Rocío; González Chávez, Yaneli Ayerim; Ortega Martínez, Sindy Lucero 64

Lesiones por Raya de Río: Acerca de tres casos en el Río de la Plata, Argentina

Dozoretz, Daniel; Quevedo, Graciela; Peralta, Leticia; Pauca, Amelia; Di Biasi, Beatriz; de Roodt, Adolfo Rafael; Damín, Carlos Fabián 68

Artículo Especial

La cantarida, un antecesor del sildenafil

Scarlatto, Eduardo; Zopatti, Damián; Werner, Antonio 77

Instrucciones para los autores 80

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

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

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

TRABAJO ORIGINAL

Cuantificación de cannabinoides y acetato de vitamina E en cartuchos para vaporizar incautados en Chile

Quantification of cannabinoids and vitamin E acetate in vape cartridges seized in Chile

Alcamán Pantoja, Katherine Elena*¹; Duffau Garrido, Boris Etienne¹; Cavieres Fernandez, María Fernanda²

¹Laboratorio Análisis Ilícitos, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, Chile. ²Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. Teléfono: +56 2 25755515; Dirección: Avenida Marathon N°1000, Ñuñoa, Santiago; CP: 7780050, Chile.
* kalcaman@ispch.cl

Recibido: 21 de junio de 2023

Aceptado: 23 de octubre de 2023

Editor: Adriana Ridolfi

Resumen: La marihuana es la droga de abuso de mayor consumo en Chile y el mundo. La forma de consumo más utilizada es fumada como cigarrillos, sin embargo, en el último tiempo se ha masificado el uso de vaporizadores. Estos dispositivos utilizan calor para evaporar la resina que se encuentra al interior de los cartuchos, la cual está compuesta principalmente por delta-9-tetrahidrocannabinol en altas concentraciones y otros aditivos como propilenglicol y acetato de vitamina E. En Estados Unidos se ha descrito toxicidad letal asociado al uso de estos dispositivos. En Chile no se conocen intoxicaciones asociadas a estos productos, sin embargo, su uso ha aumentado en los últimos años por lo que es importante conocer cuál es su composición química. El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración de los principales compuestos presentes en los cartuchos para vaporizar que son incautados en nuestro país y para esto se implementó una metodología analítica para cuantificar los cannabinoides delta-9-tetrahidrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), y acetato de vitamina E mediante la técnica cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas (GC/MSD). Se analizaron 51 muestras de cartuchos con una concentración promedio de THC de 60,2% (p/p). Las concentraciones de CBD y CBN no superaron el 2% (p/p) y en el caso de acetato de vitamina E fue detectado en 9 muestras con una concentración promedio de 51,4% (p/p).

Palabras clave: THC; CBD; CBN; Acetato de vitamina E; Vapear; Cigarrillo electrónico.

Abstract: Marijuana is the most widely used drug of abuse in Chile and the world. The most common form of consumption is smoking cigarettes, but more recently the use of vaporizers has become widespread. These devices use heat to vaporize the resin in the cartridges, which consists mainly of THC in high concentrations and other additives such as propylene glycol and vitamin E acetate. Lethal toxicity associated with the use of these devices has been described in the United States. In Chile, there are no known poisonings associated with these products; however, their use has increased in recent years, so it is important to know their chemical composition. The aim of this study was to determine the concentration of the main compounds present in the vaporizer cartridges seized in our country. To this end, an analytical methodology was implemented to quantify the cannabinoids delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD) and cannabinol (CBN), and vitamin E acetate using the GC/MSD technique. Fifty-one cartridge samples were analyzed with an average THC concentration of 60.2% (w/w). The concentrations of CBD and CBN did not exceed 2% (w/w) and in the case of vitamin E acetate it was detected in 9 samples with an average concentration of 51.4% (w/w).

Keywords: THC; CBD; CBN; Vitamin E acetate; Vaping; Electronic cigarette.

INTRODUCCIÓN

La planta de Cannabis contiene más de 400 compuestos químicos de los cuales alrededor de 60 son cannabinoides, como el tetrahidrocannabivarín, cannabícromeno, cannabigerol, cannabínol (CBN), cannabidiol (CBD) y el delta-9-tetrahidrocannabinol (delta-9-THC, THC), siendo éste último el más conocido y al que se atribuyen los principales efectos psicoactivos de la planta (Rodríguez-Vicente *et al.* 1995). Las principales formas de administración del Cannabis y sus derivados son por vía inhalatoria y por vía oral.

A lo largo de la historia, el consumo de Cannabis ha sido mayoritariamente por vía inhalatoria, sin embargo, en los últimos años y debido a una gran expansión del mercado cannábico, es posible encontrar una amplia gama de productos de Cannabis para uso vía tópica, sublingual e incluso rectal. Los nuevos productos incluyen también dispositivos electrónicos de administración inhalatoria que no requieren combustión pero que permiten vaporizar los productos derivados de Cannabis, desarrollándose así una nueva modalidad de consumo que se denomina “vapear”. El primer vaporizador o cigarrillo electrónico fue patentado en China en el año 2000 y se creó como una alternativa para dejar de fumar o como una opción menos dañina al consumo de tabaco tradicional ya que estaba enfocado al consumo de nicotina y algunos saborizantes sin la necesidad de combustión (Dutra *et al.* 2017). En el año 2007 el uso de vaporizadores se diversificó ya que además de productos con nicotina, estos dispositivos se comenzaron a utilizar para el consumo de productos con delta-9-THC o cannabidiol (Etter 2016).

Los vaporizadores o cigarrillos electrónicos pueden ser de gran variedad de tamaños y formas, sin embargo, todos funcionan de la misma manera, la que consiste en una alimentación por baterías que, mediante una resistencia, calientan el líquido del cartucho para luego obtener el vapor que se puede inhalar (American Cancer Society 2020; NIDA 2020) (Figura 1).

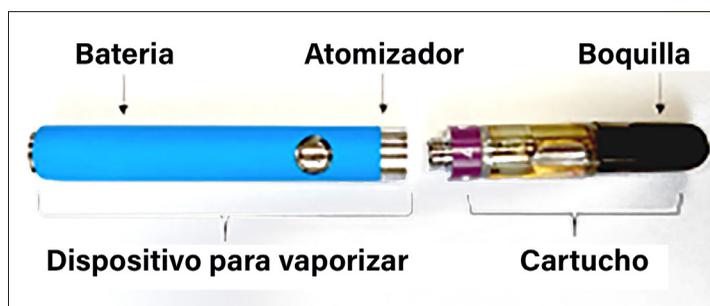


Figura 1. Componentes principales de un vaporizador o cigarrillo electrónico. Imagen propia.

En el mercado también es posible encontrar dispositivos que permiten el consumo de marihuana como material vegetal, sin embargo, este estudio se enfoca solo en los vaporizadores que utilizan un cartucho con resina en su interior.

En el caso particular de los cartuchos de derivados de Cannabis, estos contienen un extracto oleoso de cannabinoides, principalmente con altas concentraciones de THC que superan el 50% (p/p), además de otros aditivos como propilenglicol, glicerina, esencias aromáticas, saborizantes y acetato de vitamina E (AVE) (Duffy *et al.* 2020; Mikheev e Ivanov 2022).

Los riesgos asociados al consumo de THC han sido ampliamente descritos (SOPNIA 2015; WHO 2018; Cerne 2020), sin embargo, aún no existe la evidencia suficiente que evalúe los riesgos asociados a los otros compuestos presentes en la formulación de los cartuchos incluyendo el vapor que inhalan los usuarios. Uno de los compuestos más estudiados hasta el momento corresponde al acetato de vitamina E, el cual se usa como aditivo y espesante, principalmente en los productos de cigarrillos electrónicos que contienen THC. El AVE se encuentra en alimentos y por lo general no causa daño cuando se ingiere o administra de forma adecuada. Sin embargo, al ser inhalado puede afectar la función pulmonar al disminuir la capacidad del surfactante para mantener la tensión superficial en los alvéolos (Lal *et al.* 2020; Muthumalage *et al.* 2020). Según algunos estudios el AVE sería utilizado para adulterar el contenido de los cartuchos y así aumentar el volumen de aceite. Un perfil químico de cartuchos de derivados de Cannabis publicado por el Departamento de Salud de Nueva York, encontró AVE en concentraciones de hasta 58% (p/p), superando las propias concentraciones de cannabinoides (Blount *et al.* 2020). El uso de estos dispositivos se ha relacionado a casos de toxicidad letal en Estados Unidos (CDC 2020).

Cabe destacar que uno de los principales productores de cartuchos para vaporizar es Estados Unidos. En ese país existe legislación estatal que permite el consumo recreacional de estos productos, lo que regula el mercado y la fabricación de los cartuchos. Gran parte de los productos elaborados han pasado por análisis de laboratorio y controles de calidad, motivo por el cual los fabricantes declaran la composición de sus cartuchos en cuanto a concentración de cannabinoides y los excipientes utilizados.

Distinto es lo que ocurre cuando estos cartuchos son adquiridos de manera ilegal, dado que en estos casos su contenido es desconocido o incluso pudo haber sido adulterado, lo que aumenta aún más el riesgo de toxicidad. Dicha situación coincide con lo que ocurre en Chile, donde la totalidad de los cartuchos de THC son comprados en el mercado ilícito y se desconoce su composición. Por este motivo, el objetivo de éste

trabajo fue determinar la concentración de los principales compuestos presentes en los cartuchos que circulan en nuestro país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estándar de referencia y reactivos

Estándar de referencia de delta-9-tetrahidrocannabinol 1 mg/mL en metanol marca Sigma-Aldrich (San Luis, Misuri, Estados Unidos), estándar de referencia de cannabidiol y cannabinol ambos de 1 mg/mL en metanol marca Supelco (Darmstadt, Alemania) y estándar de referencia α -tocoferol acetato marca Sigma-Aldrich (San Luis, Misuri, Estados Unidos). Además, se utilizó n-tetracosano pureza mayor al 98,5% marca Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania) como estándar interno para la validación del método y la posterior cuantificación de muestras reales. Los reactivos utilizados son metanol y n-hexano ambos grado HPLC marca Merck (Darmstadt, Alemania).

Preparación de la muestra

La preparación de la muestra involucró la apertura de los cartuchos, seguida de la disposición de los mismos boca abajo en el interior de tubos de polipropileno de 2 mL. Debido a la alta viscosidad de la resina contenida en los cartuchos, fue necesario centrifugar durante 5 minutos a 4000 rpm para poder vaciar el contenido del cartucho. Posteriormente, los tubos se colocaron al interior de un baño termo regulado a 60 °C por 5 minutos para disminuir la viscosidad de la resina y con un capilar de vidrio se pesaron entre 15 a 30 mg de resina al interior de un matraz aforado de 5 mL.

Finalmente, se adicionó 750 μ L de estándar interno n-tetracosano 0,4 mg/mL y se completó a volumen con una mezcla de metanol y hexano (70:30) para luego llevarlo a baño de ultrasonido durante 5 minutos.

Una vez realizada la solución se tomaron 500 μ L y se llevó a un vial de cromatografía de 2 mL, realizando una dilución de 1:4 con la misma mezcla metanol/hexano para su posterior análisis por GC/MSD.

Condiciones cromatográficas

Para el análisis de cuantificación y confirmación se utilizó un cromatógrafo de gases modelo 6890A acoplado a detector de espectrometría de masas 5973B marca Agilent Technologies con columna HP-5MS modelo J&W 19091S-113 (30 metros x 320 μ m x 0,25 μ m). Las condiciones cromatográficas se presentan en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Condiciones cromatográficas y del detector de masas.

Parámetro	Estado
Volumen y modo de inyección	2 μ L/ modo splitless
Temperatura del inyector	250°C
Gas carrier	Helio ultra puro grado 5,0
Columna	HP-5MS modelo J&W 19091S-113
	30 metros x 320 μ m x 0,25 μ m
	Flujo 0,9 mL/min constante
Detector MS	70ev / Modo de detección Full Scan
	Rango m/z 40-500

El programa de temperatura del horno fue 180 °C durante 1 minuto con una rampa de 4 °C/min hasta 280 °C durante 5 minutos. Tiempo de corrida: 32 minutos.

La adquisición de los fragmentos se realizó en modo Full Scan con tiempo dwell de 100 segundos para todos los iones. A continuación, se detalla el ion target y los iones calificadores utilizados para cada analito: THC 299 (314; 231; 271) CBD 231 (232; 246) CBN 295 (296; 238) AVE 165 (430; 164; 431) y n-tetracosano 57 (71; 42; 85).

Validación del método

La validación del método analítico se realizó de acuerdo a las recomendaciones de la Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC 2009) y metodologías previamente implementadas en el laboratorio sobre análisis de cannabinoides (Duffau y Alcamán 2019). Los análisis estadísticos para todos los parámetros de validación se efectuaron con Excel 2016.

Selectividad

Para determinar la selectividad del método se analizó una solución de trabajo en una concentración de 0,15 mg/mL para CBD y CBN, 0,3 mg/mL de THC y 1,35 mg/mL de AVE. Además, se analizó la matriz blanco (glicerina) y una muestra real de cartucho. La confirmación de identidad de los analitos se realizó comparando del tiempo de retención entre estándares de referencia y muestras reales con una discrepancia no mayor al 2%, estableciendo una correlación entre la abundancia de iones del estándar de referencia y muestras reales con una tolerancia máxima del 20% y comparando los espectros de masas de muestras reales frente a biblioteca SWGDrug para los que el match debe ser superior a 90 (UNODC 2009).

Linealidad y rango de trabajo

El parámetro de linealidad fue evaluado preparando

una curva de calibración en solvente orgánico de 6 niveles de concentración equidistantes entre sí y analizadas por triplicado. Se prepararon soluciones multiestándar con adición de n-tetracosano como estándar interno en una concentración de 0,4 mg/mL por cada nivel. El rango de trabajo para THC fue 0,1 a 0,6 mg/mL, para CBN y CBD 0,05 a 0,3 mg/mL y para AVE 0,45 a 2,7 mg/mL.

Límites de detección y cuantificación

Para determinar tanto el límite de detección como el de cuantificación de los analitos, se analizaron 10 muestras de blanco matriz los cuales se prepararon con glicerina, adición de estándar interno n-tetracosano en concentración 0,4 mg/mL y la mezcla de solventes metanol/ hexano 70:30. Una vez analizados los 10 blancos matriz, se realizó la integración manual en los tiempos de retención respectivos de cada analito y se calculó la desviación estándar. La fórmula utilizada para calcular $LD = 3.3 \cdot S_a/a$ y $LC = 10 \cdot S_a/a$; donde S_a es la desviación estándar de los blancos y a es la pendiente de la curva de calibración.

Precisión

La precisión del método se evaluó en función de la repetibilidad y la precisión intermedia. Para la repetibilidad se prepararon 10 soluciones independientes en blanco matriz el mismo día y por el mismo analista de concentración 0,25 mg/mL de THC, 0,15 mg/mL para CBD y CBN y 1,35 mg/mL de AVE. A las 10 soluciones se les adicionó estándar interno tetracosano en concentración 0,4 mg/mL. Para la precisión intermedia se prepararon 10 soluciones independientes, de iguales concentraciones a las utilizadas para repetibilidad y fueron analizadas en 3 días distintos. Una vez obtenidos los resultados se realizó un análisis estadístico para determinar si existía una diferencia estadísticamente significativa entre las variables seleccionadas.

Recuperación (%)

Para determinar la exactitud se utilizó el método del placebo cargado donde se prepararon muestras fortificadas a 3 niveles de concentración y 3 muestras por cada nivel (Tabla 5). La proporción de la concentración obtenida entre muestras fortificadas y patrones de referencia se denomina recuperación, referido como porcentaje de recuperación (%R). Las soluciones multiestándar fueron añadidas a la matriz blanco seleccionada, se les adicionó el estándar interno de n-tetracosano en concentración 0,4 mg/mL y se realizó la extracción. Posteriormente se calculó el porcentaje de recuperación para cada nivel y el porcentaje de error relativo. Además, se aplicó la prueba t-student para determinar si existe diferencia significativa entre los porcentajes de recuperación obtenidos.

Tabla 5. Porcentaje de recuperación promedio en 3 niveles de concentración.

	Concentración (mg/mL)	Recuperación Promedio (%)	DS	C.V %
1	THC 0,150	99,7	5,98	6,0
	CBD 0,075			
	CBN 0,075			
	AVE 0,600			
2	THC 0,250	94,0	7,62	8,1
	CBD 0,150			
	CBN 0,150			
	AVE 0,900			
3	THC 0,350	101,9	8,28	8,1
	CBD 0,250			
	CBN 0,250			
	AVE 1,200			

DS: Desviación estándar

C.V%: Coeficiente de variación porcentual

Incertidumbre

La incertidumbre fue estimada para cada analito basado en los datos de las desviaciones estándar de la exactitud, precisión intermedia y repetibilidad obtenidos de la validación, además de la incertidumbre de cada estándar de referencia.

RESULTADOS

Validación del método

El método propuesto fue validado de acuerdo a las recomendaciones de Naciones Unidas (UNODC). Además, se realizó una estimación de la incertidumbre asociada al método según los datos obtenidos de la validación. En la Tabla 2 se presenta el resumen de la validación del método.

Selectividad

Los tiempos de retención obtenidos en muestras tienen una discrepancia menor al 2% si se comparan con el tiempo de retención de los estándares de referencia, por lo tanto, cumple el criterio de aceptación. Con respecto a la abundancia relativa de los iones target y calificadores, no hubo una variación mayor al 20% entre la solución multiestándar y una muestra. Finalmente, el valor de match obtenido al comparar el espectro de masas de la biblioteca SWGDrug con el de una muestra real fue de 98 para THC, 96 para CBN y CBD y 99 para AVE. En la Figura 2 se presentan los espectros de masas obtenidos.

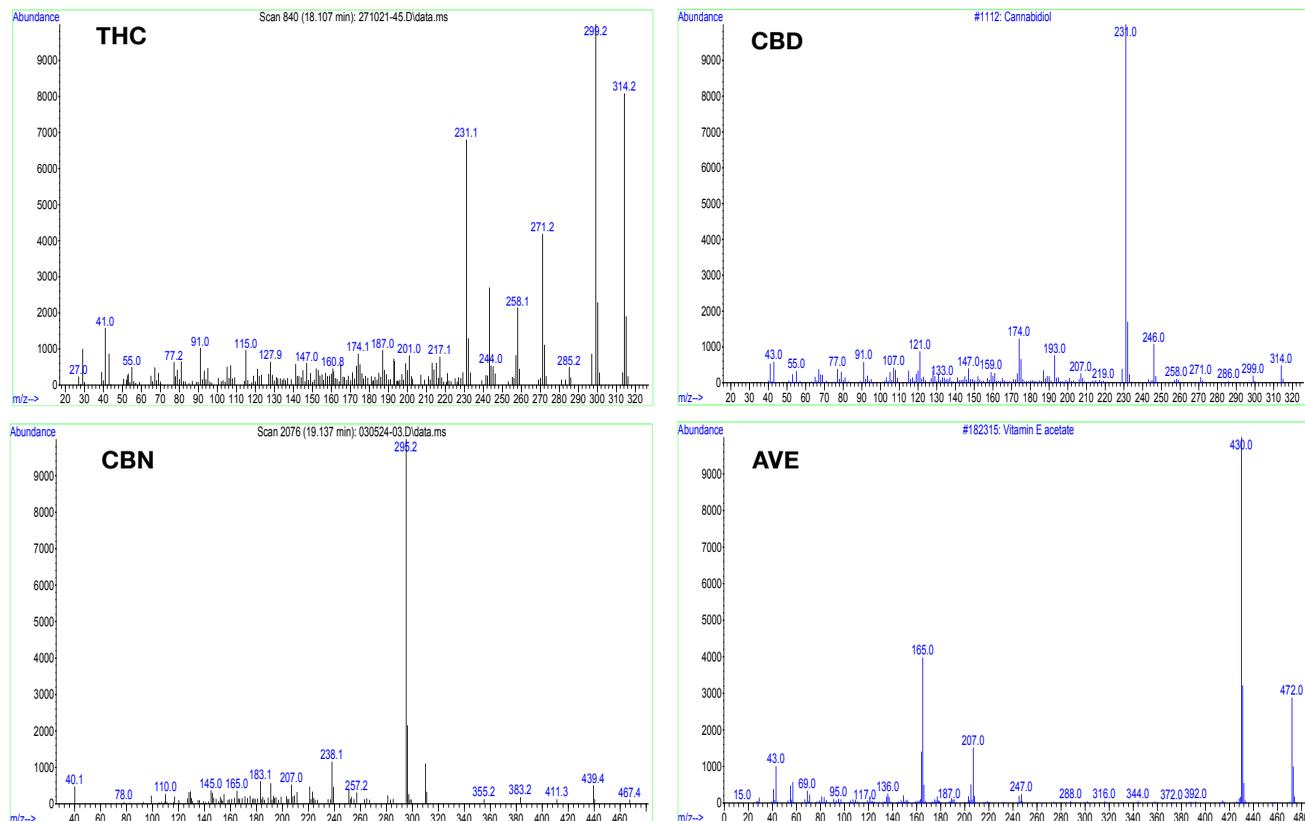


Figura 2. Espectro de masas de delta-9-tetrahidrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN) y acetato de vitamina E (AVE).

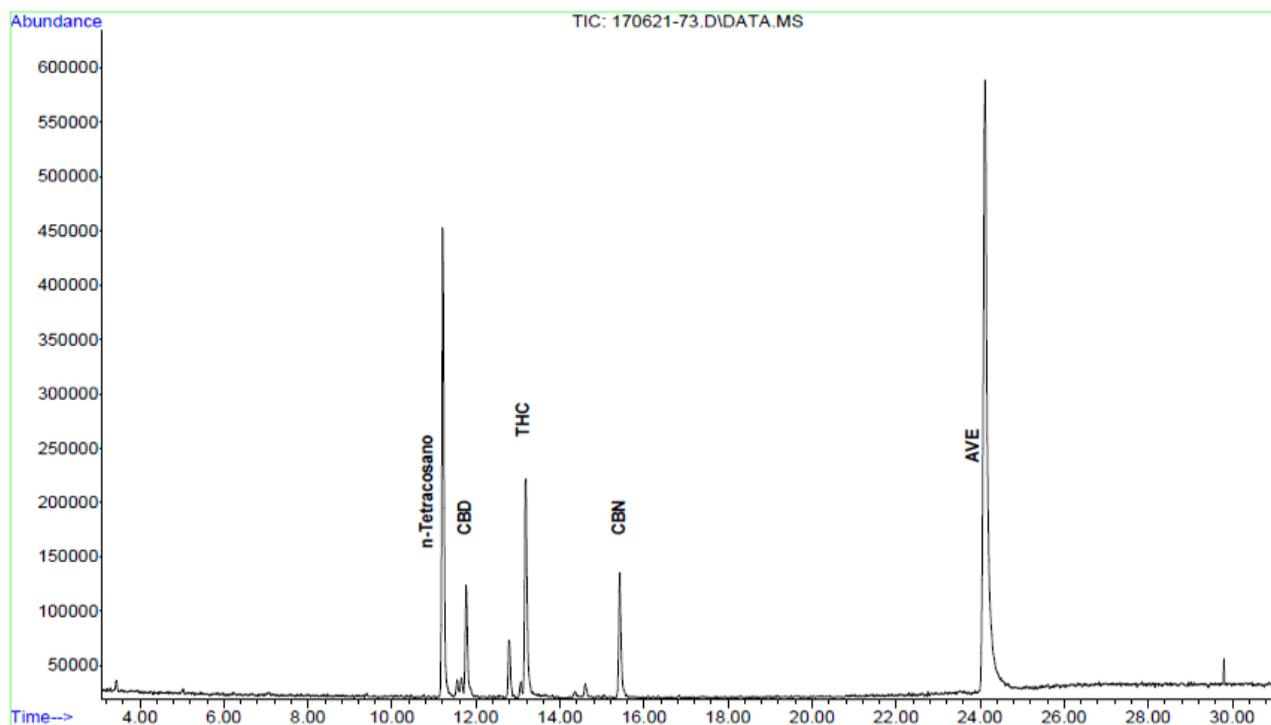


Figura 3. Cromatograma iónico total de muestra real. Cannabidiol (CBD), delta-9-tetrahidrocannabinol (THC), cannabinol (CBN) y acetato de vitamina E (AVE).

Tabla 2. Resumen parámetros validación del método.

	THC	CBD	CBN	AVE
Modelo	y= 2,043x -0,150	y= 4,395x -0,148	y= 9,590x -0,342	y= 4,286x -1,269
Rango de trabajo (mg/mL)	0,10- 0,60	0,05 - 0,30	0,05 - 0,30	0,45 - 2,70
LD (mg/mL)	0,007	0,004	0,002	0,019
LC (mg/mL)	0,02	0,01	0,01	0,06
Exactitud (% Recuperación)	102,9	110,7	90,7	103,3
Incertidumbre (U)	0,06	0,69	0,69	0,09

THC: Delta-9-tetrahidrocannabinol
CBD: Cannabidiol
CBN: Cannabinol
AVE: Acetato de vitamina E
LD: Límite de detección
LC: Límite de cuantificación

Linealidad y rango de trabajo

De acuerdo a las concentraciones declaradas por los fabricantes de los cartuchos, se establecieron los rangos de trabajo según la concentración esperada para cada analito. Una vez analizadas las muestras reales, se comprobó de forma empírica que las concentraciones de las muestras se encontraron dentro del rango de la curva de calibración. Los test estadísticos se presentan en la *Tabla 3*. Para los 4 analitos en estudio, el modelo lineal entrega coeficientes de determinación mayores al 95% y el resultado del análisis de varianza en todos los casos es mayor a 1 por lo tanto es un buen modelo para los datos.

Tabla 3. Linealidad del método.

Analito	Modelo	Coefficiente de determinación R ²	Coefficiente de correlación r	F tabla ANOVA (p-value)
THC	y= 2,043x - 0,150	97,08	0,985	132,899
CBD	y= 4,395x - 0,148	97,14	0,986	135,706
CBN	y= 9,590x - 0,342	98,80	0,993	330,159
AVE	y= 4,286x - 1,269	98,76	0,994	318,076

THC: Delta-9-tetrahidrocannabinol
CBD: Cannabidiol
CBN: Cannabinol
AVE: Acetato de vitamina E

Tabla 4. Precisión intermedia del método evaluada en 3 días.

		Día 1	Día 2	Día 3
THC	Concentración promedio mg THC/mg de resina	0,26	0,26	0,25
	DS	0,006	0,008	0,001
	C.V %	2,6	3,2	4,9
CBD	Concentración promedio mg CBD/mg de resina	0,16	0,17	0,14
	DS	0,005	0,004	0,007
	C.V %	3,5	2,8	5,3
CBN	Concentración promedio mg CBD/mg de resina	0,13	0,14	0,12
	DS	0,005	0,006	0,005
	C.V %	4,1	4,9	4,7
AVE	Concentración promedio mg CBD/mg de resina	1,34	1,37	1,18
	SD	0,046	0,035	0,038
	C.V %	3,5	2,6	3,2

THC: Delta-9-tetrahidrocannabinol
CBD: Cannabidiol
CBN: Cannabinol
AVE: Acetato de vitamina E
DS: Desviación estándar
C.V%: Coeficiente de variación porcentual

Límites de detección y cuantificación

En la *Tabla 2* se presentan los límites para los 4 analitos en estudio. Los límites de cuantificación son 0,020 mg/mL para THC, 0,011 mg/mL de CBD, 0,006 mg/mL de CBN y 0,057 mg/mL de AVE.

Precisión

Al evaluar la repetibilidad del método la desviación estándar para THC fue de 0,006; CBD 0,005; CBN 0,005 y para AVE 0,046. El porcentaje de coeficiente de variación (CV%) no superó el 5% para ninguno de los analitos. Los resultados de la precisión intermedia se muestran en la *Tabla 4*. Se aplicó el test de Levene's el cual entregó valores de p mayores a 1 por lo tanto no existe diferencia estadísticamente significativa entre los 3 días.

Recuperación

En la *Tabla 2* se observan los porcentajes de recuperación para cada analito y en la *Tabla 5* se presentan los promedios de porcentaje de recuperación por cada nivel.

Incertidumbre

Se expresó como porcentaje de incertidumbre expan-

didada de la validación del método con $k=2$ y con nivel de confianza del 95 %. La incertidumbre fue estimada para cada analito basado en los datos de las desviaciones estándar de la exactitud, precisión intermedia y repetibilidad obtenidos de la validación, además de la incertidumbre de cada estándar de referencia. En la *Tabla 2* se observan los resultados expresados como incertidumbre expandida (U).

Análisis de muestras

Se analizó un total de 51 muestras de cartuchos de THC incautados por las policías de Chile en diferentes regiones del país, todas las muestras corresponden a cartuchos con 1 gramo de resina en su interior. La *Figura 3* corresponde al cromatograma de una muestra donde queda de manifiesto que el método propuesto es capaz de separar e identificar correctamente los 4 analitos en estudio.

En la totalidad de las muestras se detectó la presencia de delta-9-tetrahidrocannabinol, en 25 de las muestras se detectó cannabidiol, 28 de las muestras contenían cannabinoles y en 9 se detectó acetato de vitamina E. Además de los 4 analitos en estudio, también se detectó la presencia de delta-8-THC en 5 de las muestras, cuantificación que no se realizó ya que se encuentra fuera del alcance. En el caso particular de las muestras que contenían delta-8-THC se observó una disminución de la concentración de delta-9-THC lo que puede concordar con la descripción de algunos fabricantes que sólo declaran la cantidad de THC total en su producto. En la *Tabla 6* se presenta el detalle de las 51 muestras analizadas y en la *Tabla 7* el resumen de los resultados obtenidos. Los resultados se expresan como mg de analito por mg de resina y como mg de analito por cartucho (1 gramo), al contar con la masa total del cartucho y para fines comparativos, las concentraciones también son expresadas en porcentaje peso/peso. Los cartuchos de resina de Cannabis que se comercializan en nuestro país poseen concentraciones de THC que van desde 6% (p/p) hasta 131% (p/p) con un coeficiente de variación del 44,2% lo que deja de manifiesto la gran variabilidad entre cartuchos. En cuanto a los cannabinoides CBD y CBN las concentraciones promedio fueron entre el 1% (p/p) y 2% (p/p) y finalmente AVE se identificó en 9 de las muestras con una concentración promedio de 51% (p/p).

DISCUSIÓN

Los cartuchos de THC contienen en su interior una resina altamente viscosa, lo que los convierte en un tipo de muestra de difícil manipulación y en una matriz compleja para realizar ensayos que sean reproducibles

Tabla 6. Detalle de los resultados obtenidos en muestras reales ($n= 51$).

	THC (mg/mg resina)	CBD (mg/mg resina)	CBN (mg/mg resina)	AVE (mg/mg resina)	Otros compuestos
MR1	0,39	0,01	0,03	-	
MR2	0,31	0,01	0,03	-	
MR3	0,42	0,01	0,04	-	
MR4	0,69	-	-	-	
MR5	0,09	0,02	0,02	-	Delta-8-THC*
MR6	0,08	0,01	-	-	Delta-8-THC*
MR7	0,08	-	-	-	Delta-8-THC*
MR8	0,06	-	-	1,02	Delta-8-THC; Cannabicitran
MR9	0,64	0,02	0,01	-	
MR10	0,60	-	-	-	
MR11	0,43	-	0,01	-	
MR12	0,43	-	0,01	-	
MR13	0,49	-	-	-	
MR14	0,45	-	0,01	0,65	
MR15	0,41	-	-	-	
MR16	0,29	-	-	-	
MR17	0,58	0,01	0,02	0,31	
MR18	0,64	0,01	0,02	0,29	
MR19	0,66	0,02	0,02	-	
MR20	0,74	0,00	0,01	-	
MR21	0,72	0,01	0,02	-	
MR22	0,71	0,01	0,02	-	
MR23	0,55	0,01	0,02	-	
MR24	0,59	0,01	0,02	0,33	
MR25	0,63	0,01	0,02	0,32	
MR26	0,71	-	-	-	
MR27	0,80	-	-	-	
MR28	0,73	-	-	-	
MR29	0,71	-	-	-	
MR30	0,74	-	-	-	
MR31	0,55	0,01	0,01	0,39	Cannabimeno*; Delta-8-THC
MR32	0,64	-	-	-	
MR33	1,15	-	-	-	
MR34	1,27	-	-	-	
MR35	1,31	-	-	-	
MR36	0,95	-	-	-	
MR37	0,91	-	-	-	
MR38	0,91	-	-	-	
MR39	0,64	0,01	0,01	-	Tetrahidrocannabivarin
MR40	0,69	0,01	0,02	-	Tetrahidrocannabivarin
MR41	0,73	0,01	0,01	-	Tetrahidrocannabivarin
MR42	0,39	0,01	-	0,53	
MR43	0,67	0,00	-	-	
MR44	0,65	-	-	-	
MR45	0,45	0,03	0,01	-	
MR46	0,30	0,01	0,02	-	
MR47	0,55	0,02	0,01	-	
MR48	0,75	-	0,01	-	
MR49	0,67	-	0,01	-	
MR50	0,36	0,00	0,02	0,79	
MR51	0,78	-	0,01	-	-

THC: Delta-9-tetrahidrocannabinol

CBD: Cannabidiol

CBN: Cannabinoles

AVE: Acetato de vitamina E

Nota: Los compuestos marcados con (*) se encontraban declarados en la composición por el fabricante

Tabla 7. Resumen cuantificación cannabinoides y acetato de vitamina E en cartuchos incautados.

	Concentración máxima	Concentración mínima	Promedio	DS	C.V%
THC	1,31 mg/mg de resina	0,06 mg/mg de resina	0,60 mg/mg de resina	0,266	44,2
	1311 mg/ cartucho 131,1% (p/p)	61 mg/ cartucho 6,1% (p/p)	602 mg/ cartucho 60,2% (p/p)		
CBD	0,03 mg/mg de resina	0,002 mg/mg de resina	0,01 mg/mg de resina	0,006	56,8
	27 mg/ cartucho 2,7% (p/p)	2 mg/ cartucho 0,2% (p/p)	11 mg/ cartucho 1,1% (p/p)		
CBN	0,04 mg/mg de resina	0,009 mg/mg de resina	0,02 mg/mg de resina	0,007	42,4
	39 mg/ cartucho 3,9% (p/p)	9mg/ cartucho 0,9% (p/p)	16 mg/ cartucho 1,6% (p/p)		
AVE	1,02 mg/mg de resina	0,29 mg/mg de resina	0,51 mg/mg de resina	0,258	50,19
	1021 mg/ cartucho 102,1% (p/p)	293mg/ cartucho 29,3% (p/p)	514 mg/ cartucho 51,4% (p/p)		

THC: Delta-9-tetrahidrocannabinol**CBD:** Cannabidiol**CBN:** Cannabinol**AVE:** Acetato de vitamina E**DS:** Desviación estándar**C.V%:** Porcentaje de coeficiente de variación

(Famele *et al.* 2015). Destacamos la importancia de la etapa de preparación de la muestra, donde consideramos que el hecho de aplicar temperatura a los tubos fue un factor influyente ya que, al lograr disminuir la viscosidad de las resinas, su manipulación fue más sencilla y se obtuvieron resultados reproducibles. Con respecto a las concentraciones detectadas, la mayoría de los cartuchos analizados declaraba en su envase concentraciones de THC entre el 80 y 90% (p/p), sin embargo, una vez analizados los cartuchos, la concentración promedio de THC fue de 60% (p/p). Si bien, las concentraciones detectadas no coinciden con las declaradas por el fabricante, los resultados obtenidos si se asemejan a un estudio realizado en Estados Unidos donde la concentración de THC en cartuchos ilícitos fue menor al 50% (p/p) (Duffy *et al.* 2020) y gran parte de las muestras se encontraba adulterada con acetato de vitamina E en una concentración de 58% (p/p). Algunas posibilidades que expliquen estas concentraciones menores a las esperadas, es que se trata de productos adquiridos en el mercado ilícito, por lo tanto, la resina de los cartuchos podría estar adulte-

rada con algún diluyente como glicerina o acetato de vitamina E para aumentar el volumen. También las menores concentraciones de delta-9-THC se podrían deber al reemplazo por delta-8-THC ya que se trata de un cannabinoide cuyo consumo aún no es penalizado en varios países (Leas *et al.* 2022).

CONCLUSIONES

Se determinó la concentración de delta-9-tetrahidrocannabinol, cannabidiol, cannabinol y acetato de vitamina E presente en los cartuchos de Cannabis que son incautados en Chile, para esto se implementó una metodología analítica que permitió detectar y cuantificar los analitos en estudio por una técnica de tipo confirmatoria como lo es GC/MSD. El uso de vapeadores es un fenómeno emergente que se ha vuelto popular tanto en Chile como en el resto del mundo, por lo tanto, sería de gran utilidad que en un futuro este método pudiera ser utilizado por otros laboratorios de toxicología forense.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Instituto de Salud Pública de Chile y a la Universidad de Valparaíso. Investigación realizada como parte del trabajo final de grado del Magister en Toxicología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

REFERENCIAS

American Cancer Society. 2020 What do we know about e-cigarettes? Disponible en: <https://www.cancer.org/healthy/stay-away-from-tobacco/e-cigarettes-vaping/what-do-we-know-about-e-cigarettes.html> (Acceso: 2 noviembre 2022).

Blount BC, Karwowski MP, Shields PG, Morel-Espinosa M, Valentin-Blasini L, Gardner M, Braselton M, Brosius CR, Caron KT, Chambers D,..., Pirkle JL. 2020. Vitamin E Acetate in Bronchoalveolar-Lavage Fluid Associated with EVALI. *New England Journal of Medicine*. 382(8): 697–705. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1916433>.

CDC- Center for Disease Control and Prevention. 2020. Outbreak of Lung Injury Associated with the Use of E-Cigarette, or Vaping, Products. Disponible en: https://archive.cdc.gov/#/details?url=https://www.cdc.gov/tobacco/basic_information/e-cigarettes/severe-lung-disease.html (Acceso: 28 octubre 2022).

Cerne K. 2020. Toxicological properties of Δ 9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Arhiv za Hi-*

gijenu Rada i Toksikologiju. 71(1): 1–11. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3301>.

Duffau BE y Alcamán K. 2019. Analysis of three main cannabinoids in seized marijuana by densitometric high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*. 32(4): 343–346. <https://doi.org/10.1556/1006.2019.32.4.11>.

Duffy B, Li L, Lu S, Durocher L, Dittmar M, Delaney-Baldwin E, Panawennage D, LeMaster D, Navarette K, Spink D. 2020. Analysis of cannabinoid-containing fluids in illicit vaping cartridges recovered from pulmonary injury patients: Identification of vitamin E acetate as a major diluent. *Toxics*. 8(1): 1–19. <https://doi.org/10.3390/toxics8010008>.

Dutra LM, Grana R, Glantz SA. 2017. Philip Morris research on precursors to the modern e-cigarette since 1990. *Tobacco Control*. 26(e2): e97. <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2016-053406>.

Etter JF. 2016. Characteristics of users and usage of different types of electronic cigarettes: Findings from an online survey. *Addiction*. 111(4): 724–733. <https://doi.org/10.1111/add.13240>.

Famele M, Ferranti C, Abenavoli C, Palleschi L, Mancinelli R, Draisci R. 2015. The chemical components of electronic cigarette cartridges and refill fluids: Review of analytical methods. *Nicotine Tob Res*. 17(3): 271-279. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntu197>.

Lal A, Mishra AK, Sahu KK. 2020. Vitamin E Acetate and E-Cigarette or Vaping Product-Associated Lung Injury (EVALI): An Update. *American Journal of Medicine*. 133(5): E204. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2019.11.005>.

Leas EC, Nobles AL, Shi Y, Hendrickson E. 2022. Public interest in Δ 8-Tetrahydrocannabinol (delta-8-THC) increased in US states that restricted Δ 9-Te-

trahydrocannabinol (delta-9-THC) use. *International Journal of Drug Policy*. 101: 103557. <https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2021.103557>.

Mikheev VB y Ivanov A. 2022. Analysis of the Aerosol Generated from Tetrahydrocannabinol, Vitamin E Acetate, and Their Mixtures. *Toxics*. 10(2): 88. <https://doi.org/10.3390/toxics10020088>.

Muthumalage T, Lucas JH, Wang Q, Lamb T, McGraw MD, Rahman R. 2020. Pulmonary toxicity and inflammatory response of e-cigarette vape cartridges containing medium-chain triglycerides oil and vitamin E acetate: Implications in the pathogenesis of EVALI. *Toxics*. 8(3): 46. <https://doi.org/10.3390/toxics8030046>.

NIDA - National Institute on Drug Abuse. 2020. DrugFacts: Cigarrillos electrónicos (e-cigs). Disponible en: <http://www.cigarrillos-electricos.com/2012/08/05/cigarrillos-electronicos-wal-mart/> (Acceso: 28 octubre 2022).

Rodriguez-Vicente C, Sanz P, Repetto M. 1995. Estado actual de la toxicología del cannabis. En: *Toxicología Avanzada*. Madrid, España. Diaz de Santos, S.A., pp. 477–517.

SOPNIA - Sociedad de Psiquiatría y Neurología de la Infancia y Adolescencia. 2015. *Marihuana: Consensos y Evidencias sobre su impacto en la Salud*. 1era ed. Santiago, Chile. Forja.

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. 2009. Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens.

WHO - World Health Organization. 2018. Expert Committee on Drug Dependence: Delta-9-tetrahydrocannabinol. *World Health Organization technical report series*, 915, p. 107.

REPORTE DE CASO

Ruptura de malformación arteriovenosa en intoxicación por monóxido de carbono

Arteriovenous malformation rupture in carbon monoxide poisoning

Pérez Tuñón, Jorge Guillermo^{1*}; Bazán Godínez, Sandra²; Martiñón Ríos, Rocío¹; González Chávez, Yaneli Ayerim¹; Ortega Martínez, Sindy Lucero¹.

¹Centro Toxicológico Hospital Ángeles Lomas. Vialidad de la Barranca No. 22, Col. Valle de las Palmas, C.P. 52763. Huixquilucan. Estado de México. ²Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Centro Médico Nacional La Raza.

*toxicología_angeles@yahoo.com.mx.

Recibido: 29 de noviembre de 2022

Aceptado: 25 de agosto de 2023.

Editor: Ricardo Antonio Fernández

Resumen. Las malformaciones arteriovenosas son conexiones aberrantes entre los sistemas arterial y venoso que con frecuencia se manifiestan a través de sangrados, los cuales pueden ser espontáneos o tener un factor detonante. Por su parte, el monóxido de carbono es un gas sin olor ni color que debe sus efectos a su afinidad por proteínas indispensables para el metabolismo humano (hemoglobina, mioglobina, citocromos), así como a la formación de óxido nítrico, de especies reactivas de oxígeno, inducción de apoptosis, peroxidación lipídica, por mecanismos proinflamatorios y al actuar como molécula de señalización, además de otros posibles mecanismos que aun se desconocen. Presentamos el caso de un paciente con una malformación arteriovenosa quien sufrió un infarto cerebral hemorrágico luego de intoxicarse con monóxido de carbono y posteriormente exponemos los posibles mecanismos por los cuales el monóxido de carbono pudo participar como un factor detonante.

Palabras Clave: Intoxicación; Monóxido de carbono; Malformación arteriovenosa; Infarto cerebral hemorrágico.

Abstract. Arteriovenous malformations are aberrant connections between the arterial and venous systems that often manifest themselves through bleeding, which can be spontaneous or have a trigger. On the other hand, carbon monoxide is an odorless, colorless gas that owes its effects to its affinity for proteins essential for human metabolism (hemoglobin, myoglobin, cytochromes), as well as the formation of nitric oxide, reactive oxygen species, induction of apoptosis, lipid peroxidation, pro-inflammatory mechanisms and by acting as a signaling molecule, in addition to other possible mechanisms that are still unknown. We present the case of a patient with an arteriovenous malformation who suffered a hemorrhagic cerebral infarction after being intoxicated with carbon monoxide and later we expose the possible mechanisms by which carbon monoxide could trigger the hemorrhage.

Keywords: Intoxication; Carbon monoxide poisoning; Arteriovenous malformation; Hemorrhagic stroke.

INTRODUCCIÓN

Las malformaciones arteriovenosas (MAV) consisten en anomalías vasculares caracterizadas por conexiones aberrantes entre los sistemas arterial y venoso (Friedlander *et al.* 2007). A nivel cerebral, las MAV con frecuencia se manifiestan por medio de hemorragias intracraneales, siendo en la población pediá-

trica la principal causa de hemorragia intracraneal no traumática (Lo 2011; Boulouis *et al.* 2019).

Por su parte, el monóxido de carbono (CO), es un gas sin olor ni color que se produce por la combustión incompleta de material orgánico. Cuando es inhalado se une a proteínas hem como la hemoglobina y la mioglobina con una afinidad hasta 200 veces mayor que la que se presenta por el oxígeno, formando car-

boxihemoglobina y carboximioglobina, lo que afecta de manera directa a la entrega de oxígeno a los tejidos y a la contractilidad muscular, respectivamente (Guzmán 2012). Además, debido a su afinidad por metaloproteínas que contienen hierro y cobre, interfiere con la función de transportadores de gran importancia como el citocromo C, una proteína esencial en la cadena respiratoria, cuya inhibición conlleva a un estado de hipoxia y favorece la síntesis de especies reactivas de oxígeno (Prockop y Chichkova 2007; Chiew y Buckley 2014). Otro efecto descrito para el CO es la vasodilatación, la cual se relaciona con un incremento en la concentración tisular de óxido nítrico, aunque también se ha atribuido a su participación directa como una molécula de señalización sobre el endotelio vascular a través de la activación de la guanilil ciclasa y por mecanismos independientes, de manera semejante al efecto provocado por el mismo óxido nítrico. Ello en conjunto, explica la cefalea de origen vascular que suele presentarse en los pacientes intoxicados por CO (Morse *et al.* 2002; Guzmán 2012). Adicionalmente, el incremento en la liberación de óxido nítrico y peroxinitrito de las plaquetas, genera el estrés oxidativo que se asocia con lesión a la corteza cerebral e hipocampo mediadas por la activación de la vía de las caspasas y peroxidación lipídica que conducen a apoptosis y que cobran especial importancia en la génesis del síndrome neurológico tardío. La conjunción de dichos mecanismos es lo que puede conducir al daño endotelial y en general a las alteraciones vasculares que caracterizan a esta intoxicación, aunque cabe puntualizar que otros mecanismos aún sin dilucidar pudieran estar involucrados (Silverman *et al.* 1993; Bianco y Floris 1996; Khashab y Nejat 2009).

El objetivo del presente trabajo es reportar el caso de un paciente con una MAV quien sufrió un infarto cerebral hemorrágico luego de intoxicarse con CO, señalando los mecanismos que pudieron participar en dicho desenlace.

REPORTE DE CASO

Masculino de 13 años de edad que acudió al servicio de urgencias pediatría aproximadamente 30 minutos después de que se registrara un incendio en su domicilio, refiriendo cefalea holocraneal de intensidad moderada. A su ingreso no se reportaron antecedentes patológicos de importancia, tampoco se reportó la pérdida del estado de alerta o manifestaciones clínicas de severidad por exposición a CO en él o en algún miembro de su familia. El paciente se encontró alerta, con TA 108/65 mmHg, FC 70 lpm, FR 24 rpm, saturación de oxígeno al 93% y una puntuación de 27 de 30 puntos en la prueba mini mental. En ese mo-

mento las pruebas de laboratorio revelaron una concentración de carboxihemoglobina (HbCO) del 13,9%, con una hemoglobina total en 17,3 g/dL. Debido a ello el paciente fue tratado con paracetamol y oxígeno suplementario al 40% en mascarilla con reservorio por un periodo de 3 horas, hasta que se refirió asintomático. Un segundo estudio gasométrico reveló una HbCO de 4,1%, por lo que se decidió su egreso. Aproximadamente 6 horas más tarde el paciente acudió nuevamente al servicio refiriendo presentar cefalea, la cual ahora describió como temporal derecha, opresiva y con una intensidad inicial de 6/10, pero que incrementó hasta 10/10 en las siguientes horas, además de acompañarse de vómito en 3 ocasiones, decidiéndose su ingreso. Luego de 14 horas de la exposición presentó pérdida súbita del estado de alerta, con signos vitales: TA 136/88 mmHg, FC 50 lpm y FR 12 rpm, por lo que se realizó abordaje avanzado de la vía aérea y se solicitó tomografía de cráneo, la cual reveló la presencia de una hemorragia parenquimatosa occipital derecha, con edema perilesional y efecto de masa (*Figura 1*). Debido a ello, el paciente se sometió a una craneotomía descompresiva con drenaje del hematoma y plastia dural, reportándose ausencia de pulso cerebral, con venas ingurgitadas y sangrado de vasos duros sobre una MAV por un aproximado de 500 mL, por lo que fue necesario transfundirle un concentrado eritrocitario y un plasma fresco. Posteriormente permaneció bajo sedación por 48 horas, después de lo cual se llevó a cabo su extubación sin complicaciones. Una resonancia magnética posterior reportó la presencia de encefalomalacia parietal derecha, un hematoma interhemisférico laminar y cambios postquirúrgicos, sin datos de compresión o desplazamiento de parénquima cerebral. El paciente fue egresado a 5 días del evento con presencia de debilidad en brazo izquierdo como única manifestación, razón por la cual se continuó con terapia de rehabilitación en su plan de egreso.

DISCUSIÓN

La intoxicación por CO representa una de las principales causas de daño neurológico y muerte por intoxicación alrededor del mundo, sin embargo, debido a que no se detecta por los sentidos, además de que los síntomas iniciales son inespecíficos y en la mayoría de las unidades hospitalarias no se cuenta con cooximetría, es que esta patología representa un reto diagnóstico y por lo tanto adolece de un subregistro (Harper y Croft-Baker 2004). Pese a ello, se calcula que entre el 30 y el 70% de los pacientes intoxicados por CO desarrollará alguna secuela neurológica (Iqbal *et al.* 2010). El daño encefálico en la intoxicación por CO suele estar relacionado con la hipoxia, sin embargo, también

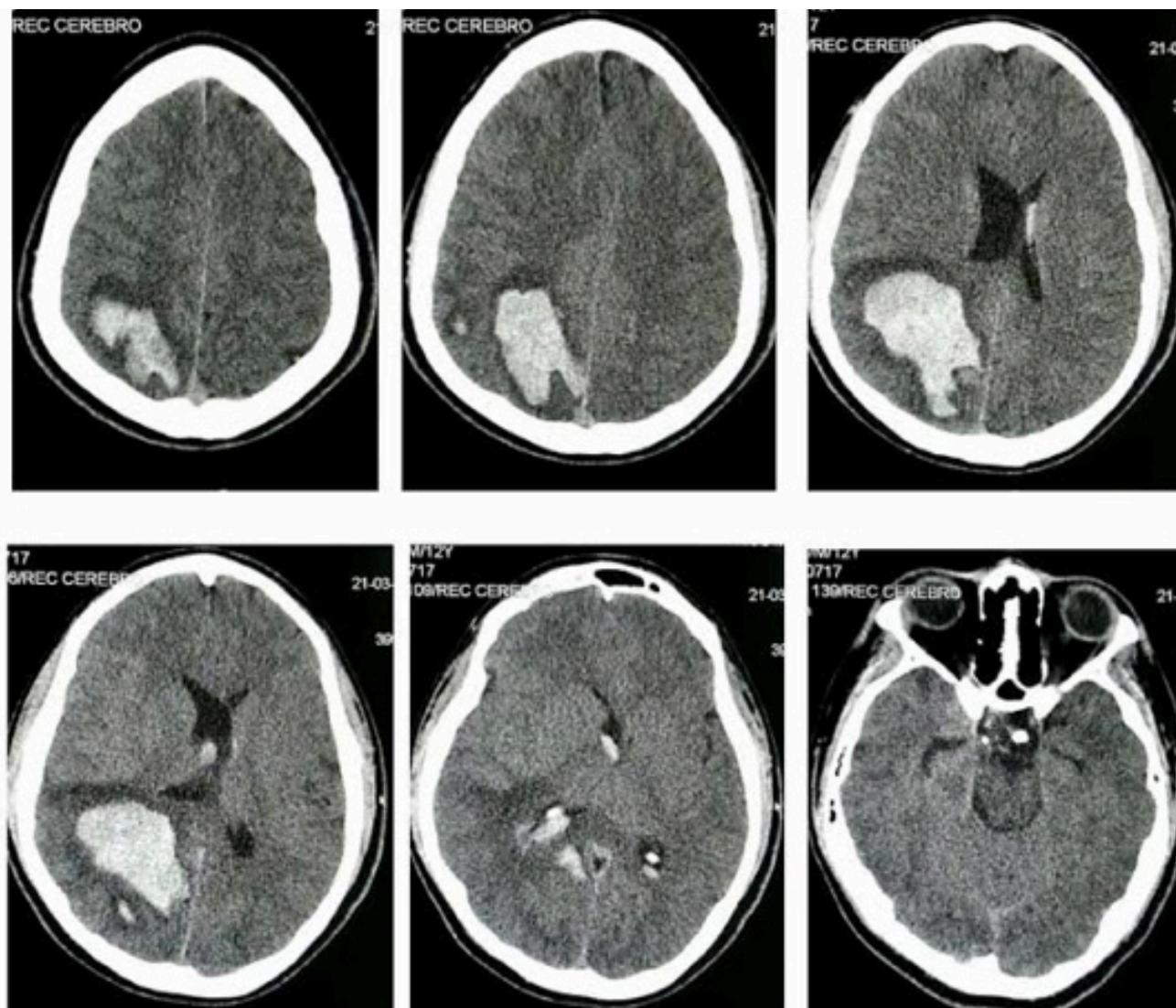


Figura 1. TAC simple de cráneo que muestra hematoma parenquimatoso occipital derecho, con efecto de masa, edema perilesional, desviación de la línea media, irrupción ventricular y crecimiento de cuernos temporales.

es importante considerar la lesión tisular por estrés oxidativo, que en conjunto afectan de manera primordial a los ganglios basales, el hipocampo, el cerebelo y la corteza cerebral. Otros factores que pueden contribuir a perpetuar la isquemia son: acidosis metabólica (por elevación de lactato), hipotensión arterial, depresión respiratoria y edema pulmonar (Hampson *et al.* 2012). En este sentido, cabe señalar que aunque se ha propuesto que la lesión inicial en los ganglios basales tenga un componente hemorrágico, los infartos hemorrágicos resultan poco comunes en la intoxicación por CO (Schils *et al.* 1999; Kashab y Nejat 2009).

Por otro lado, las MAV son lesiones congénitas en las que al menos una arteria drena directamente en una vena, lo cual ocasiona una lesión crónica endotelial derivada de la velocidad de flujo sobre el sistema ve-

noso. Por tal motivo, los pacientes con MAV pueden experimentar hemorragias de manera espontánea o a consecuencia de un factor detonante como esfuerzo físico o trauma, entre los más frecuentes. En el presente caso, el único factor identificado fue la intoxicación por CO, que pudo contribuir con la lesión endotelial debido a diversos mecanismos. En primer lugar se ha considerado la inhibición de la fosforilación oxidativa que condiciona daño mitocondrial y lesión celular por hipoxia, a lo que se sumaría la participación de las especies reactivas de oxígeno incrementando el daño al endotelio vascular. Adicionalmente, producto de la lesión por hipoxia se ha documentado migración de leucocitos polimorfonucleares que perpetúan la lesión sobre el tejido, y finalmente, la vasodilatación sostenida que provoca el CO a través del óxido nítri-

co y como molécula de señalización es otro factor que puede favorecer la hemorragia en un endotelio previamente lesionado (Morse *et al.* 2002; Kashab y Nejat 2009). Otra causa que se ha relacionado con lesiones hemorrágicas son los trastornos de la coagulación que ocurren en pacientes gravemente intoxicados, sin embargo, en el caso que presentamos la intoxicación se catalogó como leve y no se registró alteración en los tiempos de coagulación (Kashab y Nejat 2009).

CONCLUSIONES

Con lo observado en el presente caso concluimos que no obstante un infarto cerebral hemorrágico es una rara complicación en la intoxicación por CO, ésta puede registrarse, en especial si la lesión se produce sobre un endotelio previamente deteriorado como ocurre en una MAV.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses para la publicación del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Bianco F, Floris R. 1996. MRI appearances consistent with haemorrhagic infarction as an early manifestation of carbon monoxide poisoning. *Neuroradiol.* 38(1): S70-2. DOI: 10.1007/BF02278123.
- Boulouis G, Blauwblomme T, Francois HJ, Benichi S, Kirton A, Meyer P, Chevignard M, Tournier-Lasserre E, Mackay MT, Chabrier S, Cordonnier C, Kossorotoff M, Naggara O. 2019. Nontraumatic pediatric intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 50(12): 3654-3661. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.025783.
- Chiew AL, Buckley NA. 2014. Carbon monoxide poisoning in the 21st century. *Crit Care.* 18(2): 221-228. DOI: 10.1186/cc13846.
- Friedlander RM. 2007. Clinical practice. Arteriovenous malformations of the brain. *N Engl J Med.* 356(26): 2704-2712. DOI: 10.1056/NEJMcp067192.
- Guzmán JA. 2012. Carbon monoxide poisoning. *Crit Care Clin.* 28(4): 537-548. DOI: 10.1016/j.ccc.2012.07.007.
- Hampson NB, Piantadosi CA, Weaver LK. 2012. Practice Recommendations in the Diagnosis, Management, and Prevention of Carbon Monoxide Poisoning. *Am J Respir Crit Care Med.* 186(11): 1095-1101. DOI: 10.1164/rccm.201207-1284CI.
- Harper A, Croft-Baker J. 2004. Carbon monoxide poisoning: undetected by both patients and their doctors. *Age and Ageing.* 33(2): 105-109. DOI: 10.1093/ageing/afh038.
- Iqbal S, Clower JH, Boehmer TK, Yip FY, Garbe P. 2010. Carbon monoxide-related hospitalizations in the U.S.: evaluation of a web-based query system for public health surveillance. *Public Health Rep.* 125(3): 423-432. DOI: 10.1177/003335491012500311.
- Khashab ME, Nejat F. 2009. Hemorrhagic cerebral infarction in carbon monoxide poisoning: a case report. *Cases J.* 2(96): 1-3. DOI: 10.1186/1757-1626-2-96.
- Lo WD. 2011. Childhood hemorrhagic stroke: an important but understudied problem. *J Child Neurol.* 26(9): 1174-1185. DOI: 10.1177/0883073811408424.
- Morse D, Sethi J, Choi AM. 2002. Carbon monoxide dependent signaling. *Crit Care Med.* 30 (1 suppl): S12-7.
- Prockop LD, Chichkova RI. 2007. Carbon monoxide intoxication: an updated review. *J Neurol Sci.* 262 (1-2): 122-130. DOI: 10.1016/j.jns.2007.06.037.
- Schils F, Cabay JE, Flandroy P, Dondelinger RF. 1999. Unusual CT and MRI appearance of carbon monoxide poisoning. *JBR-BTR.* 82(1): 13-15.
- Silverman CS, Brenner J, Murtagh FR. 1993. Hemorrhagic necrosis and vascular injury in carbon monoxide poisoning: MR demonstration. *AJNR Am J Neuro-radiol.* 14(1): 168-170.

Lesiones por Raya de Río: Acerca de tres casos en el Río de la Plata, Argentina

Injuries caused by River Stingrays: About three cases in the Río de la Plata (“River Plate”) river, Argentina

Dozoretz, Daniel^{*1,2,3}; Quevedo, Graciela¹; Peralta, Leticia[†]; Pauca, Amelia[‡]; Di Biasi, Beatriz^{1,2}; de Roodt, Adolfo Rafael^{2,4}; Damín, Carlos Fabián^{1,2}

¹División de Toxicología, Hospital de Agudos “Dr. Juan A. Fernández”. Cerviño 3356, C1425 CABA. 11 4808-2600. ²Primera Cátedra de Toxicología, Facultad de Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. [†]*In Memoriam*.

[‡]Servicio de Toxicología del Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría “Sor María Ludovica”. ⁴Instituto Nacional de Producción de Biológicos, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos G. Malbrán”.

*dozoretz@gmail.com

Recibido: 1 de enero de 2023

Aceptado: 21 de agosto de 2023.

Editor: Aldo Sergio Saracco.

Resumen. Las rayas del género *Potamotrygon* son peces con forma dorsoventral aplanada. Son animales tranquilos, que solo atacan al ser agredidos o amenazados. Poseen en su cola estructuras punzantes, conocidas como espinas, envueltas por una vaina tegumentaria con tejidos secretores de componentes tóxicos. Suelen permanecer quietos en aguas superficiales, ocultos bajo arena o barro, lo que facilita su contacto accidental con humanos, con la probable generación de lesiones, al utilizar su cola hacia arriba y adelante en forma de látigo. Las lesiones son más frecuentes en hombres, en los meses estivales y en los miembros inferiores, seguidos por los miembros superiores. La lesión se asocia a dolor urente, casi inmediato y de gran intensidad, por el efecto traumático generado por las espinas, la persistencia de las mismas o sus fragmentos y por el efecto químico generado por sus toxinas. En ocasiones se asocia a la formación de necrosis y úlceras profundas o reacción granulomatosa por cuerpo extraño, con requerimientos de desbridamiento quirúrgico. Las lesiones fatales son infrecuentes y pueden resultar de una lesión torácica penetrante, laceraciones cervicales, compromiso de vía aérea, heridas vasculares o infecciones. Se deben realizar estudios de imágenes para evidenciar restos de la espina. La herida debe ser higienizada y se debe retirar la espina o sus fragmentos a la brevedad y sumergir el área lesionada en agua tan caliente como el paciente pueda tolerar, por 30 a 90 minutos, buscando disminuir el dolor y generar vasodilatación, junto con la analgesia y cobertura antibiótica y anti-tetánica. Se presentan tres casos de pacientes con lesiones por raya de río, dos de ellos por *Potamotrygon brachyura*, especie endémica del río de La Plata y el tercero por una raya no identificada. Se expone además una revisión bibliográfica a fin de remarcar la importancia de su diagnóstico temprano y su correcto abordaje.

Palabras clave: Raya; Raya de río; *Potamotrygon*; Envenenamiento; Tratamiento.

Abstract. The rays of the *Potamotrygon* genus are fish with a dorsoventrally flattened shape. They are calm animals that only attack when are provoked or threatened. They have sharp structures in their tail, known as spines, wrapped by a tegumentary sheath with tissues that secrete toxic components. They typically remain still in shallow waters, concealed under sand or mud, which increases accidental human contact. This contact can lead to injuries, as they whip their tail upwards and forwards. Injuries are more common in males during summer months, often affecting lower limbs followed by upper limbs. Injuries are characterized by immediate intense burning pain due to trauma from the spine or its fragments and chemical effects from its toxins. Occasionally, injuries lead to necrosis, deep ulcers, or foreign body granulomatous reactions requiring surgical debridement. Fatal injuries are rare but can result from thoracic penetration, cervical lacerations, airway compromise, vascular wounds, or infections. Imaging studies are necessary to detect spine remnants. Wounds should be cleaned, and spines or fragments removed promptly. The affected area should be immersed in water, as hot as tolerable for 30 to 90 minutes to reduce pain, induce vasodilation, and must supplemented with analgesia, antibiotic coverage,

and tetanus prophylaxis. Three cases of river stingray injuries are presented, two from *Potamotrygon brachyura*, an endemic species of the Rio de la Plata river, and one from an unidentified ray. Additionally, a literature review emphasizes the importance of early diagnosis and proper management.

Keywords: Ray; Freshwater rays; *Potamotrygon*; Envenomation; Treatment.

INTRODUCCIÓN

Las rayas son peces tranquilos, con forma dorsoventral aplanada. En Sudamérica pertenecen al género *Potamotrygon* (*P.*). La especie más común en la cuenca del plata es *P. motoro*, aunque en la parte norte del Río de La Plata pueden encontrarse otras especies como *P. brachyura* (Lasso *et al.* 2016). Su importancia sanitaria y médico toxicológica se plantea a partir de la presencia de espinas (“púas” o “chuzas”, que pueden ser solo una o múltiples) situadas en su “cola”, con presencia de sustancias tóxicas que al punzar pueden generar lesiones de importancia traumática, toxicológica y de forma secundaria infectológica.

Los pescadores, buzos, manipuladores de pescado, trabajadores de acuarios, bañistas y aquellos que practican deportes en aguas abiertas, son los afectados con mayor frecuencia (Cook *et al.* 2006; Rensch y Elston 2019). Los accidentes son más frecuentes en hombres y en los meses estivales, viéndose afectados en primer lugar los miembros inferiores, seguidos por los miembros superiores. Las lesiones en los miembros superiores se asocian a la pesca mientras que aquellos ocurridos en los inferiores se asocian a actividades deportivas. Las lesiones tienen severidad variable, siendo las laceraciones superficiales las más comunes (Hoyos Franco *et al.* 2009).

La lesión local secundaria al contacto con las espinas, consiste en la generación de una herida de profundidad variable, que puede verse agravada por la persistencia de sus fragmentos y restos de epitelios que la recubren, sumados a la lesión química generada por las toxinas liberadas. En forma casi inmediata se genera un dolor urente de gran intensidad, que aumenta en los primeros 90 minutos, con probable afectación sistémica y a largo plazo, complicaciones locales (Magalhães *et al.* 2008; Rensch y Elston 2019).

Respecto a la composición de su veneno, se plantean dificultades para su estudio adecuado, debido a 1) la ausencia de glándulas productoras como tal, lo que dificulta su extracción, 2) la escasa cantidad que se puede obtener y 3) su aparente inestabilidad (Magalhães *et al.* 2008). Se describe dentro del género *Potamotrygon* la presencia de aminoácidos, péptidos, carbohidratos complejos, glicopéptidos, glicolípidos y otras sustancias químicas, muchas de ellas descritas como termolábiles. En *P. orbignyi* se identificaron dos péptidos que en el entorno microcirculatorio, uno

induce una fuerte vasoconstricción y la otra inflamación, presentando además actividad edematogénica, nociceptiva y necrótica, descritas también en *P. scobina* (Magalhães *et al.* 2008) y actividad caseinolítica, gelatinolítica e hialuronidásica en el veneno de *P. falkneri* (Monteiro dos Santos *et al.* 2011). No hay datos sobre el veneno de *P. brachyura*, animal responsables de dos de los accidentes que comenta este artículo, ocurridos en la Costanera Norte de la Ciudad de Buenos Aires, no habiéndose identificado a la especie agresora en el tercer caso, ocurrido en la rivera del partido de Berisso, provincia de Buenos Aires. Por último se expone una actualización acerca del conocimiento de los componentes tóxicos descritos en estos peces cartilaginosos.

Casos clínicos

Caso clínico 1. Paciente masculino de 47 años sin antecedentes de relevancia, que consultó en el Hospital J.A. Fernández por una lesión por raya de río, en la palma de la mano izquierda, a nivel de la eminencia tenar (*Figura A*), accidente ocurrido en la Costanera Norte de la ciudad de Buenos Aires, a orillas del Río de la Plata, durante actividades de pesca. Al ingreso presentaba edema, eritema localizado, dolor urente de gran intensidad (referido 9/10) y parestesias en todo el miembro. Se colocó el miembro afectado en agua caliente durante 4 horas, se administró diclofenac y dexametasona, con evolución favorable, sin alteraciones en el electrocardiograma, en estudios radiológicos ni en los parámetros bioquímicos. Permaneció en observación por 6 horas, se inició la profilaxis antibiótica vía oral con clindamicina, la cual se mantuvo por 10 días y se administró vacuna y gamma globulina antitetánica. Se controló a las 72 horas con evolución favorable (*Figura B*) presentando dolor de baja intensidad, sin complicaciones locales y a los 7 días con mejoría franca, sin dolor y con buena movilidad, sin signos de flogosis (*Figura C*). En la *Figura D* se observa el animal ya capturado y su cola.

Caso clínico 2. Paciente masculino de 50 años con antecedentes de infarto agudo de miocardio, con requerimiento de angioplastia y colocación de stent, medicado con bisoprolol, ácido acetil salicílico y rosuvastatina. Consultó en el Hospital J.A. Fernández, por una lesión por raya de río, adjuntando fotos del animal, compatible con *Potamotrygon brachyura*,



Figura A. Fotos de la lesión del paciente número 1, tomadas a las 4 horas del accidente.



Figura C. Fotos de la lesión del paciente número 1, tomadas a los 7 días del accidente.



Figura B. Fotos de la lesión del paciente número 1, tomadas a las 72 horas del accidente.



Figura D. Fotos del animal posterior a su captura por el paciente número 1, compatible con *Potamotrygon brachyura* y su espina.

accidente ocurrido en la Costanera Norte de la ciudad de Buenos Aires, a orillas del Río de la Plata, durante actividades de pesca. Ingresó con una latencia de 1 hora, presentando en cara ventral de antebrazo izquierdo, a nivel de tercio medio, dos heridas separadas por aproximadamente 2 cm, con eritema, edema y dolor de gran intensidad (referida 8/10). Se colocó el miembro en agua caliente durante 4 horas, se administró diclofenac y dexametasona, con buena respuesta, sin alteraciones hemodinámicas, electrocardiográficas, bioquímicas ni radiológicas. Se inició profilaxis antibiótica con clindamicina, egresando con posterior seguimiento en otra institución (Figura E).

Caso clínico 3. Paciente femenina de 13 años con esquema de vacunación completo y sin antecedentes de relevancia, que ingresó al servicio de emergencias del Hospital "Sor María Ludovica" por presentar una lesión en cara medial de pie izquierdo, secundaria al contacto con una raya de agua dulce ocurrida a orillas del Río de la Plata, en el partido de Berisso, provincia de Buenos Aires. Ingresó con una latencia de 2 horas, con una herida de aproximadamente 15 mm de longitud, de bordes irregulares, asociado a edema y dolor de alta intensidad (referido 9/10) (Figura F). A su ingreso

se colocó el miembro afectado en agua caliente y se administró diclofenac, con disminución del dolor luego de 2 horas. Se realizaron ecografías y radiografías frente y perfil de la zona afectada, sin identificación de cuerpos extraños, por lo que se inició tratamiento con ciprofloxacina y se otorgó el alta hospitalaria.

Se realizaron controles clínicos al 3° día del accidente (Figura G), al 5° día (Figura H) y al 8° día (Figura I), momento en que se decidió su internación, por la presencia de signos locales de flogosis y la identificación en la ecografía control, de aumento de la ecogenicidad del tejido celular subcutáneo, con una zona heterogénea profunda de 15 x 10 mm, compatible con celulitis abscedada. Se realizó el desbridamiento quirúrgico con puntos de aproximación (Figura J) y tratamiento antibiótico endovenoso con piperazilina tazobactam y vancomicina, en la Figura K se observa la lesión luego de 5 días del desbridamiento. Se identificó en las muestras de tejido desbridado el desarrollo de *Aeromonas* spp. y *Escherichia coli*, sensibles a cefalotina. Completó 7 días de tratamiento antibiótico endovenoso y por sensibilidad se rotó nuevamente a ciprofloxacina vía oral, completando 14 días totales de tratamiento. Permaneció 9 días internada con evo-



Figura E. Fotos de las lesiones del paciente número 2, con latencia de 4 horas.



Figuras F a K. Serie de fotos de la lesión del paciente número 3: **Figura F** (Foto de la lesión a su ingreso). **Figura G** (Foto de la lesión al 3° día del accidente). **Figura H** (Foto de la lesión al 4° día del accidente). **Figura I** (Foto de la lesión al 8° día del accidente, momento de su internación). **Figura J** (Fotos de la lesión al 10° día del accidente y 2° desde el desbridamiento). **Figura K** (Foto de la lesión al 13° día del accidente y 5° del desbridamiento).

lución favorable (Figura L). Se realizaron controles el día 26° desde el accidente (Figura M), el día 38° (Figura N), momento de la extracción de los puntos, con seguimiento posterior por dermatología quienes indicaron curas húmedas con ácido bórico durante aproximadamente 40 días, con evolución favorable. En las

Figuras O, P y Q se observa el estado de la lesión en los días 53°, 72° y 121° desde el accidente respectivamente. En las Figuras R, S, T y U, se observa de forma comparativa de ambos pies, la evolución del edema correspondiente al ingreso y al 3° día, al 5° día y al 18° día, respectivamente.



Figuras L a Q. Serie de fotos de la lesión del paciente número 3: **Figura L** (Foto de la lesión al 17° día del accidente). **Figura M** (Foto de la lesión al 26° día del accidente). **Figura N** (Foto de la lesión al 38° día, luego de la extracción de puntos). **Figura O** (Foto de la lesión al 53° día del accidente), **Figura P** (Foto de la lesión al 72° día del accidente), **Figura Q** (Foto de la lesión al 121° día del accidente).

Figuras R a U. Serie de fotos de la lesión del paciente número 3: **Figura R** (Foto comparativa de ambos pies donde se observa el edema del pie izquierdo a su ingreso). **Figura S** (Foto donde se observa el edema al 3° día del accidente). **Figura T** (Foto donde se observa el edema al 5° día del accidente), **Figura U** (Foto donde se observa disminución franca del edema al 17° día del accidente).

DISCUSIÓN

Las rayas son peces anatómicamente aplanados, adaptados para la caza de crustáceos, mariscos y gusanos marinos. Se deslizan a través del agua por medio del movimiento de sus aletas pectorales. Poseen en la parte dorsal de su cola uno a más aguijones o espinas, llamadas vulgarmente “chuza”. Al mover la cola en forma de látigo, pueden generar la lesión con su aguijón (Cook *et al.* 2006, Hoyos Franco *et al.* 2009).

Las rayas pertenecientes a la familia *Potamotrygonidae* (“rayas redondas”) y al género *Potamotrygon*, son rayas de agua dulce presentes en Sudamérica. De las 26 especies de este género de rayas, 6 están pre-

sentes en nuestro país (Lasso *et al.* 2016).

Si bien se describen excepciones, con hallazgos de ejemplares *P. brachyura* de más de 200 kg y más de 1,5 metros de diámetro, en general los ejemplares de raya que suelen encontrarse en el Río de La Plata y el Paraná relacionadas con accidentes, como *P. motoro*, la especie más comúnmente hallada, no superan los 50 cm de diámetro, con una púa o espina de pocos centímetros de longitud.

Suelen permanecer quietas en aguas superficiales, en las costas, ocultas (tapadas por arena o barro), donde puede entrar en contacto de forma accidental con humanos desprevenidos que las pisan o presionan,

ocasiones en que pueden utilizar su cola en forma de látigo hacia arriba y adelante, pudiendo generar accidentes con heridas secundarias al ingreso de la espina en los tejidos de la víctima (Cook *et al.* 2006; Rensch y Elston 2019).

Las espinas en su cola o aleta caudal, pueden ser de 1 a 4 y son cónicas, duras y de unos pocos centímetros de longitud, con punta aguzada, filo y bordes aserrados bilaterales, orientados hacia atrás. Se encuentra formada por una estructura cartilaginosa conocida como vasodentina, de composición similar a la dentina, cubierta por una vaina tegumentaria. Poseen un surco ventrolateral a lo largo de cada borde. En el género *Potamotrygon* cada espina estaría cubierta con una película de veneno y moco, con las células secretoras de veneno distribuidas en la superficie epitelial en toda la chuza (Conceição *et al.* 2006; Cook *et al.* 2006). Esta vaina tegumentaria al romperse, en contacto con la víctima, permite que el veneno fluya por dos surcos ventrolaterales y dentro de la lesión generada, pudiendo también quedar restos de epitelio que suelen permanecer en la herida. Por otra parte, independientemente del componente del envenenamiento, puede causar lesiones punzantes y laceraciones severas (Rensch y Elston 2019).

En ecosistemas altamente competitivos, la producción de toxinas conforma una estrategia para garantizar la supervivencia de los individuos, tal como ocurre en ciertos animales acuáticos como las rayas (Magalhães *et al.* 2006, 2008). Esta condición hace que las rayas, pese a su conducta no agresiva, cobren gran relevancia desde el punto de vista de la salud pública (Junghans y Bodio, 2006). Si bien los venenos de la mayoría de las rayas permanecen sin estudiar completamente, los venenos de algunas rayas de agua dulce de América del Sur se han caracterizado parcialmente (dos Santos *et al.* 2017), si bien el conocimiento de sus componentes en general escaso. De los venenos de estas se han aislado dos péptidos que podrían relacionarse con las lesiones, uno llamado "orpotrin", de acción vasoconstrictora y otro llamado "porflan" que promueve el reclutamiento leucocitario (Conceição *et al.* 2006, 2009). Los mecanismos por los que el veneno de *Potamotrygon* spp. causa intensas reacciones locales, resultantes en daño tisular, aun no son claras, complicando las acciones terapéuticas adecuadas. En cuanto a su actividad biológica, estudios del veneno de las especies *P. cf. scobina* y *P. gr. D'orbigny* han demostrado que es capaz de inducir respuestas nociceptivas y edematogénicas dosis dependiente e incluso necrosis en ratones, así como un marcado aumento del reclutamiento de leucocitos, aunque en ningún caso mostraron actividad hemorrágica. El efecto local deletéreo puede iniciarse a nivel de la microcirculación, por liberación de mediadores vasoactivos, citoquinas y qui-

mioattractantes, favoreciendo la migración de leucocitos. Finalmente, la inoculación de veneno y mucus en conjunto ha resultado en una actividad necrotizante más potente, indicando que la presencia de proteínas en la secreción mucosa del epitelio puede potenciar los efectos tóxicos del veneno (Magalhães *et al.* 2006). Extractos obtenidos de *P. falkneri* también demostraron su capacidad de inducir inflamación tan pronto como 3 a 6 horas post inyección, estableciéndose a las 24 horas signos de necrosis coagulativa en tejidos blandos. Los ensayos con esta especie tampoco han puesto en evidencia la ocurrencia de trombosis vascular ni hemorragia por lo que la necrosis tisular sería consecuencia de la acción directa de toxinas (Antoniazzi *et al.* 2011). Resultados similares se han obtenido en experimentos realizados con extracto de *P. motoro*, pero en este caso se probó su capacidad de causar rabiomólisis sistémica en ratones (Varjão Lameiras 2013). Sumado a esto, el dolor inflamatorio inducido por el veneno de *P. motoro* también ocurre en parte por la activación de mastocitos, lo que redundaría en la dificultad para controlar el dolor que experimentan los pacientes picados por rayas de agua dulce además del trauma mecánico (Kimura *et al.* 2018).

Paralelamente, se demostró un rol esencial de la vía de la interleuquina IL-33 y su receptor ST2 (IL-33/ST2) en la acumulación de neutrófilos en respuesta al envenenamiento por *P. cf. henlei*, donde componentes como proteasas colagenolíticas generarían daño celular con liberación de IL-33 y citoquinas proinflamatorias como IL-1 β e IL-6; este reclutamiento celular en zona necróticas exacerbaría el daño tisular resultante (Cardoso dos Santos *et al.* 2017). Modelos experimentales *in vivo* utilizando tratamientos farmacológicos con inhibidores de las ciclooxigenasas COX-1 y COX-2 resultaron en una reducción del edema inducido por el veneno de *P. motoro*, demostrando por primera vez la participación de los mastocitos y la histamina en el edema inducido por el veneno de la raya. Teniendo en cuenta estos hallazgos, otras opciones terapéuticas tales como el uso de antihistamínicos deberían considerarse para el tratamiento de pacientes lesionados por rayas de agua dulce (Kimura *et al.* 2015).

Respecto al envenenamiento en sí, el cuadro puede presentar compromiso local y sistémico. El efecto local se expresa de forma casi inmediata, con dolor urente de gran intensidad, generalmente desproporcionado con el tipo de lesión, que aumenta en los primeros 90 minutos y que sin tratamiento puede llegar a persistir 48 horas (Rensch y Elston 2019). La lesión local se compone de 1) el efecto traumático, generado por la espina aserrada, 2) la persistencia de la misma o de sus fragmentos y 3) la lesión química, generada por las toxinas liberadas en la herida, esto puede asociarse posteriormente con la formación de necro-

sis central y úlceras profundas o reacciones granulomatosas por cuerpo extraño, de recuperación lenta y en ocasiones con requerimientos de desbridamiento quirúrgico (Magalhães *et al.* 2008; Rensch y Elston 2019). La infección secundaria es posible dada la importante flora bacteriana que se encuentra en las chuzas de estos animales (Domingos *et al.* 2011).

A nivel sistémico pueden presentarse desde náuseas, diaforesis, inquietud, debilidad, hipotensión arterial y taquicardia, hasta síncope. Con menor frecuencia pueden presentarse vómitos, dolor en la raíz del miembro afectado, temblores, calambres y distress respiratorio (Rensch y Elston 2019).

Aunque poco frecuentes, las lesiones fatales por “mantarrayas” (nombre común para algunas rayas, en general marinas, aunque también algunas de río de gran porte), pueden resultar de un traumatismo torácico penetrante, con taponamiento cardíaco inmediato o retardado, laceraciones cervicales, compromiso de la vía aérea, heridas vasculares penetrantes con shock hemorrágico o infecciones tardías de heridas con gangrena, botulismo de heridas y shock séptico (Cook *et al.* 2006; Díaz 2008; Rensch y Elston 2019).

Se deben realizar radiografías del área afectada a fin de poner en evidencia la presencia de restos de la espina, sin embargo, en ocasiones son difíciles de ser detectados. La resonancia magnética es otro método propuesto para localizar cuerpos extraños, aunque posee mayor costo y menor disponibilidad (Hoyos Franco *et al.* 2009). Se plantea el uso de ecografía como alternativa ante una radiografía normal y la sospecha de presencia de cuerpos extraños (Rensch y Elston 2019).

No existe una terapia definitiva para estos accidentes. La herida debe ser higienizada a la brevedad con agua limpia o solución estéril y se debe retirar la espina si se encuentra superficial, al igual que cualquier cuerpo extraño. Si la espina o sus fragmentos están ubicados profundamente, se debe realizar la extracción quirúrgica (Domingos Garrone y Haddad 2010; Laurent *et al.* 2018). Cualquier lesión vascular con sangrado significativo debe detenerse con presión local, estando contraindicado el uso de torniquetes (Díaz 2008).

Se recomienda la inmersión del área lesionada, a la brevedad, en agua tan caliente como el paciente pueda tolerar (aproximadamente entre 40 y 60 °C), por el término de 30 a 90 minutos, con el objetivo de amornar el dolor, generar vasodilatación y disminuir las lesiones necróticas, debido a la supuesta termolabilidad del veneno (Haadad 2021). Si bien para algunos autores no ha sido demostrado que efectivamente esta medida prevenga la necrosis tisular (Cook *et al.* 2006; Hoyos Franco *et al.* 2009; Rensch y Elston 2019), no se han realizado estudios bien diseñados comparativos al respecto. El bloqueo regional o la infiltración local con lidocaína podría ser efectiva si la

terapia con agua caliente no puede realizarse o resulta inefectiva (Cook *et al.* 2006).

Los pacientes deben quedar en observación por al menos 4 horas, para descartar compromiso sistémico (Hoyos Franco *et al.* 2009). El uso de corticosteroides sistémicos es controvertido, ya que se describe la probabilidad de prolongar el tiempo de curación de las úlceras (Domingos Garrone y Haddad 2010). El tratamiento analgésico vía oral o parenteral, a la brevedad, es imperativo. La inmunización antitetánica de no estar actualizada, debe actualizarse (Cook *et al.* 2006; Laurent *et al.* 2018). El tratamiento antibiótico profiláctico debe estar dirigido a los agentes infecciosos presentes en el agua de río como *Aeromonas*, hallados en el mucus de las rayas como *Pseudomona*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enerobacter* y otras, además de la flora del paciente como *Staphylococcus* y *Streptococcus*, para lo cual se recomienda el uso de quinolonas (ciprofloxacina o levofloxacina), doxiciclina, trimetoprima sulfametoxazol, cefuroxime o aminoglicosidos (Gutierrez y Benítez-Guerra 2004; Domingos *et al.* 2011; Rensch y Elston 2019).

Se describe un tiempo promedio de curación de 2 semanas, para heridas limpias y con buen tejido de granulación (Gutierrez y Benítez-Guerra 2004). Las heridas que poseen una mala cicatrización se pueden tratar mediante desbridamiento quirúrgico, así como la cobertura posterior con injertos, de acuerdo a su tamaño y ubicación (Hoyos Franco *et al.* 2009).

La principal recomendación para evitar el envenenamiento por rayas de agua dulce consiste en extremar los cuidados al introducir los miembros superiores o al caminar en las orillas de ríos y lagunas en las que se sepa de la presencia de estos peces, sugiriéndose generar movimiento con elementos, como palos o cañas y al ingresar al agua arrastrar los pies en lugar de pisar.

CONCLUSIÓN

Las rayas son animales tranquilos, que solo atacan al ser agredidos o amenazados. Es evidente la necesidad de continuar avanzando en el estudio y la comprensión de los diferentes mecanismos lesionales del veneno de rayas de agua dulce, a los fines de desarrollar terapias adecuadas para resolver el cuadro clínico complejo, que se desarrolla tras la lesión por contacto accidental con estos animales.

La principal recomendación para evitar el envenenamiento por rayas de agua dulce consiste en ser cuidadoso al introducir los miembros superiores o al caminar en las orillas de ríos y lagunas, generando acciones que faciliten la huida del animal a fin de evitar el contacto con el mismo.

El tratamiento de estas lesiones se basa en un abor-

daje con la higiene local, la extracción de la espina o fragmentos fácilmente accesibles, la inmersión rápida de la lesión en agua caliente (lo más elevada que el paciente tolere), la administración de analgesia, la antibioticoterapia profiláctica y la cobertura antitetánica. Siempre debe descartarse la presencia de cuerpos extraños, por medio de estudios de imágenes como radiografías, ecografías o resonancia magnética nuclear. Por último, es fundamental su seguimiento clínico a fin de evaluar complicaciones, principalmente infectológicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Antoniuzzi MM, Benvenuti LA, Lira MS, Jared SGS, Garrone Neto D, Jared C, Barbaro KC. 2011. Histopathological changes induced by extracts from the tissue covering the stingers of *Potamotrygon falkneri* freshwater stingrays. *Toxicon*. 57(2): 297-303.
- Conceição K, Santos JM, Bruni FM, Klitzke CF, Marques EE, Borges MH, Melo RL, Fernandez JH, Lopes-Ferreira M. 2009. Characterization of a new bioactive peptide from *Potamotrygon gr. Orbigny* freshwater stingray venom. *Peptides*. 30(12): 2191–2199.
- Conceição K, Konno K, Melo RL, Marques EE, Hiruma-Lima CA, Lima C, Richardson M, Pimenta DC, Lopes-Ferreira M. 2006. Orpotrin: a novel vasoconstrictor peptide from the venom of the Brazilian stingray *Potamotrygon gr. Orbigny*. *Peptides*. 27(12): 3039-3046.
- Cook MD, Matteucci MJ, Lall R, Ly BT. 2006. Stingray envenomation. *The Journal of Emergency Medicine*. 30(3): 345-347.
- Diaz H. 2008. The evaluation, management, and prevention of stingray injuries in travelers. *Journal of Travel Medicine*. 15(2): 102–109.
- Domingos Garrone N, Haddad V Jr. 2010. Arraias em rios da região Sudeste do Brasil: locais de ocorrência e impactos sobre a população. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(1): 82-88.
- Domingos MO, Franzolin MR, Tavares dos Anjos M, Franzolin TMP, Cabette Barbosa Albes R, Ribeiro de Andrade G, Lopes RJL, Barbaro KC. 2011. The influence of environmental bacteria in freshwater stingray wound-healing. *Toxicon*. 58: 147–153.
- Gutierrez J, Benítez-Guerra I, Benítez-Guerra G. 2004. Envenenamiento por rayas de agua dulce [Internet]. Caracas. *Revista de la Facultad de Medicina*. [Última revisión: 20 de junio de 2024]; 27(2): 131-134. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692004000200009&lng=es.
- Haddad V Jr. 2021. *Medical Emergencies Caused by Aquatic Animals. A Biological and Clinical Guide to Trauma and Envenomation Cases*. 2nd. Ed. Springer Nature Switzerland AG. doi.org/10.1007/978-3-030-72250-0.
- Hoyos Franco MA, Posso Zapata C, Cardenas YA. 2009. Necrosis Cutánea Severa por Picadura de Raya en el Miembro Inferior: Presentación de un Caso y Revisión de la Literatura. *Cirugía plástica ibero-latinoamericana*. 35(4): 327-332.
- Junghans T, Bodio M. 2006. Medically Important Venomous Animals: Biology, Prevention, First Aid, and Clinical Management. *Clinical Infectious Diseases*. 43(10): 1309–1317.
- Kimura LF, Santos-Neto M, Barbaro KC, Picolo G. 2018. *Potamotrygon motoro* stingray venom induces both neurogenic and inflammatory pain behavior in rodents. *Toxicon*. 150: 168-174.
- Kimura LF, Prezotto-Neto JP, Távora BCLF, Faquim-Mauro EL, Pereira NA, Antoniuzzi MM, Jared SGS, Teixeira CFP, Santoro ML, Barbaro KC. 2015. Mast cells and histamine play an important role in edema and leukocyte recruitment induced by *Potamotrygon motoro* stingray venom in mice. *Toxicon*. 103: 65-73.
- Lasso, CA, Rosa R, Morales-Betancourt MA, Garro-ne-Neto D y Carvalho MR (Editores). 2016. XV. Rayas de agua dulce (*Potamotrygonidae*) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. *Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 435 pp.
- Laurent S, Martinet O, Cuq H, Rind A, Durasnel P, Lenne C, Blondé R. 2018. Whiptail Stingray Injury. *Wilderness & Environmental Medicine*. 29(2): 243–247.
- Magalhães KW, Lima C, Piran-Soares AA, Marques EE, Hiruma-Lima CA, Lopes-Ferreira M. 2006. Biological and biochemical properties of the Brazilian *Potamotrygon* stingrays: *Potamotrygon cf. scobina* and *Potamotrygon gr. Orbigny*. *Toxicon*. 47(5): 575-583.

Magalhães MR, Da Silva Jr. NJ, Ulhoab CJ. 2008. A Hyaluronidase From *Potamotrygon Motoro* (Freshwater Stingrays) Venom: Isolation And Characterization. *Toxicon*. 51(6): 1060–1067.

Monteiro dos Santos, JC, Grund, LZ, Seibert, CS, Marques EE, Brito Soares A, Quesniaux VF, Ryffel B, Lopes-Ferreira M, Lima C. Stingray venom activates IL-33 producing cardiomyocytes, but not mast cell, to promote acute neutrophil-mediated injury. *Sci Rep*. 7 (7912).

Monteiro dos Santos J, Conceição K, Seibert CS, Marques EE, Silva Jr PI, Brito Soares A, Lima C, Lopes-Ferreira M. 2011. Studies on Pharmacological Properties of Mucus and Sting Venom of *Potamotrygon Cf. Henlei*. *International Immunopharmacology*. 11(9): 1368–1377.

Rensch PG, Elston DM. 2019. Aquatic Antagonists: Stingray Injury Update. *Cutis*. 103(3): 138-140.

Rodríguez Ospina N y Ramírez Ávila J. 2014. Composición enzimática del veneno de la raya (*Potamotrygom schroederi*). *Rev Sist Prod Agroecol*. 5(1): 109-126.

Varjão Lameiras JL. 2013. Perfis proteicos, enzimáticos e miotoxicidade induzidos pelos venenos das arraias amazônicas, *Plesiotrygon iwamae* Rosa, Castello & Thorson, 1987 E *Potamotrygon motoro* Müller & Henle, 1841 (Chondrichthyes – Potamotrygonidae) [tesis]. [Manaus]: Universidade Federal do Amazonas Instituto de Ciências Biológicas Programa de Pós-graduação em imunologia básica e aplicada.

ARTÍCULO ESPECIAL

La cantarida, un antecesor del sildenafil

The cantarida, an antecesor of sildenafil

Scarlato, Eduardo*; Zopatti, Damián; Werner, Antonio.

Museo del Hospital de Clínicas "José de San Martín".

*museo@hospitaldeclinicas.uba.ar

Recibido: 29 de mayo de 2023.

Aceptado: 31 de julio de 2023.

Editor: Adolfo Rafael de Roodt

Resumen. En todas las culturas y en todos los tiempos, brujos y alquimistas han buscado la fórmula que mejore, restablezca o potencie el vigor sexual. Mucho antes de la aparición del Sildenafil, existían preparados con una relativa eficacia, aunque en la mayoría de los casos, con un riesgo elevado que iba desde las lesiones severas hasta la muerte. Un preparado utilizado durante centurias en Europa que fuera introducido en la farmacopea americana fue el confeccionado a través de un insecto, la *Lytta vesicatoria* o cantárida. Se describen algunos de los usos históricos que se le dió a la cantaridina como afrodisíaco y los efectos que estos trajeron.

Palabras clave: Cantaridina; *Lytta vesicatoria*; Afrodisíaco; Intoxicación.

Abstract. In all cultures and at all times, witches and alchemists have sought the formula that improves, restores or enhances sexual vigor. Long before the appearance of Sildenafil, there were preparations with relative effectiveness, although in most cases, with a high risk ranging from severe injuries to death. A preparation used for centuries in Europe that was introduced into the American pharmacopeia was the one made from an insect, the *Lytta vesicatoria* or cantharide. Some of the historical uses of cantharidin as an aphrodisiac and the effects they brought are described.

Key words: Cantharidin; *Lytta vesicatoria*; Aphrodisiac; Intoxication.

LA CANTARIDA, UN ANTECESOR DEL SILDENAFIL

En todas las culturas y en todos los tiempos, brujos y alquimistas han buscado la fórmula que mejore, restablezca o potencie el vigor sexual.

Mucho antes de la aparición del Sildenafil, existían preparados con una relativa eficacia, aunque en la mayoría de los casos, con un riesgo elevado que iba desde las lesiones severas hasta la muerte.

Un preparado utilizado durante centurias en Europa que fuera introducido en la farmacopea americana fue el confeccionado a través de un insecto, la *Lytta vesicatoria* (Arthropoda: Coleoptera: Meloidae) o cantárida o "spanish fly" (*Figura 1*), si bien muchos miembros de este grupo poseen el mismo componente, la cantaridina, como por ejemplo de miembros de las familias Meloidae y Oedemeridae, como los géneros *Epicacuta*, *Nemognata* y otros (Carrel y Eisne 1974).

El macho de esta especie sintetiza entre sus patas la cantaridina, toxina que tras la cópula cede a la hembra y que ésta usará para embadurnar su puesta con el fin de protegerla de potenciales predadores y que también utilizan como medio defensivo.

La cantaridina fue aislada a partir de *Lytta vesicatoria* por el químico francés Pierre Jean Robiquet en 1812.

Diversas familias de coleópteros poseen cantaridina en sus fluidos corporales.

Primariamente, la cantaridina se utiliza como feromona para la orientación y la atracción (familias Pyrochroidae, Anthicidae); el uso de cantaridina como mecanismo defensivo es una condición evolucionada (familias Meloidae y Oedemeridae) y va frecuentemente acompañada con coloraciones de advertencia (aposemáticas).



Figura 1: Ejemplar de *Lytta vesicatoria* o cantárida (Coleóptera: Meloidae). Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Lytta_vesicatoria#/media/Archivo:Lytta-vesicatoria03.jpg

Se le atribuye a la cantaridina la inducción de autofagia, apoptosis por las vías intrínseca y extrínseca, efectos en el daño y reparación del ADN, arresto del ciclo celular e inhibición de metástasis.

Más allá de las lesiones por contacto que causa, como erupciones, enrojecimiento, irritaciones y lesiones ampollares que se producen por su contacto, una vez absorbida la cantaridina dilata los vasos sanguíneos, por lo que, a dosis bajas puede producir irritación del tubo digestivo y del tracto urinario y priapismo. Lamentablemente, la erección del pene en este caso es sumamente dolorosa y generalmente se acompaña de hemorragias generalizadas y fallo renal. Sin embargo, por sus varias propiedades ha sido y es utilizada como herramienta terapéutica (Figura 2). (Karras *et al.* 1996).

Se calcula que la DL_{50} de esta sustancia es de 0,5 mg/kg y 10 mg de la misma pueden ser suficientes para matar a un adulto. La ingestión de 6-8 escarabajos desecados puede causar envenenamientos en el hombre o en animales.



Figura 2: Museo del Hospital de Clínicas. Foto: Dr. Scarlato.

Tan potente es esta toxina, que muchas veces fue utilizada como arma asesina.

Tal el caso en Nápoles de una siniestra mujer llamada Toefanía di Adamo (Tofana), quien inventó el agua que llevaría su nombre (acqua di toffana, o acqueta o acqua di Nápoli, acque di San Nicola di Bari). Esta sustancia según el médico de Carlos VI de Austria estaba compuesta por una solución de anhídrido arsenioso y alcoholato de cantáridas, se embotellaba en frascos que mostraban la imagen de algún santo, generalmente san Nicolás de Bari, nombre asociado al de un manantial cuyas aguas parecían tener notables propiedades curativas.

Ante la sospecha de muerte por cantaridina, en esa época se tomaban muestras del cadáver para ser aplicadas sobre el lomo de un conejo. La aparición de lesiones vesicantes era indicio de este envenenamiento. Un caso de uso medicamentoso, aunque fatal, fue el aplicado a Simón Bolívar cuando se encontraba ya



Figura 3. Fuente: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6e/Muerte_de_Sim%C3%B3n_Bolívar.png.



Figura 4. https://es.wikipedia.org/wiki/Fernando_II_de_Arag%C3%B3n#/media/Archivo:Michel_Sittow_004.jpg.

desahuciado. Murió a las pocas horas de la administración, tal y como describe García Márquez en su novela “*El general en su laberinto*” (Figura 3).

Si embargo, el conocimiento de sus propiedades peligrosas, no disuadieron a aquellos que prefirieron arriesgarlo todo para recuperar el vigor perdido.

Este fue el caso de Fernando II de Aragón (Figura 4), quien tras enviudar de Isabel de Castilla y tras un breve luto, contrajo matrimonio con Germana de Foix, joven francesa 36 años más joven que él. La búsqueda de un heredero varón era prioritaria (recordemos que había encerrado a su hija Juana la loca), por lo que el rey, para estar a la altura de las circunstancias comenzó a tomar polvos de cantárida de manos de su joven esposa.

El cronista del reino de Aragón, Jerónimo Zurita, registró que “estaba en este tiempo el rey en Medina del Campo: y siendo vuelto de Carrioncillo, adonde se había ido a holgar con la reina (...) adoleció de una grave enfermedad (...) ocasión de un feo potaje, que la reina le hizo dar para más habilitarle, que pudiese haber hijos (...) esta enfermedad se fue más agravando cada día, confirmándose en hidropesía con muchos desmayos, y mal de corazón”.

Otro cronista de la época, Sandoval, refirió sobre el caso “porque la reina su mujer, con codicia de tener hijos, le dio no sé qué potaje ordenado por unas muje-

res de las cuales dicen fue una, doña María de Velasco. Dominóle tan fuerte la virtud natural que nunca tuvo día de salud, y al fin le acabó este mal” (Pascual 2017; Castillo de Piñeyro 2020).

BIBLIOGRAFÍA

Carrel JE, Eisner T. 1974. Cantharidin: Potent Feeding Deterrent to Insects. *Science* 183: 755-757. DOI: 10.1126/science.183.4126.755.

Castillo de Piñeyro E. 2020. Historia del envenenamiento. Imprenta de Carlos Frontaura. 1867. Universidad Complutense. España. HardPress Publishing. ISBN 0371319579.

Karras DJ, Farrell SE, Harrigan RA, Henretig FM, Gealt L. Poisoning from «Spanish fly» (cantharidin). 1996. *Am J Emerg Med*. 14(5): 478-483. DOI: 10.1016/S0735-6757(96)90158-8.

Pascual J. 2017. El insecto para “echar polvos” que mató a un rey. <https://naukas.com/2017/08/18/el-insecto-para-echar-polvos-que-mato-a-un-rey/>.

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 de la sección de *Acta Toxicológica Argentina* en la página web de la Asociación Toxicológica Argentina (<https://toxicologia.org.ar/formulario-acta/>).

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 ac-

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

Derechos de publicación

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

Aspectos generales en la preparación del manuscrito para artículo original

Los manuscritos deberán redactarse con procesador de texto (Microsoft Word versión 2003 o superior), a doble espacio (incluso los resúmenes, referencias y tablas) con un tamaño mínimo de letra Arial en 12 puntos. Las páginas deberán numerarse desde la portada. Las letras en negrita o itálica se usarán sólo cuando corresponda. En la primera página se indicará: título del trabajo, apellido, nombre de autor 1; apellido, nombre de autor 2; apellido, nombre de autor 3; etc.; 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 legi-

bles. 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). En los manuscritos en español los números decimales deben indicarse con coma, y los miles con punto. En los manuscritos en inglés, los decimales deben indicarse con punto y los miles, con coma.

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 *italica*.

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.

Conflictos de intereses. Los autores deberán expresar si alguno de ellos o el grupo poseen algún conflicto de interés respecto al material publicado. De no haberlo, también debe declararse. como por ejemplo: Los autores declaran que no poseen conflictos de intereses o relaciones personales que hayan podido influenciar lo enunciado en este trabajo

Bibliografía

Parte 1: citas en texto

El nombre del autor y el año de publicación aparecen entre paréntesis al final de la oración:

Este reclamo fue refutado más tarde (Jones 2008).

Si el nombre del autor se menciona claramente en el texto, puede seguirse directamente por el año de publicación, entre paréntesis:

Jones (2008) luego refutó esta afirmación.

Si tanto el nombre del autor como el año se mencionan claramente en el texto, no es necesario incluir una referencia entre paréntesis:

En 2008, Jones refutó esta afirmación.

Si está citando una parte específica de un documento (por ejemplo, una cita directa o una figura, gráfico o tabla), incluya el número de página en la que se encuentra esa información:

"Estos resultados contradicen claramente los publicados en 2004 por el laboratorio Smith". (Jones 2008, p. 56).

Más de un autor

Si un documento tiene dos autores, incluya ambos apellidos separados por "y". Para trabajos con tres o más autores, incluya solo el nombre del primer autor, seguido de "*et al.*":

... (Andrews y Gray 1995).

... (Gómez et al. 2003).

Múltiples obras de diferentes autores.

Si cita varias fuentes a la vez, enumérelas en orden cronológico, o alfabéticamente si se publicaron dos o más obras en el mismo año, y separe cada una con un punto y coma:

... (Samson 1963; Carter y Bowles 1975; Grimes 1975; Anderson et al. 1992).

Múltiples obras del mismo autor publicadas en el mismo año.

Si está citando dos o más obras escritas por el mismo autor en el mismo año, agregue un identificador (a, b, c...) para distinguirlas. Use los mismos identificadores en la lista de referencia:

... (Dubois 1976a; Dubois 1976b).

Dubois J. 1976a. Detección de tendencias en...

Dubois J. 1976b. Patrones de distribución de...

Citando una fuente secundaria o indirecta

Si desea citar una fuente que se cita en otro documento, siempre es mejor consultar y luego citar la fuente origi-

nal. Sin embargo, si no puede localizar y verificar el documento fuente original, debe citar la fuente secundaria y al mismo tiempo reconocer al autor de la idea original tanto en la cita en el texto como en la referencia final:

... (Rawls 1971, citado en Brown 2008)

Rawls J. 1971. A Theory of Justice. Cambridge (MA): Belknap Press. Cited in: Brown PG. 2008. The Commonwealth of Life: Economics for a Flourishing Earth. 2nd ed. Montreal (QC): Black Rose Books.

Organizaciones como autores

Si el autor de un documento es una organización, corporación, departamento de gobierno, universidad, etc., use una forma abreviada de la organización en la cita en el texto, reteniendo la primera letra de cada palabra en el nombre, o alguna otra reconocida abreviatura:

... (FAO 2006).

Parte 2: lista de referencias

La lista de referencias se encuentra al final de su trabajo e incluye información bibliográfica completa de todas las fuentes citadas en el texto. Las referencias se enumeran en orden alfabético por apellido del primer autor.

Componentes de referencias en la lista de referencias.

Los siguientes componentes, si están disponibles, se incluyen al citar una fuente, en la siguiente secuencia:

Libros y otras monografías.

Autor (es) o Editor (es)

Año de publicación

Título

Contenido o designador medio

Edición

Autor (es) secundario (s)

Lugar de publicación

Editor

Paginación

Serie

Artículos de revistas y periódicos.

Autor (es)

Año de publicación

Título del artículo

Contenido o designador medio

Título de revista o periódico

Volumen

Número

Paginación

Autor (es) o Editor (es)

Enumere los apellidos e iniciales de los autores en el or-

den en que aparecen en el documento original, y separe cada uno con una coma.

Mary-Beth Macdonald y Laurence G. Kaufman se convierten en Macdonald MB, Kaufman LG.

Si el documento tiene editores en lugar de autores, coloque los apellidos y las iniciales seguidos de una coma y "editor (es)":

Macdonald MB, Kaufman LG, editores.

Más de diez autores.

Incluya siempre los nombres de los primeros diez autores. Si hay más de diez, incluya solo los primeros diez nombres de autores. Agregar tras ""autores", tres puntos (...) seguidos por una coma (,) y el nombre del último autor. Ejemplo Autor 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, ..., Autor 11.

Autor (es) secundario (s)

Los autores secundarios incluyen traductores, ilustradores, editores o productores, y pueden incluirse en la referencia, además de los autores principales, después del título del libro:

Márquez GG. 1988. Amor en tiempos del cólera. Grossman E, traductor. Nueva York...

Organizaciones como autores

El nombre completo de la organización debe identificarse en la lista de referencias, pero precedido por la abreviatura utilizada en el texto, entre corchetes. Ordene la referencia alfabéticamente por el nombre completo, no por el acrónimo:

[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2006. Género y derecho: los derechos de las mujeres en la agricultura...

Título

Incluya tanto el título como los subtítulos, conservando la puntuación utilizada en el documento original. Para libros y títulos de artículos de revistas, escriba en mayúscula solo la primera palabra, así como los nombres propios, siglas e iniciales. Todas las palabras importantes en los títulos de las revistas pueden escribirse en mayúscula:

Libro: Cultivo de células vegetales: métodos esenciales
Revista: Canadian Journal of Animal Science

Designador de contenido

Los designadores de contenido describen el formato de un documento y pueden usarse para proporcionar

información adicional con respecto a la naturaleza de un documento (por ejemplo, disertaciones, tesis, bibliografías y ciertos tipos de artículos de revistas, como editoriales, cartas al editor, noticias, etc.) Los designadores de contenido aparecen entre corchetes directamente después del título:

Bernier MH. 2009. Assessing on-farm water use efficiency in southern Ontario [thesis]. Montreal...

Designador medio

Los designadores medios indican que el documento está en un formato no impreso, como "microfichas", "CD-ROM" o "Internet". Se requieren designadores medios y aparecen entre corchetes directamente después del título:

Gooderham CB. 1917. Enfermedades de las abejas [microfichas]. Ottawa...

Lugar de publicación y editorial

El lugar de publicación se refiere a la ciudad donde se encuentra el editor. Esta información generalmente se encuentra en la portada del libro en cuestión, o en el registro del catálogo McGill. Si no se puede encontrar un lugar de publicación, use las palabras [lugar desconocido] entre corchetes. Si aparece más de una ciudad, use solo la primera que aparezca. Ciertas ciudades pueden estar solas (por ejemplo, Nueva York), pero para evitar confusiones, se puede escribir el nombre del país o incluir el código de país ISO de 2 letras (por ejemplo, Reino Unido: GB). Para ciudades canadienses o estadounidenses, se puede incluir el código de provincia o estado de dos letras.

Paginación

Si usa solo una parte de un trabajo publicado (es decir, un artículo de revista o un capítulo de libro), indique la paginación de la sección a la que se refiere. La paginación es opcional si se refiere a todo el trabajo.

Serie

Si el documento es parte de una serie, debe agregar el título de la serie y el número de volumen al final de la entrada.

Parte 3: ejemplos (impresos) Artículo de revista

Autor (es). Año. Título del artículo. Nombre de la revista Volumen (Edición): páginas.

Holmberg S, Osterholm M, Sanger K, Cohen M. 1987. Drug-resistant Salmonella from animals fed antimicrobials. New England Journal of Medicine. 311(2): 617-622.

Libro

Autor (es). Año. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial.

Carson R. 1962. Silent spring. Boston (MA): Houghton Mifflin.

Capítulo en un libro

Autor (es). Año. Título del capítulo. En: Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial. pags. Páginas del capítulo.

Carson R. 1962. Earth's green mantle. En: Silent spring. Boston (MA): Houghton Mifflin. p. 63-83.

Libro editado

Nombre (s) del editor, editores. Año. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial.

Springate-Baginski O, Blaikie P, editors. 2007. Forests, people and power: the political ecology of reform in South Asia. London (GB): Earthscan.

Capítulo o artículo en un libro editado

Autor (es). de la parte. Año. Título del capítulo. En: Nombre (s) del editor, editores. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial. pags. Páginas del capítulo.

Banerjee A. 2007. Joint forest management in West Bengal. In: Springate-Baginski O, Blaikie P, editors. Forests, people and power: the political ecology of reform in South Asia. London (GB): Earthscan. p. 221-260.

Artículo en un diccionario o enciclopedia.

Cite como lo haría un artículo en un libro editado; Si no se especifica el autor de la parte, el editor asume el lugar del autor.

Libro en serie

Autor (es). Año. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial. (Título de la serie; vol. #)

Tegos G, Mylonakis E, editors. 2012. Antimicrobial drug discovery: emerging strategies. Wallingford, Oxfordshire (GB): CABI. (Advances in molecular and cellular microbiology; vol.22).

Tesis o disertación

Autor (es). Año. Título [designador de contenido]. [Lugar de publicación]: Editorial (a menudo una universidad).

Bernier MH. 2009. Assessing on-farm water use efficiency

in southern Ontario [tesis]. [Montreal (QC)]: McGill University.

Documentos de conferencia o actas

Autor (es). Año. Título del trabajo. En: Nombre (s) del editor, editores. Título del volumen. Número y nombre de la conferencia; fecha de la conferencia; Lugar de la conferencia. Lugar de publicación: Editorial. pags. Páginas.

Clarke A, Crame JA. 2003. Importance of historical processes in global patterns of diversity. En: Blackburn TM, Gaston KJ, editors. Macroecology: concepts and consequences. Proceedings of the 43rd annual symposium of the British Ecological Society; 2002 Apr 17-19; Birmingham. Malden (MA): Blackwell. p. 130-152.

Parte 4: ejemplos (electrónicos)

La proliferación de información electrónica ha introducido nuevos desafíos, ya que los documentos pueden existir en varios formatos diferentes. Las fuentes electrónicas se citan de la misma manera que sus contrapartes impresas, con algunos elementos específicos de Internet agregados: un designador medio (consulte la descripción anterior), la fecha en que el documento se modificó o actualizó por última vez (si está disponible), la fecha citada y el URL del documento o DOI (identificador de objeto digital).

Las opiniones difieren sobre la mejor manera de citar artículos de revistas electrónicas. Generalmente, un artículo electrónico basado en una fuente impresa, en formato PDF, se considera inalterable y se cita como un artículo impreso.

Al ver artículos de revistas en línea, los enlaces que aparecen en el cuadro de dirección de su navegador pueden ser temporales y dejarán de funcionar después de unos días. Muchas bases de datos y editores proporcionarán un enlace permanente o persistente, o buscarán el DOI (identificador de objeto digital) del artículo, que a menudo aparece junto con el resto de la información de citas.

Artículo electrónico en formato PDF.

Los artículos en formato pdf, basados en una fuente impresa, pueden citarse como un artículo de revista impresa (ejemplo en la Parte 3).

Artículo electrónico en formato HTML o

de texto.

Autor (es) Año. Título del artículo. Nombre de la revista [designador medio]. [fecha actualizada; fecha de cita]; Volumen (Edición): páginas (si están disponibles). Disponible en: URL o DOI

Woolf D, Amonette JE, Street-Perrott FA, Lehmann J, Joseph S. 2010. Sustainable biochar to mitigate global climate change. Nature Communications [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2010]; 1(Art. 56). Disponible en: <http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html>

Libro electrónico

Autor (es) o Editor (es). Año. Título del libro [designador medio]. Edición. Lugar de publicación: editorial; [fecha actualizada; fecha de cita]. Disponible en: URL

Watson RR, Preedy VR, editors. 2010. Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables [Internet]. Amsterdam: Academic Press; [citado el 22 de abril de 2010]. Disponible en: www.sciencedirect.com/science/book/9780123746283

Artículo en un diccionario electrónico o enciclopedia.

Cita como lo harías con un artículo en un libro electrónico

Allaby M, editor. 2006. photosynthesis. In: Dictionary of Plant Sciences [Internet]. Rev. ed. Oxford: Oxford University Press; [citado el 31 de agosto de 2010]. Disponible en: www.oxfordreference.com/views/ENTRY.html?subview=Main&entry=t7.e5147

Sitio web

Título del sitio web [designador medio]. Fecha de publicación. Lugar de publicación: Editorial; [fecha actualizada; fecha de cita]. Disponible en: URL

Electronic Factbook [Internet]. 2007. Montreal (QC): McGill University; [actualizado al 30 de marzo de 2007; citado el 11 de enero de 2013]. Disponible en: <http://www.is.mcgill.ca/upo/factbook/index-upo.htm>

Documento en línea

Autor (es) Fecha de publicación. Título [designador medio]. Edición. Lugar de publicación: Editorial; [fecha actualizada; fecha de cita]. Disponible en: URL

Kruse JS. 2007. Framework for sustainable soil management: literature review and synthesis [Internet]. Ankeny (IA): Soil and Water Conservation Society; [citado el 3 de agosto de 2008]. Disponible en: <http://www.swcs.org/documents/filelibrary/BeyondTliteraturereview.pdf>

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 eco-toxicological 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 posses 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 *Acta Toxicológica Argentina* section in the website of the Argentine Toxicological Association (<https://toxicologia.org.ar/formulario-acta/>).

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 Toxicológica 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, surname, name author 1; surname, name author 2; surname, name author 3; etc. and affiliations of all authors, workplace (name of institution and postal address; if it differs between authors, numerical superscripts, not in parentheses, next to each author should be used to identify it); fax and/or e-mail address of the corresponding author (signaled by a subscript asterisk next to the name).

Second page must include an English title and the abstract, both in the language of submission and in English, each followed by 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 em-

ployed should be properly explained and justified to allow verification by other researchers. If statistical software was used to process data, it should be mentioned.

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

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

Figures should be numbered consecutively with Arabic numerals and presented in separate pages. Drawings must be of good enough quality to ensure adequate reproduction. Bar, pie or statistical charts must be prepared in GIF format. Numbers, letters and signs within figures must be of the appropriate size to be legible when the final sizing takes place. All signs used must have a reference in the figure caption.

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

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

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

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

All hematological and biochemical parameters should follow the metric system, according to the Internation-

al 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.

Conflicts of Interest. Authors must declare if some conflict of interest regarding the manuscript. If not, this must be declared. In example:

Declaration of competing interest The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this.

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

References.

Part 1: in-text citations

The author's name and the year of publication are listed in parentheses at the end of the sentence:

This claim was later refuted (Jones 2008).

If the author's name is clearly mentioned in the text, it can be directly followed by the year of publication, in parentheses:

Jones (2008) later refuted this claim.

If both the author name and year are clearly mentioned in the text, there is no need to include a parenthetical reference:

In 2008, Jones refuted this claim.

If you are citing a specific part of a document (e.g. a direct quotation, or a figure, chart or table), include the page number on which that information is found:

"These results clearly contradict those published in 2004 by the Smith lab." (Jones 2008, p. 56).

More than one author

If a document has two authors, include both surnames separated by "and". For works with three or more authors, include only the first author name, followed by "et al.":

... (Andrews and Gray 1995).

... (Gomez et al. 2003).

Multiple works by different authors

If you are citing several sources at once, list them in chronological order, or alphabetically if two or more works were published in the same year, and separate each one with a semicolon:

... (Samson 1963; Carter and Bowles 1975; Grimes 1975; Anderson et al. 1992).

Multiple works by the same author published in the same year

If you are citing two or more works written by the same author in the same year, add a designator (a, b, c...) to distinguish them. Use the same designators in the reference list:

... (Dubois 1976a; Dubois 1976b).
Dubois J. 1976a. Detection of trends in...
Dubois J. 1976b. Distribution patterns of...

Citing a secondary or indirect source

If you would like to cite a source that is cited in another document, it is always best to consult and then cite the original source. However, if you are unable to locate and verify the original source document, you must cite the secondary source while at the same time acknowledging the author of the original idea in both the in-text citation and end reference:

... (Rawls 1971, cited in Brown 2008)
Rawls J. 1971. A Theory of Justice. Cambridge (MA): Belknap Press. Cited in: Brown PG. 2008. The Commonwealth of Life: Economics for a Flourishing Earth. 2nd ed. Montreal (QC): Black Rose Books.

Organizations as authors

If the author of a document is an organization, corporation, government department, university, etc., use an abbreviated form of the organization in the in-text citation, by retaining the first letter of each word in the name, or some other recognized abbreviation:

... (FAO 2006).

Part 2: reference list

The reference list comes at the end of your paper and includes full bibliographic information for all of the sources cited in the text. The references are listed in alphabetical order by first author last name.

Components of references in the reference list

The following components, if available, are included

when citing a source, in the following sequence:

Books and other monographs

Author(s) or Editor(s)

Year of publication

Title

Content or medium designator

Edition

Secondary author(s)

Place of Publication

Publisher

Pagination

Series

Journal and newspaper articles

Author(s)

Year of publication

Article title

Content or medium designator

Journal or newspaper title

Volume

Issue

Pagination

Author(s) or Editor(s)

List the last names and initials of the authors in the order in which they appear in the original document, and separate each one with a comma.

*Mary-Beth Macdonald and Laurence G. Kaufman
become Macdonald MB, Kaufman LG.*

If the document has editors rather than authors, follow the names with a comma and "editor(s)":

Macdonald MB, Kaufman LG, editors.

More than ten authors

Always include the names of the first ten authors. If there are more than ten, include the first ten author names only, followed by three points (...), comma (,) and the name of the last Author. In example. Author 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, ..., 11.

Secondary author(s)

Secondary authors include translators, illustrators, editors or producers, and may be included in the reference, in addition to the principal author(s), after the book title:

Marquez GG. 1988. Love in the time of cholera. Grossman E, translator. New York..

Organizations as authors

The full name of the organization must be identified in the reference list, but preceded by the abbreviation used in the text, in square brackets. Order the reference

alphabetically by the full name, not the acronym:

[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006. Gender and law: Women's rights in agriculture...

Title

Include both the title and subtitle, retaining the punctuation used in the original document. For books and journal article titles, capitalize only the first word, as well as proper nouns, acronyms and initials. All significant words in journal titles may be capitalized:

Book: Plant cell culture: essential methods

Journal: Canadian Journal of Animal Science

Content designator

Content designators describe the format of a document, and may be used to provide additional information with regards to the nature of a document (e.g. dissertations, theses, bibliographies, and certain types of journal articles such as editorials, letters to the editor, news, etc.). Content designators appear in square brackets directly after the title:

Bernier MH. 2009. Assessing on-farm water use efficiency in southern Ontario [thesis]. Montreal...

Medium designator

Medium designators indicate that the document is in a non-print format, such as "microfiche", "CD-ROM", or "Internet". Medium designators are required and appear in square brackets directly after the title:

Gooderham CB. 1917. Bee diseases [microfiche]. Ottawa...

Place of publication and Publisher

The place of publication refers to the city where the publisher is located. This information is usually found on the title page of the book in question, or in the McGill catalogue record. If no place of publication can be found use the words [place unknown] in square brackets. If more than one city is listed, use only the first one that appears. Certain cities may stand alone (e.g. New York), but in order to avoid confusion, the country name may be written out or 2 letter ISO country code included (e.g. United Kingdom: GB). For Canadian or U.S. cities, the two letter province or state code may be included.

Pagination

If using only part of a published work (ie. a journal article, or a book chapter), indicate the pagination of the section you are referring to. Pagination is optional if you are referring to the entire work.

Series

If the document is part of a series, you must add the series title and volume number at the end of the entry.

Part 3: examples (print)

Journal article

Author(s). Year. Article title. Journal name. Volume(Issue): Pages.

Holmberg S, Osterholm M, Sanger K, Cohen M. 1987. Drug-resistant Salmonella from animals fed antimicrobials. *New England Journal of Medicine*. 311(2): 617-622.

Book

Author(s). Year. Book Title. Edition. Place of Publication: Publisher.

Carson R. 1962. *Silent spring*. Boston (MA): Houghton Mifflin.

Chapter in a book

Author(s). Year. Chapter title. In: Book title. Edition. Place of Publication: Publisher. p. Pages of the chapter.

Carson R. 1962. Earth's green mantle. In: *Silent spring*. Boston (MA): Houghton Mifflin. p. 63-83.

Edited book

Editor name(s), editors. Year. Book title. Edition. Place of Publication: Publisher.

Springate-Baginski O, Blaikie P, editors. 2007. *Forests, people and power: the political ecology of reform in South Asia*. London (GB): Earthscan.

Chapter or article in an edited book

Author(s) of the part. Year. Chapter title. In: Editor name(s), editors. Book title. Edition. Place of Publication: Publisher. p. Pages of the chapter.

Banerjee A. 2007. Joint forest management in West Bengal. In: Springate-Baginski O, Blaikie P, editors. *Forests, people and power: the political ecology of reform in South Asia*. London (GB): Earthscan. p. 221-260.

Article in a dictionary or encyclopedia

Cite as you would an article in an edited book; if the author of the part is not specified, the editor assumes the place of the author.

Book in a series

Author(s). Year. Book Title. Edition. Place of Publication: Publisher. (Series title; vol. #)

Tegos G, Mylonakis E, editors. 2012. *Antimicrobial drug discovery: emerging strategies*. Wallingford, Oxfordshire (GB): CAB International. (Advances in molecular and cellular microbiology; vol.22).

Thesis or dissertation

Author(s). Year. Title [content designator]. [Place of Publication]: Publisher (often a university).

Bernier MH. 2009. *Assessing on-farm water use efficiency in southern Ontario* [thesis]. [Montreal (QC)]: McGill University.

Conference papers or proceedings

Author(s). Year. Title of paper. In: Editor name(s), editors. Title of Volume. Number and name of conference; date of conference; location of conference. Place of publication: Publisher. p. Pages.

Clarke A, Crame JA. 2003. Importance of historical processes in global patterns of diversity. In: Blackburn TM, Gaston KJ, editors. *Macroecology: concepts and consequences*. Proceedings of the 43rd annual symposium of the British Ecological Society; 2002 Apr 17-19; Birmingham. Malden (MA): Blackwell. p. 130-152.

Part 4: examples (electronic)

The proliferation of electronic information has introduced new challenges, as documents can exist in several different formats. Electronic sources are cited in the same way as their print counterparts, with some internet-specific items added: a medium designator (see description above), the date the document was last modified or updated (if available), the date cited, and the document URL or DOI (digital object identifier)

Opinions differ on how best to cite electronic journal articles. Generally, an electronic article based on a print source, in PDF format, is considered unalterable and is cited like a print article would be. Electronic articles in html or text format could easily be altered or exist in several versions, and should be cited respecting the rules for websites and other electronic documents.

When viewing journal articles online, the links that appear in your browser's address box may be temporary and will no longer work after a few days. Many databases and publishers will provide a permanent or persistent link, or, look for the article's DOI (digital object identifier), which is often listed along with the rest of the citation information.

www.sciencedirect.com/science/book/9780123746283

Electronic article in PDF format

Articles in pdf format, based on a print source, can be cited like a print journal article (example in Part 3).

Electronic article in HTML or text format

Author(s). Year. Article title. Journal name [medium designator]. [date updated; date cited]; Volume(Issue): Pages (if available). Available at: URL or DOI

Woolf D, Amonette JE, Street-Perrott FA, Lehmann J, Joseph S. 2010. Sustainable biochar to mitigate global climate change. Nature Communications [Internet]. [cited 2010 Aug 18]; 1(Art. 56). Available at: <http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html>

Electronic book

Author(s) or Editor(s). Year. Book Title [medium designator]. Edition. Place of Publication: Publisher; [date updated; date cited]. Available at: URL

Watson RR, Preedy VR, editors. 2010. Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables [Internet]. Amsterdam: Academic Press; [cited 2010 Apr 22]. Available at:

Article in an electronic dictionary or encyclopedia

Cite as you would an article in an electronic book

Allaby M, editor. 2006. photosynthesis. In: Dictionary of Plant Sciences [Internet]. Rev. ed. Oxford: Oxford University Press; [cited 2010 Aug 31]. Available at: www.oxfordreference.com/views/ENTRY.html?subview=Main&entry=t7.e5147

Website

Title of website [medium designator]. Date of publication. Place of publication: Publisher; [date updated; date cited]. Available at: URL

Electronic Factbook [Internet]. 2007. Montreal (QC): McGill University; [updated 2007 Mar 30; cited 2013 Jan 11]. Available at: <http://www.is.mcgill.ca/upo/factbook/index-upo.htm>

Online document

Author(s). Date of publication. Title [medium designator]. Edition. Place of publication: Publisher; [date updated; date cited]. Available at: URL

Kruse JS. 2007. Framework for sustainable soil management: literature review and synthesis [Internet]. Ankeny (IA): Soil and Water Conservation Society; [cited 2008 Aug 3]. Available at: <http://www.swcs.org/documents/filelibrary/BeyondLiteraturereview.pdfw>

INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) é o órgão oficial de difusão científica da Associação Toxicológica Argentina. Integra desde o ano de 2007 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 formato de artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, atualizações ou revisões, artigos de divulgação, imagens, resumos da tese, notas técnicas, cartas ao editor e notícias.

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

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

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

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

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

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

As imagens em Toxicologia podem corresponder a imagens relacionadas à toxicologia, dos aspectos artísticos aos biológicos: plantas tóxicas, cogumelos tóxicos, animais venenosos, animais venenosos, animais venenosos, florações de algas, químicos, alterações ambientais, casos clínicos, diagnóstico por imagem (raios X, eletrocardiogramas, ecografias, angiografia, tomografia, ressonância magnética, microscopia óptica ou eletrônica, etc.).

O objetivo da Seção Imagens em Toxicologia é a publicação de imagens originais (1-2 figuras de alta qualidade) ou clássicos interessantes ou descobertas incomuns que facilitem diagnóstico clínico, laboratorial ou eco-epidemiológico com origem toxicológica.

As imagens podem não ser excepcionais, mas sim ilustrativas.

O título deve ser curto e descritivo. Se a imagem é

uma imagem clínica, o texto deve ser uma descrição da apresentação do paciente seguido de pontos explicativos relevantes e o diagnóstico final. As imagens devem incluir uma legenda descritiva. Se a imagem corresponde a outros pontos da toxicologia uma breve descrição do contexto deve ser incluída no texto. Favor usar setas ou sinais para identificar pontos de interesse na imagem. Nos casos clínicos, favor remover qualquer caso de identificação de pacientes.

O máximo de palavras recomendada é: resumo 200, texto 1000 e não mais de 12 referências.

Será aceito um máximo de 3 autores por imagem.

Caso a imagem não seja original, ela deve ser acompanhada pela autorização do proprietário ou quem quer que seja o proprietário dos direitos, deve ser indicada na nota a ser submetida ao Editorial ao Conselho Editorial da *Acta Toxicológica*.

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 ultrapassar 1000 caracteres.

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

Os manuscritos devem ser submetidos através do *Acta Toxicológica Argentina* em la página web de la Asociación Toxicológica Argentina (<https://toxicologia.org.ar/formulario-acta/>).

Gratuidade das publicações

O envio, revisão, edição e publicação de qualquer tipo de material técnico científico ou de divulgação aceito pela *Acta Toxicológica Argentina* é completamente livre de custos para os autores, que não são obrigados a pagar nenhum tipo de custo de publicação ou para qualquer uma das etapas anteriores.

Direitos autorais

Os autores retêm os direitos da publicação. *Acta Toxicológica Argentina* é um acesso aberto e detém uma Licença Pública Creative Commons (CC-BY-NC). Os autores conservam os direitos de publicação e garantia à revista o direito para ser o primeiro local de publica-

ção do trabalho. Os autores retêm o direito ao seu trabalho sob o Regras da licença CC do tipo BY-NC "http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/" Licença Pública Creative Commons que permite compartilhar o trabalho, reconhecendo sua publicação inicial nesta revista, os autores podem dispor da obra para qualquer finalidade que considerem adequada, com a única exceção de sua reprodução para fins comerciais, de acordo com este tipo de licença CC.

Direitos de publicação

Os autores conservam os direitos de publicação. Acta Toxicológica Argentina é um acesso aberto publicação de livre acesso e detém um Licença Pública Creative Commons (CCBY-NC). Os autores retêm os direitos de publicação e conceder à revista o direito de ser a primeira ser o primeiro site de publicação da obra. Os autores retêm o direito de publicar seu trabalho de acordo com as regras do a licença CC BY-NC, "http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/" Licença Pública Creative Commons que permite que o trabalho seja compartilhado, reconhecendo sua publicação inicial nesta revista, com os autores os autores podem utilizar a obra para qualquer finalidade a única exceção de sua reprodução para fins comerciais de acordo com este tipo de licença CC.

Aspectos gerais na preparação do manuscrito para artigo original

Os manuscritos devem ser escritos usando um processador de texto (Microsoft Word versão 2003 ou superior), espaçamento duplo (incluindo resumos, referências e tabelas) fonte Arial e tamanho mínimo 12. As páginas devem ser numeradas a partir da página de título. Negrito ou itálico ou itálico deve ser usado somente quando apropriado.

Na primeira página deve ser indicado: título do artigo, nomes e sobrenome (sobrenome Autor 1, nome; sobrenome Autor 2, nome; sobrenome Autor 3, nome; etc. etc.) de todos os autores, local de trabalho (nome da instituição e endereço postal); se houver autores com diferentes locais de trabalho, os sobrescritos numéricos devem ser utilizados- não colocar entre parênteses - ao lado dos nomes, de modo a identificar cada autor com seu respectivo local de trabalho; fax e/ou e-mail do autor responsável pela correspondência (a ser indicada com um asterisco em sobrescrito ao lado do nome).

A segunda página deve incluir o título em inglês e o resumo no idioma do artigo e em inglês, cada uma seguida por uma lista de três a seis palavras-chave m no idioma correspondente. Se o artigo for escrito em inglês, deve ter um resumo em espanhol. As palavras-chave devem começar com uma letra maiúscula e separados por ponto-e-vírgula.

Introdução. Deve incluir antecedentes atualizados sobre o tema em questão e objetivos do trabalho defi-

nidos 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 os procedimentos éticos 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 descrições correspondentes no rodapé. Os avisos para esclarecimentos de rodapé deverão ser realizados empregando números arábicos entre parênteses e sobrescrito. 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, pizza, ou estatísticas deverão estar no formato GIF. Os números, letras e sinais deverão ter dimensões adequadas para serem legíveis quando necessário reduções. 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).

O título das figuras deverá ser apresentado 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.

Conflitos de interesse. Os autores deverão expressar se algum deles ou o grupo possui algum conflito de interesses em relação ao material publicado. Caso contrário, também deverá ser declarado, como por exemplo:

Os autores declaram não ter conflitos de interesse ou relações pessoais que podem ter influenciado o que é afirmado neste trabalho.

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

Bibliografia

Parte 1: citações no texto

O nome do autor e ano de publicação aparecem entre parênteses no final da frase:

Esta afirmação foi posteriormente refutada (Jones 2008).

Se o nome do autor for claramente mencionado no texto, pode ser seguido diretamente pelo ano de publica-

ção entre parênteses:

Jones (2008) posteriormente refutou essa afirmação.

Se o nome do autor e o ano forem claramente mencionados no texto, não é necessário incluir uma referência entre parênteses:

Em 2008, Jones refutou essa afirmação.

Se você está citando uma parte específica de um documento (por exemplo, uma citação direta ou uma figura, gráfico ou tabela), inclua o número da página onde essas informações podem ser encontradas:

"Esses resultados contradizem claramente o publicado

em 2004 pelo laboratório Smith". (Jones 2008, p. 56).

Mais de um autor

Se um documento tiver dois autores, inclua ambos os sobrenomes separados por "e". Para trabalhos

com três ou mais autores, inclua apenas o nome do primeiro autor, seguido de "et al.":

... (Andrews e Gray 1995).

... (Gómez et al. 2003).

Múltiplas obras de diferentes autores.

Se citar várias fontes ao mesmo tempo, liste-as em ordem cronológica, se foram publicados duas ou mais obras no mesmo ano liste-as em ordem alfabética, e separe cada uma por ponto e vírgula:

... (Samson 1963; Carter e Bowles 1975; Grimes 1975; Anderson et al. 1992).

Vários trabalhos publicados pelo mesmo autor no mesmo ano.

Se você está citando duas ou mais obras escritas pelo mesmo autor no mesmo ano, adicione um identificador (a, b, c ...) para distingui-los. Use os mesmos identificadores na lista de referência:

... (Dubois 1976a; Dubois 1976b).

Dubois J. 1976a. Detecção de tendência dentro...

Dubois J. 1976b. Padrões de distribuição de ...

Citando uma fonte secundária ou indireta

Se deseja citar uma fonte que já é citada em outro documento, é sempre melhor consultar e fazer a citação da fonte original. No entanto, se não conseguir localizar e verificar o documento original, você deve citar a fonte

secundária e ao mesmo tempo reconhecer o autor da ideia original tanto na citação no texto quanto na referência final:

... (Rawls 1971, citado em Brown 2008)

Rawls J. 1971. *A Theory of Justice*. Cambridge (MA): Belknap Press. Citado em: Brown PG. 2008. *The Commonwealth of Life: Economics para uma Terra florescente*. 2ª ed. Montreal (QC): Black Rose Books.

Organizações como autores

Se o autor de um documento for uma organização, corporação, departamento governamental, universidade etc., use uma forma abreviada da organização na citação no texto, mantendo a primeira letra de cada palavra do nome, ou alguma outra abreviatura reconhecida:

... (FAO 2006).

Parte 2: lista de referências

A lista de referências está no final de seu trabalho e inclui informações bibliográficas completas de todas as fontes citadas no texto. As referências são listadas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor.

Componentes de referências na lista de referências.

Os seguintes componentes, se disponíveis, são incluídos ao citar uma fonte, na seguinte sequência:

Livros e outras monografias.

Autor (es) ou Editor (es)

Ano de publicação

Título

Conteúdo ou designador médio

Edição

Autor (es) Secundário (s)

Local de publicação

Editor

Paginação

Série

Artigos de revistas e periódicos/jornais.

Autor (es)

Ano de publicação

Título do artigo

Conteúdo ou designador médio

Título de revista ou jornal

Volume

Número

Paginação

Autor (es) ou Editor (es)

Liste os sobrenomes e iniciais dos autores na ordem em que aparecem no documento original, e separe cada

um com uma vírgula.

Mary-Beth Macdonald e Laurence G. Kaufman se converteram em Macdonald MB, Kaufman LG.

Se o documento tiver editores em vez de autores, coloque os sobrenomes e as iniciais seguidas de uma vírgula e "editor (es)":

Macdonald MB, Kaufman LG, editores.

Mais de dez autores.

Sempre inclua os nomes dos dez primeiros autores. Se houver mais de dez, inclua apenas os primeiros dez nomes de autores, após ""autores", três pontos (...) seguidos de vírgula (,) e o nome do último autor. Exemplo Autor 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, ..., Autor 11.

Autor (es) Secundário (s)

Os autores secundários incluem tradutores, ilustradores, editores ou produtores, e podem ser incluídos na referência, além dos autores principais, após o título do livro:

Marquez GG. 1988. *Amor em tempos de cólera*. Grossman E, tradutor. Nova York...

Organizações como autores

O nome completo da organização deve ser identificado na lista de referências, mas precedido pela abreviatura usada no texto, entre colchetes. Ordene a referência em ordem alfabética pelo nome completo, não por acrônimo:

[FAO] Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura. 2006. *Gênero e direito: direitos das mulheres na agricultura* ...

Título

Inclui o título como os subtítulos, mantendo a pontuação usada no documento original. Para livros e títulos de artigos de revistas, escreva em maiúsculo somente a primeira palavra, bem como nomes próprios, siglas e iniciais. Todas as palavras importantes nos títulos das revistas podem ser escritas em letras maiúsculas:

Livro: *Cultura de células vegetais: métodos essenciais*

Revista: *Canadian Journal of Animal Science*

Designador de conteúdo

Os designadores de conteúdo descrevem o formato de um documento e podem ser usados para fornecer informações adicionais em relação à natureza de um documento (por exemplo, dissertações, teses, biblio-

grafias e certos tipos de artigos de revistas, como editoriais, cartas ao editor, notícias etc.) Os designadores de conteúdo aparecem entre colchetes logo após o título:

Bernier MH. 2009. Assessing on-farm water use efficiency in southern Ontario [tese]. Montreal ...

Designador médio

Os designadores médios indicam que o documento está em um formato não impresso, como "DISQUETES", "CD-ROM" ou "Internet". É requerido designadores médios e aparecem entre colchetes logo após o título:

Gooderham CB. 1917. Doenças das abelhas [DISQUETES]. Ottawa ...

Local de publicação e editorial

O local de publicação refere-se à cidade onde o editor está localizado. Esta informação é normalmente encontrada na capa do livro em questão, ou no registro do catálogo McGill. Se não encontrar o lugar de publicação, use as palavras [lugar desconhecido] entre colchetes. Se aparecer mais de uma cidade, use apenas a primeira que aparecer. Certas cidades podem estar sozinhas (por exemplo, Nova York), mas para evitar confusão, se pode escrever o nome do país ou incluir o Código ISO de 2 letras do país (por exemplo, Reino Unido: GB). Para cidades canadenses ou estadunidenses, se pode incluir o código do estado ou província de duas letras.

Paginação

Se você usar apenas parte de um trabalho publicado (isto é, um artigo de revista ou um capítulo de livro), indique a paginação da seção que se refere. A paginação é opcional se fizer referência a todo o trabalho.

Série

Se o documento fizer parte de uma série, deve se adicionar o título da série e o número do volume no final da entrada.

Parte 3: exemplos (impresso) Artigo de revista

Autor (es). Ano. Título do artigo. Nome da revista. Volume (edição): páginas.

Holmberg S, Osterholm M, Sanger K, Cohen M. 1987. Drug-resistant Salmonella from animals fed antimicrobials. *New England Journal of Medicine*. 311(2):617-622.

Livro

Autor (es). Ano. Título do livro. Edição. Lugar de publicação: Editora.

Carson R. 1962. *Silent spring*. Boston (MA): Houghton Mifflin.

Capítulo em um livro

Autor (es). Ano. Título do capítulo. In: Título de livro. Edição. Local de publicação: Editora. pags. Páginas do capítulo.

Carson R. 1962. *Earth's green mantle*. In: *Silent spring*. Boston (MA): Houghton Mifflin. p. 63-83.

Livro editado

Nome (s) do editor, editores. Ano. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora.

Springate-Baginski O, Blaikie P, editores. 2007. *Forests, people and power: the political ecology of reform in South Asia*. London (GB): Earthscan.

Capítulo ou artigo em um livro editado

Autor (es). da parte. Ano. Título do capítulo. In: Nome (s) do editor, editores. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editorial. pags. Páginas do capítulo.

Banerjee A. 2007. *Joint forest management in West Bengal*. In: Springate-Baginski O, Blaikie P, editores. *Forests, people and power: the political ecology of reform in South Asia*. London (GB): Earthscan. p. 221-260.

Artigo em um dicionário ou enciclopédia.

Cite como faria com um artigo em um livro editado; Se o autor da parte não for especificado, o editor assume o lugar do autor.

Livro de série

Autor (es). Ano. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editorial. (Título da série; vol. #)

Tegos G, Mylonakis E, editores. 2012. *Antimicrobial drug discovery: emerging strategies*. Wallingford, Oxfordshire (GB): CABI. (*Advances in molecular and cellular microbiology*; vol.22).

Tese ou Dissertação

Autor (es). Ano. Título [designador de conteúdo]. [Local de publicação]: Editor (frequentemente uma universidade).

Bernier MH. 2009. *Assessing on-farm water use efficiency in southern Ontario* [tesis]. [Montreal (QC)]: McGill University.

Documentos de conferência ou atas

Autor (es). Ano. Título do trabalho. Em: nome (s) do (s) editor (es), editores. Título do volume. Número e nome da conferência; data da conferência; Local da conferência. Local de publicação: Editorial. p. Páginas.

Clarke A, Crame JA. 2003. Importance of historical processes in global patterns of diversity. En: Blackburn TM, Gaston KJ, editors. Macroecology: concepts and consequences. Proceedings of the 43rd annual symposium of the British Ecological Society; 2002 Apr 17-19; Birmingham. Malden (MA): Blackwell. p. 130-152.

Parte 4: exemplos (eletrônico)

A proliferação de informações eletrônicas introduziu novos desafios, como os documentos que podem existir em vários formatos diferentes. Fontes eletrônicas são citadas da mesma forma que suas homólogos impressas, com alguns elementos específicos da Internet agregados: um designador médio (ver descrição anterior), a data do documento foi modificada ou atualizada pela última vez (se está disponível), a data citada e a URL do documento ou o DOI (identificador de objeto digital).

As opiniões divergem sobre a melhor maneira de citar artigos de periódicos eletrônicos. Geralmente, um artigo eletrônico baseado em uma fonte impressa, em formato PDF, é considerada inalterável e citado como um artigo impresso.

Artigo eletrônico em formato PDF.

Artigos em formato pdf, baseados em uma fonte impressa, podem ser citados como artigos de revista impressa (exemplo na Parte 3).

Artigo eletrônico em formato HTML ou texto.

Autor (es) Ano. Título do artigo. Nome da revista [designador médio]. [data atualizada; Data da citação]; Volume (edição): páginas (se estiverem disponíveis). Disponível em: URL ou DOI

Woolf D, Amonette JE, Street-Perrott FA, Lehmann J, Jo-

seph S. 2010. Sustainable biochar to mitigate global climate change. Nature Communications [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2010]; 1(Art. 56). Disponível em: <http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html>

Livro eletrônico

Autor (es) ou Editor (es). Ano. Título do livro [designador médio]. Edição. Local de publicação:

editorial; [data atualizada; data da citação]. Disponível em: URL

Watson RR, Preedy VR, editors. 2010. Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables [Internet]. Amsterdam: Academic Press; [citado el 22 de abril de 2010]. Disponível em: www.sciencedirect.com/science/book/9780123746283

Artigo em um dicionário eletrônico ou enciclopédia.

Cite como faria com um artigo de livro Eletrônico

Allaby M, editor. 2006. photosynthesis. In: Dictionary of Plant Sciences [Internet]. Rev. ed. Oxford: Oxford University Press; [citado em 31 de agosto de 2010]. Disponível em: www.oxfordreference.com/views/ENTRY.html?subview=Main&entry=t7.e5147

Site web

Título do site [designador médio]. Data de publicação. Local de publicação: Editorial; [data atualizada; Data da citação]. Disponível em: URL

Electronic Factbook [Internet]. 2007. Montreal (QC): McGill University; [atualizado al 30 de março de 2007; citado em 11 de janeiro de 2013]. Disponível em: <http://www.is.mcgill.ca/upo/factbook/index-upo.htm>

Documento online

Autor (es). Data de publicação. Título [designador médio]. Edição. Local de publicação: Editorial; [data atualizada; Data da citação]. Disponível em: URL

Kruse JS. 2007. Framework for sustainable soil management: literature review and synthesis [Internet]. Ankeny (IA): Soil and Water Conservation Society; [citado em 3 de agosto de 2008]. Disponível em: <http://www.swcs.org/documents/filelibrary/BeyondTliteraturereview.pdf>