

# *Acta Toxicológica Argentina*

ISSN 1851-3743

Vol. 32, Nº 1  
Año 2024



Asociación  
Toxicológica  
Argentina

Publicación de la  
Asociación Toxicológica Argentina  
Buenos Aires, Argentina

**FOTO DE LA PORTADA:**

*Cannabis sativa*. Foto de archivo, Acta Toxicológica Argentina.

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



## Asociación Toxicológica Argentina

### Comisión directiva

#### Presidente

María Cecilia Travella

#### Vicepresidente

Patricia A. Lucero

#### Secretario

María Fernanda Simoniello

#### Tesorero

Jorge Zavatti

#### Vocales

Déborá J. Perez

Sergio A. Saracco

Silvia C. Cortese

#### Vocales suplentes

Pedro A. Zeinsterger

Guillermo A. Grau

Horacio J. Trapassi

#### Órgano de fiscalización

Augusto Piazza

Marcelo Wolansky

Victoria Di Nardo

#### Comité científico

Ricardo A. Fernandez

Valentina Olmos

Susana I. García

Adriana S. Ridolfi

Flavia A. Vidal

Laura C. Lanari

#### Tribunal de honor

Edda C. Villaamil Lepori

Marta Carballo

Elda Cargnel

### 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 A. 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 Donnenwald, *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 Aránzazu Martínez Caballero, *Universidad Complutense de Madrid, España.*

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

María Marta 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

Perfil epidemiológico de las intoxicaciones con warfarina y superwarfarinas: resultados de dos décadas de análisis toxicológicos.

*Barrionuevo, Nicolás M.; Olmos, Valentina..... 5*

Use of norway rats as sentinel species in a contaminated urban basin: exploring the relationship between environmental lead and cerebellar cytoarchitecture.

*Scaltritti, Martin; Tripodi, Mariel A.; Pandolfi, Matias<sup>†</sup>; Muschetto, Emiliano; Hancke, Diego; Suárez, Olga V. .... 13*

#### Imágenes en Toxicología

Vecinos cercanos venenosos

*de Roodt, Adolfo Rafael; Damin, Carlos Fabián; Hermann, Daniel Ignacio Jesús ..... 26*

**Instrucciones para los autores ..... 30**

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

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

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

## TRABAJO ORIGINAL

---

### Perfil epidemiológico de las intoxicaciones con warfarina y superwarfarinas: resultados de dos décadas de análisis toxicológicos

#### Epidemiological profile of warfarin and superwarfarin poisonings: Findings from two decades of toxicological analysis

Barrionuevo, Nicolás M.; Olmos, Valentina\*

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Toxicología y Química Legal, Laboratorio de Asesoramiento Toxicológico Analítico (CENATOXA). Junín 956, 7º piso, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, (C1113AAD), Argentina. Tel: +5411-5287-4751

\*volmos@ffyb.uba.ar

Recibido: 29 de mayo de 2024

Aceptado: 15 de agosto de 2024

Editora: Adriana Ridolfi

**Resumen.** El aumento de la disponibilidad y el uso de rodenticidas en entornos domésticos, agrícolas e industriales ha mostrado tener influencia sobre la incidencia y gravedad de las intoxicaciones asociadas con estos productos. Las intoxicaciones con rodenticidas anticoagulantes representan un desafío clínico y toxicológico significativo debido a que pueden presentarse con complicaciones hemorrágicas potencialmente mortales. En Argentina, no se dispone de una casuística detallada de estas intoxicaciones. Este trabajo planteó como objetivo generar un perfil epidemiológico de las intoxicaciones por warfarinas y superwarfarinas en Argentina, según los registros disponibles del laboratorio toxicológico. Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo sobre 194 casos ingresados en el CENATOXA entre los años 2000 y 2022. El 96% fueron muestras biológicas (suero) y 4% fueron no biológicas. El 31,5 % de las muestras biológicas y el 42,8% de las no biológicas fueron positivas. Los compuestos más frecuentemente encontrados fueron brodifacoum (35 muestras, 56%), bromadiolone (18 muestras, 29%), y warfarina (14 muestras, 22,5%). En dos casos se identificó más de una superwarfarina en una misma muestra. La etiología más frecuente fue la intencional (49%). La franja etaria prevalente fue la de 40 a 49 años con una frecuencia del 47,3% y los menores de 20 años representaron el 11%. La distribución por género fue variable según la franja etaria, aunque en la franja de 40 a 49 años predominó el género femenino. El 25% de los casos con resultado positivo presentaron anticoagulación severa (actividad de protrombina menor de 20%), incluyendo sangrado, y recibieron tratamiento con vitamina K1. Las dosis de vitamina K1 estuvieron comprendidas entre 10 y 200 mg por día. La prevalencia de compuestos anticoagulantes, la distribución por género y edad, y la etiología predominante difirieron de otras casuísticas, lo cual subraya la variabilidad global tanto en la ocurrencia como en la notificación de estas intoxicaciones. Esto, sumado a la baja prevalencia de casos confirmados en comparación con otros países, podría atribuirse a factores como el subregistro o la selección de casos más graves para la derivación al laboratorio toxicológico. Se destaca la importancia del registro y de la vigilancia epidemiológica continua para lograr una mejor comprensión y gestión de estas intoxicaciones.

**Palabras clave:** Warfarina; Superwarfarinas; Perfil epidemiológico; Intoxicación.

**Abstract.** The increase in the availability and use of rodenticides in domestic, agricultural, and industrial settings has been shown to influence the incidence and severity of poisonings associated with these products. Poisonings with anticoagulant rodenticides represent a significant clinical and toxicological challenge due to their potential to cause fatal hemorrhagic complications. In Argentina, a detailed record of these poisonings is not available. This study aimed to generate an epidemiological profile of poisonings by warfarins and superwarfarins in Argentina, confirmed by the toxicological laboratory. A descriptive retrospective study was conducted on 194 cases referred to CENATOXA laboratory between 2000 and 2022. Ninety-six percent were biological samples (serum) and 4% were non-biological samples. Thirty-one point five percent of the biological samples and 42.8% of the non-biological samples had a positive

result. The compounds most frequently found were brodifacoum (35 samples, 56%), bromadiolone (18 samples, 29%), and warfarin (14 samples, 22.5%). In two cases, more than one superwarfarin was identified in the same sample. Intentional poisoning was the most frequent cause of poisoning (49%). The prevalent age group was 40 to 49 years with a frequency of 47.3%, and those under 20 years old accounted for 11%. The gender distribution varied according to age group, although in the 40 to 49 age group, females predominated. Twenty-five percent of cases with positive results presented severe anticoagulation (prothrombin activity less than 20%), including bleeding, and received treatment with vitamin K1. The doses of vitamin K1 ranged from 10 to 200 mg per day. The prevalence of anticoagulant compounds, gender and age distribution, and the predominant etiology differed from other reports, highlighting global variability in both the occurrence and reporting of these poisonings. This, combined with the low prevalence of confirmed cases compared to other countries, could be attributed to factors such as underreporting or the selection of more severe cases for referral to the toxicological laboratory. The importance of continuous recording and epidemiological surveillance is emphasized to achieve a better understanding and management of these poisonings.

**Keywords:** Warfarin; Superwarfarins; Epidemiological profile; Poisoning.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el aumento de la disponibilidad y el uso de rodenticidas en entornos domésticos, agrícolas e industriales ha mostrado tener influencia sobre la incidencia y gravedad de las intoxicaciones asociadas con estos productos (Soleng *et al.* 2022). Los anticoagulantes (warfarina y compuestos relacionados, cumarinas e indandionas) son los ingredientes activos más frecuentemente utilizados en rodenticidas comerciales. Se los clasifica en anticoagulantes de “primera y segunda generación”. Los anticoagulantes de “primera generación”, se desarrollaron alrededor de 1940, e incluyen derivados de hidroxycumarina como warfarina, coumaclor y coumatetralil. Los anticoagulantes de “segunda generación”, también denominados “superwarfarinas”, surgieron a partir de 1970, cuando aparecen los primeros registros del desarrollo de resistencia por parte de los roedores a los de primera generación (EPA 2013). Las superwarfarinas se caracterizan por ser más potentes y por presentar vidas medias de eliminación más prolongadas lo cual produce una extensión en la duración de la acción. Entre las superwarfarinas se encuentran el bromadiolone, el brodifacoum y el difenacoum (EPA 2013). Las intoxicaciones con rodenticidas anticoagulantes (tanto warfarinas como superwarfarinas), aunque infrecuentes, implican un desafío clínico y toxicológico significativo debido a que suelen presentarse (en el caso de las superwarfarinas) con un efecto anticoagulante prolongado y, en casos muy graves, con complicaciones hemorrágicas potencialmente mortales (Simmons *et al.* 2018). Sin embargo, y a pesar de su relevancia toxicológica, no se dispone, en Argentina, de un análisis detallado sobre la casuística de estas intoxicaciones. Esta escasez de información ha destacado la necesidad de llevar adelante una revisión que aborde la prevalencia, las características demográficas y clínicas, así como las implicaciones terapéuticas asociadas con la intoxicación con rodenticidas anticoagulantes. El CENATOXA (Laboratorio de Aseso-

ramiento Toxicológico Analítico), especializado en análisis toxicológicos, realiza de manera sistemática y desde hace más de dos décadas la investigación de la presencia de warfarinas y la cuantificación de superwarfarinas, en los casos de sospecha de intoxicación con estas sustancias. En este escenario, el objetivo de este trabajo fue generar un perfil epidemiológico de las intoxicaciones por warfarinas y superwarfarinas en Argentina, identificando patrones, implicaciones clínicas y toxicológicas, que contribuyan a una mejor comprensión y gestión de estas intoxicaciones. Este trabajo representa la primera compilación y análisis de la casuística acumulada a lo largo de ese periodo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo sobre todos los casos de sospecha de intoxicación por rodenticidas anticoagulantes, ingresados en nuestro laboratorio entre los años 2000 y 2022. Cada caso estuvo representado por una muestra biológica (suero) o una muestra no biológica (líquidos, cebos, granos, alimento para animales).

### Metodología

En todos los casos el ingreso de la muestra se acompañó con un interrogatorio mediante el cual se indagó (en el caso de muestras biológicas) sobre el género, la edad, el momento de la exposición y la etiología, la presencia de signos y síntomas característicos y su evolución, y la administración de vitamina K1 u otro tratamiento. La identificación y cuantificación de los compuestos anticoagulantes se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detectores de arreglo de fotodiodos y fluorométrico (HPLC-PDA/FLD). Para el

caso de muestras biológicas se realizó una extracción líquido-líquido, según el procedimiento descrito por Olmos *et al.* (2004).

### Análisis de los resultados

Los casos ingresados se analizaron tomando en cuenta los siguientes factores:

- 1) el tipo de muestra: biológica o no biológica;
- 2) el resultado del análisis (positivo o negativo), el rodenticida identificado y la concentración hallada;

En el caso de muestras biológicas se añadieron:

- 3) las características demográficas como género y edad de los pacientes;
- 4) la etiología de la intoxicación (accidental, intencional, ocupacional, entre otras);
- 5) la presencia de signos y síntomas característicos de esta intoxicación;
- 6) la severidad del cuadro clínico (representada por actividad de protrombina (AP) menor de 20%, la presencia de sangrado activo o hemorragia masiva (Caravati *et al.* 2007) y el requerimiento de tratamiento específico con vitamina K1);
- 7) la administración de vitamina K1 y otras conductas terapéuticas aplicadas;
- 8) la relación entre el rodenticida identificado y la gravedad del caso.

### Tratamiento de los datos

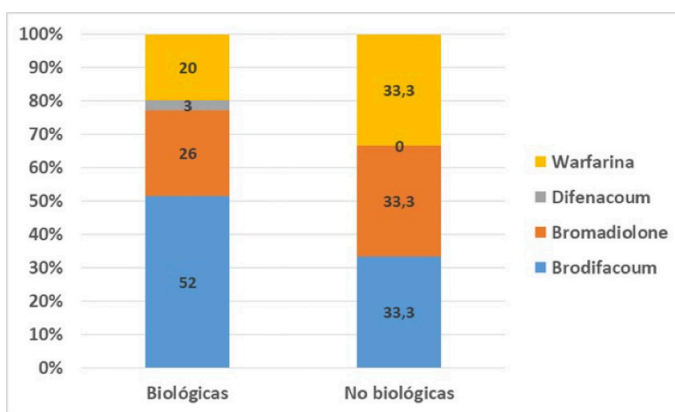
Para el análisis de la información se empleó el software estadístico InfoStat (v2018). Se calcularon medidas resumen como promedios, frecuencia de distribución, intervalo de valores.

## RESULTADOS

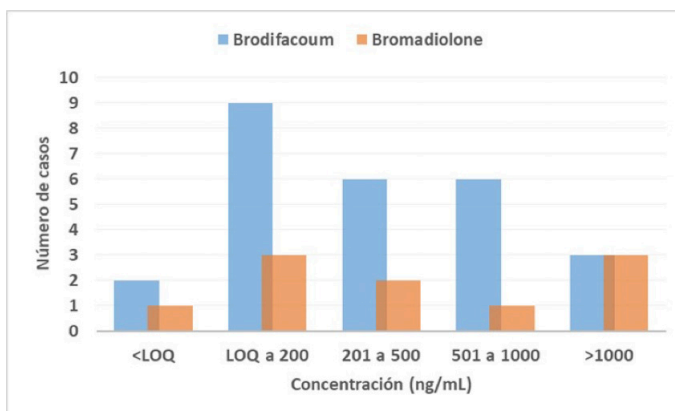
Un total de 194 casos ingresados en los servicios de salud de Argentina remitieron muestras al CENATOXA, entre los años 2000 y 2022, para la investigación de warfarina y superwarfarinas, lo que significó un promedio de 8,6 muestras por año (rango 0 a 21). De las 194 muestras ingresadas, 187 (96%) fueron muestras biológicas (sueros) y 7 (4%) fueron no biológicas (granos, forraje, restos parafinados). De las 187 muestras biológicas, 103 (55%) correspondieron a pacientes del género femenino y 80 (43%) a pacientes del género masculino, de las 4 (2%) restantes no se contó con información al respecto. La edad de los pacientes estuvo comprendida entre 43 días y 95 años.

Se obtuvo un resultado positivo (identificación de warfarina o superwarfarinas) en 59 (31,5%) de las muestras biológicas, lo cual significó un promedio de 2,7 casos positivos por año (rango 0 a 17). De las muestras no

biológicas, el 42,8% (3 muestras) resultaron positivas. Los compuestos más frecuentemente encontrados fueron brodifacoum (35 muestras, 56%), bromadiolone (18 muestras, 29%), y warfarina (14 muestras, 22,5%). En la *Figura 1* se muestran los porcentajes que representaron los distintos compuestos, segmentados según el tipo de muestra ingresada (biológica o no biológica). En dos de los casos ingresados (correspondientes a muestras biológicas) se identificó más de una superwarfarina, una muestra resultó positiva para bromadiolone, difenacoum y brodifacoum, y otra muestra resultó positiva para bromadiolone y brodifacoum. A diez pacientes se les realizaron controles periódicos hasta alcanzar un resultado negativo. En cuanto a los valores hallados, en la *Figura 2* se muestra la distribución del número de casos según el rango de concentraciones y la superwarfarina identificada. La concentración más elevada para brodifacoum fue de 3171 ng/mL y se encontró en una paciente de 53 años, y la más elevada para bromadiolone fue de 33669 ng/mL, en una paciente de 40 años.

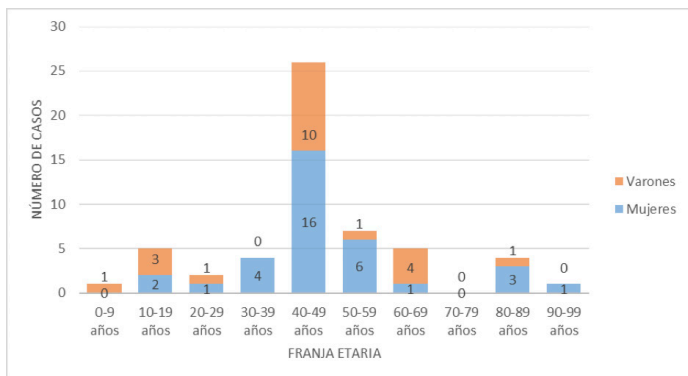


**Figura 1.** Representación del porcentaje de presencia de cada compuesto según el tipo de muestra (biológica y no biológica).



**Figura 2.** Distribución de los casos según la concentración hallada en el suero. LOQ brodifacoum: 40 ng/mL, LOQ bromadiolone: 50 ng/mL.

La mayor frecuencia de casos con resultado positivo se presentó en la franja etaria 40 a 49 años (26 casos, 47,3%) y los menores de 20 años representaron casi el 11% (seis casos). En cuanto al género, se observó una distribución variable de casos con resultado positivo, entre varones y mujeres, con predominio del género femenino (37% y 63%, respectivamente, en el total de casos), aunque cuando se realizó la segmentación por edades, el género predominante varió según la franja etaria (Figura 3).



**Figura 3.** Distribución de los casos positivos según el género y la franja etaria.

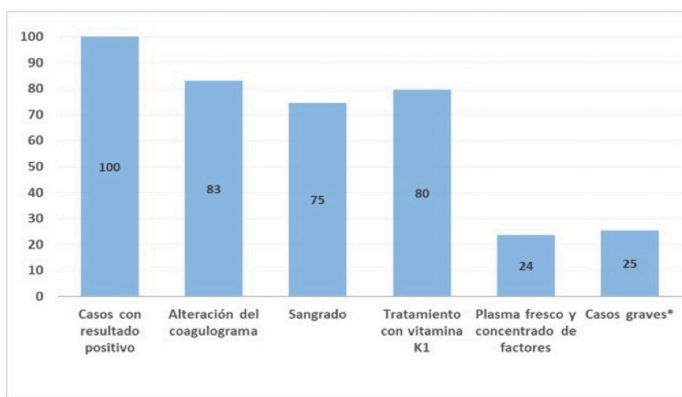
Los signos más frecuentes que se presentaron en los pacientes incluyeron: alteración del coagulograma, equimosis y sangrado (Figura 4). El 80% de los casos con resultado positivo recibió tratamiento con vitamina K1 y el 24% recibió, además, plasma fresco congelado o concentrado de factores (Figura 4). El 25% (15 casos) de los casos con resultado positivo se incluyeron en la categoría de casos graves, ya que presentaron anticoagulación severa (AP menor de 20%), incluyendo sangrado, y recibieron tratamiento con vitamina K1.

La etiología intencional fue la más frecuente, seguida por la accidental (Figura 5). Un alto porcentaje de casos se clasificó como de etiología indeterminada, ya que no pudieron relacionarse con una fuente de exposición definida (Figura 5). La etiología dudosa estuvo representada por aquellos casos en los cuales se estableció la presencia de al menos un raticida en el entorno de la persona, aunque el paciente descartó la posibilidad de contacto.

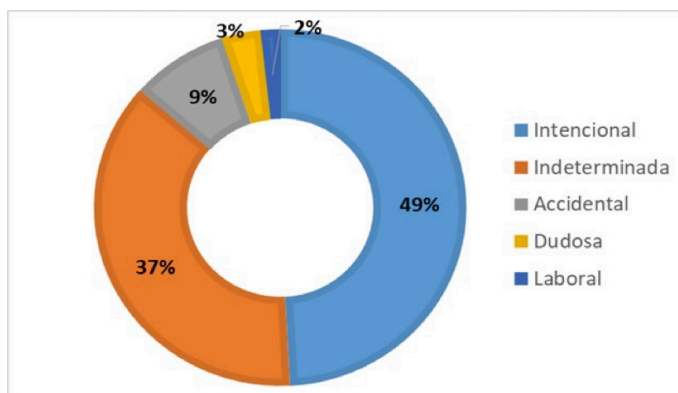
En cuanto al tratamiento recibido por los pacientes con resultado positivo, 47 casos (80%) recibieron tratamiento con fitomenadiona (vitamina K1), 13 casos (22%) recibieron plasma fresco congelado (PFC) y un caso (2%) recibió concentrado de factores. De los 13 casos que recibieron PFC, 12 lo recibieron en asociación con la administración de fitomenadiona. En solo un caso la administración de PFC se utilizó como único

recurso terapéutico. No hubo información disponible acerca del tratamiento en 11 casos (19%). En los casos que se administró fitomenadiona, las dosis estuvieron comprendidas entre 10 y 200 mg por día.

Se identificaron 15 casos que cumplieron con los criterios de casos graves, de los cuales siete correspondieron a intoxicaciones con brodifacoum, cinco con warfarina, dos con bromadiolone y uno con brodifacoum y bromadiolone. De estos 15 casos, siete recibieron plasma fresco o concentrado de factores como complemento al tratamiento con vitamina K1 (cuatro casos de brodifacoum, dos casos de warfarina y uno de bromadiolone). La frecuencia en que se presentaron los distintos compuestos en este subgrupo (brodifacoum: 53%, warfarina: 33%, bromadiolone: 20%) mantuvo cierta asociación con la encontrada en el análisis de la totalidad de los casos.



**Figura 4.** Porcentaje de casos con alteraciones del coagulograma; casos con presencia de sangrado; casos tratados mediante la administración de vitamina K1; casos tratados mediante la administración de plasma fresco congelado o concentrado de factores; y casos graves, respecto del total de casos con resultado positivo. \*La clasificación de los casos como graves incluye la coocurrencia de tres eventos: la alteración del coagulograma con actividad de protrombina (AP)<20%; la ocurrencia de sangrado; y la necesidad de tratamiento con vitamina K1.



**Figura 5.** Distribución de las etiologías de intoxicación en los casos con resultado positivo.

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se propuso realizar un análisis del perfil epidemiológico de las intoxicaciones con rodenticidas de tipo warfarinas y superwarfarinas, ingresadas al CENATOXA entre los años 2000-2022. En estos 23 años, fueron remitidas a nuestro laboratorio 194 muestras para el análisis de rodenticidas por sospecha de intoxicación. Los resultados confirmados en el laboratorio indicaron una casuística de, en promedio, 2 a 3 casos positivos por año, mayoritariamente representados por casos de intoxicación (muestras biológicas). Si comparamos esta casuística con los reportes de otros países, representa un número bastante bajo de casos. En EE.UU., King y Tran (2015) reportaron 315951 casos de intoxicación con rodenticidas anticoagulantes, en un período de 25 años (1987-2012), representando, en promedio, 12638 casos por año. En Francia, en el período 2004-2008 (5 años), se reportaron 770 casos de sospecha de intoxicación con rodenticidas anticoagulantes (154 en promedio por año), resultando en 280 considerados positivos (56 en promedio por año) (Berny *et al.* 2010). En Hong Kong, en un estudio retrospectivo sobre un período de cinco años (2010-2014) se registraron 76 casos de sospecha de intoxicación con rodenticidas anticoagulantes (15 en promedio por año), de los cuales 41 resultaron positivos (8 casos, en promedio, por año) (Ng *et al.* 2018). Sin embargo, para una mejor interpretación de los resultados de nuestra casuística, debe considerarse que, de la totalidad de casos con sospecha de intoxicación que reciben los servicios de salud en nuestro país, solamente suelen enviarse al laboratorio los casos más graves o aquellos cuyo diagnóstico no resultó claro (por no presentar historia de exposición a rodenticidas anticoagulantes). Por ejemplo, en EE.UU., el porcentaje de casos de intoxicación con rodenticidas anticoagulantes que revisitan gravedad moderada a severa conforman el 0,6% de los casos totales registrados (King y Tran 2015). Tomando este porcentaje como referencia, en nuestro país se requeriría la intervención del laboratorio toxicológico en uno de cada 160 casos tratados en los servicios de toxicología, lo cual puede explicar el número de casos remitidos al CENATOXA. Estas diferencias en las casuísticas entre países también ayudan a reflejar la variabilidad global en la notificación y gestión de casos de intoxicaciones en general, y de intoxicaciones por rodenticidas anticoagulantes en particular.

En cuanto al compuesto anticoagulante involucrado, en nuestra casuística se destaca la frecuencia de aparición del brodifacoum (56%), seguido por el bromadiolone y la warfarina (29% y 22,5%, respectivamente). Estos resultados guardan buena relación con los ingredientes activos de los productos que se comercializan en la Argentina. Entre los productos autorizados

por ANMAT, el brodifacoum emerge como el principal ingrediente activo, presente en el 50,9% de las formulaciones, le sigue el bromadiolone como el segundo principio activo más utilizado, presente en el 39,2% de los productos comercializados. El difenacoum y el flo-coumafen exhiben una presencia en el 3,9% cada uno, y la warfarina está presente en el 1,9% de los productos aprobados para la venta y aplicación. Para los casos en que se encontró más de un compuesto anticoagulante en una misma muestra, la explicación no es tan sencilla ya que, siempre según los registros de ANMAT (ANMAT 2022a, 2022b), no se comercializa ningún producto que combine dos o más principios activos, aunque siempre existe la posibilidad de que la persona haya estado expuesta a más de un producto rodenticida. En Argentina se encuentran disponibles en el mercado un total de 51 productos catalogados como rodenticidas anticoagulantes. De este conjunto, cinco están clasificados como de venta libre para uso en el ámbito domisanitario, mientras que los restantes 46 están categorizados como de uso profesional (ANMAT 2022a, 2022b). Sin embargo, nuestra realidad indica que es posible acceder a canales no oficiales de comercialización en donde adquirir productos rodenticidas autorizados y también productos sin registro ni autorización. Con referencia a lo reportado en otras casuísticas, el compuesto anticoagulante más frecuentemente involucrado en los casos de intoxicación difirió de un país a otro. Brodifacoum fue el compuesto prevalente en los casos de intoxicación en EE.UU. (King y Tran 2015), bromadiolone fue el compuesto prevalente tanto en China como en Hong Kong (Yan *et al.* 2016; Ng *et al.* 2018) y difenacoum fue el más prevalente en Francia (Berny *et al.* 2010). Estas variaciones en la prevalencia de los compuestos involucrados en las intoxicaciones subrayan la influencia de normativas que regulan la comercialización y uso de cada principio activo en los distintos países del mundo. Por otro lado, y según las concentraciones halladas, se evidencia el amplio rango de exposiciones a rodenticidas anticoagulantes en la población estudiada, y explica en parte la variabilidad observada en la gravedad de las intoxicaciones. Las concentraciones halladas para brodifacoum y bromadiolone guardan relación con casos publicados que reportaron haber hallado brodifacoum entre 130 y 1862 ng/mL (Nosal *et al.* 2021) y bromadiolone entre 1 y 878 ng/mL (Yan *et al.* 2016). Sin embargo, en contexto de nuestra casuística, debe mencionarse especialmente el caso de una paciente de 40 años con concentración de bromadiolone en suero de más de 30 µg/mL (33669 ng/mL) (Marossero *et al.* 2018), en el cual se evidenció que el producto involucrado tenía una concentración de ingrediente activo de casi 20 veces la permitida.

La distribución de los casos con resultado positivo según la edad también fue variable según los países. La

franja etaria más frecuentemente afectada suelen ser los niños (Berny *et al.* 2010; King y Tran 2015; Yan *et al.* 2016; Soleng *et al.* 2022), especialmente la franja etaria de 0 a 9 años, con porcentajes que oscilan entre 28% y 85%, aunque en nuestra casuística, la franja etaria más afectada fue la de 41 a 50 años y los casos en la franja etaria de 0 a 19 años representaron el solo el 11%. La diferencia observada en la frecuencia de intoxicaciones en caso de niños puede relacionarse con la suposición de que los casos que llegaron a nuestro laboratorio fueron los que registraron gravedad moderada a severa, y la mayoría de los casos de intoxicación en niños no suele revestir gravedad (Mullins *et al.* 2000; Shepherd *et al.* 2002; Beriain Rodríguez *et al.* 2008), ya que suelen ser ingestas accidentales de bajas dosis. Por otro lado, nuestros resultados mostraron un claro predominio del género femenino en la mayoría de las franjas etarias, hecho que difiere de otras casuísticas en las cuales predominó el género masculino (Ng *et al.* 2018; CHP 2021), o en las cuales las diferencias entre varones y mujeres no fueron tan marcadas (King y Tran 2015; Yan *et al.* 2016).

La mayoría de los casos con resultado positivo se reconocieron como de etiología intencional, coincidente con algunos de los reportes de otros países (Ng *et al.* 2018), implicando que la mayoría de los pacientes intoxicados ingirió intencionalmente el rodenticida con el propósito de autolesionarse. El porcentaje de casos que no pudieron asociarse a ninguna etiología (muchas veces por falta de información) también fue elevado (37%), evidenciando que la fuente y la causa de la intoxicación no pudieron ser identificadas. Contrariamente, la etiología accidental, predominante en la mayoría de las casuísticas en otros países (King y Tran 2015; Lefebvre *et al.* 2017; D'Silva y Krishna 2019), en este caso representó el tercer lugar.

El seguimiento de la evolución de los casos de intoxicación se realiza mediante la evaluación del coagulograma (la actividad de protrombina [AP], la relación internacional normalizada [RIN] y el tiempo de tromboplastina parcial activado [APTT]). La warfarina y las superwarfarinas inhiben dos enzimas, la vitamina K epóxido reductasa y la vitamina K quinona reductasa. Como consecuencia de esa inhibición, se bloquea el ciclo de regeneración de la vitamina K y se inhibe la activación de los factores de coagulación dependientes de vitamina K. La bibliografía describe a la anticoagulación y al sangrado activo (gingivorragia, epistaxis, equimosis, hematomas, hemoptisis y hematuria) como principales trastornos de la intoxicación (Saracco 2017). En nuestra casuística, más del 80% de los casos positivos presentaron alteraciones de la coagulación y más de 70% presentaron sangrado. En los reportes de los otros países estos efectos estuvieron presentes en porcentajes de entre 2,3% y 94% (King y Tran 2015;

CHP 2021). Es probable que la amplitud de este rango de porcentajes de presencia de manifestaciones bioquímicas y clínicas, se relacione con las dosis de exposición y la etiología, ya que el porcentaje más bajo hace referencia principalmente a intoxicaciones accidentales con bajas dosis en niños. Por otro lado, en nuestra casuística, la mayoría (80%) de los casos con resultado positivo recibió tratamiento con vitamina K1, mientras que la administración de plasma fresco no fue tan frecuente. Las recomendaciones para el tratamiento de las intoxicaciones con raticidas anticoagulantes indican la administración de vitamina K1 en casos de ingestas intencionales, tanto de warfarinas como de superwarfarinas, con coagulograma alterado (Saracco 2017, Greco y Spera 2021), y el tratamiento combinado de vitamina K1 y plasma fresco está recomendado en los casos que presentan anticoagulación y signos de sangrado (Saracco 2017, Greco y Spera 2021). La vía de administración de la vitamina K1 y la dosis a aplicar dependen de los valores de AP y del RIN que presenta cada paciente. En ausencia de riesgo de vida se prefiere la vía oral, y en los casos de mayor gravedad se prefiere la administración por vía intramuscular o subcutánea. La administración por vía intravenosa puede generar reacciones severas de hipersensibilidad o shock anafiláctico, por lo que su uso queda restringido a situaciones donde otras vías de administración parenteral no puedan utilizarse. Las dosis que se administraron a los pacientes incluidos en esta casuística (10 a 200 mg/día) se encuentran dentro de los lineamientos de la Guía de antidotos y tratamiento de intoxicaciones (25 a 250 mg/día) (Greco y Spera 2021). Por otro lado, en aquellos casos de pacientes con exposición accidental a raticidas anticoagulantes, que se presentan asintomáticos y sin alteraciones del coagulograma, no se recomienda la administración de vitamina K1 como tratamiento profiláctico (Caravati *et al.* 2007; Ng *et al.* 2018).

Por último, el brodifacoum se presentó como el principal rodenticida vinculado a los casos graves de intoxicación, lo cual resulta esperable ya que presenta una dosis letal 50 (DL50) (en ratas, *Rattus norvegicus*) de 0,26 mg/kg, cuatro veces más baja que la DL50 del bromadiolone: 1,13 mg/kg (*Rattus norvegicus*) (Chong y Mak 2019). En ese sentido, llaman la atención los casos graves relacionados con la presencia de warfarina, ya que se trata de una hidroxycumarina de primera generación con una vida media de eliminación de horas. Una explicación probable es que estos casos fueran el resultado de exposiciones crónicas a dosis elevadas de warfarina, aunque también debería considerarse el potencial de rebote de toxicidad de la warfarina luego de un episodio de intoxicación aguda. Se informaron casos de pacientes tratados con vitamina K1, por intoxicación aguda con warfarina, quienes normalizaron el RIN y que, días después del alta médica, reingresaron al servicio de salud

con eventos hemorrágicos y un RIN nuevamente elevado (Berling *et al.* 2017, Deaton y Nappe 2023).

## CONCLUSIÓN

Este estudio proporciona una visión amplia y a la vez detallada del perfil epidemiológico y clínico de las intoxicaciones con rodenticidas anticoagulantes en Argentina durante el período 2000-2022. Los hallazgos revelan una baja prevalencia de casos confirmados en comparación con otros países, lo que podría atribuirse a factores como el subregistro o la selección de casos más graves para la derivación al laboratorio toxicológico. La prevalencia de compuestos anticoagulantes y la distribución por género y edad difieren de otras casuísticas, lo cual subraya la variabilidad global tanto en la ocurrencia como en la notificación de estas intoxicaciones. La mayoría de los casos se asociaron con etiología intencional, y las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron la anticoagulación y el sangrado activo. El tratamiento con vitamina K1 fue ampliamente utilizado, de acuerdo con las recomendaciones nacionales e internacionales.

Si bien en muchos casos no es necesaria la identificación y cuantificación de la superwarfarina, la vigilancia y el monitoreo periódico de los niveles de rodenticidas en el suero de pacientes intoxicados permite intervenciones oportunas, y facilita las decisiones acerca del tratamiento de estas intoxicaciones. Estos hallazgos proporcionan información valiosa para mejorar la detección, el manejo y la prevención de las intoxicaciones con rodenticidas anticoagulantes en Argentina y destacan la importancia del registro y de la vigilancia epidemiológica continua para un mejor abordaje de los riesgos que representan estas sustancias.

## BIBLIOGRAFÍA

[ANMAT] Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología. 2022a. Listado de Desinfestantes - Plaguicidas. Venta Libre. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat\\_dominsanitarios\\_4\\_1.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat_dominsanitarios_4_1.pdf). (Consulta: 12 de diciembre de 2023).

[ANMAT] Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología. 2022b. Listado de Insecticidas y Raticidas. Venta Profesional. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/listado\\_de\\_insecticidas\\_y\\_raticidas\\_venta\\_profesional\\_actualizado\\_al\\_12-01-2022.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/listado_de_insecticidas_y_raticidas_venta_profesional_actualizado_al_12-01-2022.pdf). (Consulta: 12 de diciembre de 2023).

Beriain Rodríguez M, Gómez Cortés B, Benito Fer-

nández J, Mintegi Raso S. 2008. Ingesta accidental de superwarfarinas [Accidental ingestion of superwarfarins]. *An Pediatr (Barc)*. 68 (5): 503-6. Spanish. doi: 10.1157/13120051. PMID: 18447998.

Berling I, Mostafa A, Grice JE, Roberts MS, Isbister GK. 2017. Warfarin Poisoning with Delayed Rebound Toxicity. *The Journal of Emergency Medicine*. 52 (2): 194-196. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2016.05.068>.

Berny P, Velardo J, Pulce C, D'amico A, Kammerer M, Lasseur R. 2010. Prevalence of anticoagulant rodenticide poisoning in humans and animals in France and substances involved. *Clinical Toxicology*. 48, 935-941.

Caravati EM, Erdman AR, Scharman EJ, Woolf AD, Chyka PA, Coughlin DJ, Wax PM, Manoguerra AS, Christianson G, Nelson LS, Olson KR, Booze LL, Troutman WG. 2007. Long-acting anticoagulant rodenticide poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol (Phila)*. 45 (1): 1-22. doi: 10.1080/15563650600795487. PMID: 17357377.

[CHP] Centre for Health Protection. 2021. Superwarfarin Poisoning. [Internet] Centre for Health Protection, Department of Health, Government of Hong Kong. Non-communicable Disease Branch, Disease Control. *Poisoning Watch*. 14 (1): 1-13. Disponible en: [https://www.chp.gov.hk/files/pdf/poisoning\\_watch\\_vol\\_14\\_eng.pdf](https://www.chp.gov.hk/files/pdf/poisoning_watch_vol_14_eng.pdf) (Consulta 12 de diciembre de 2023).

Chong YK, Mak TWL. 2019. Superwarfarin (Long-Acting Anticoagulant Rodenticides) Poisoning: from Pathophysiology to Laboratory-Guided Clinical Management. *Clin Biochem Rev*. 40 (4): 175. <https://doi.org/10.33176/AACB-19-00029>.

Deaton JG, Nappe TM. Warfarin Toxicity. 2023 Jul 17. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. PMID: 28613764.

D'Silva C, Krishna B. 2019. Rodenticide Poisoning. *Indian J Crit Care Med*. 23 (Suppl 4): S272-S277. doi: 10.5005/jp-journals-10071-23318. PMID: 32021003; PMCID: PMC6996659.

[EPA] Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. 2013. Rodenticides. [Internet] En: Recognition and Management of Pesticide Poisonings. Sixth Edition. Eds. Roberts JR, Reigart JR. Washington DC. Chapter 18, 173. Disponible en: [https://www.epa.gov/sites/default/files/documents/rmpp\\_6thed\\_ch18\\_rodenticides.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/documents/rmpp_6thed_ch18_rodenticides.pdf). (Consulta 20 de diciembre de 2023).

Greco V, Spera M. 2021. Vitamina K1. Fitomenadiona. En: Díaz MH, Greco V. Guía de antidotos y tratamiento en intoxicaciones. 2da edición. Ituzaingó, Buenos Aires, Argentina. 157 p. ISBN 978-987-88-0213-8. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/04/guia\\_toxico\\_-\\_antidotos\\_hospital\\_posadas.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/04/guia_toxico_-_antidotos_hospital_posadas.pdf). (Consulta 12 de diciembre 2023).

InfoStat versión 2018 (Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2018. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

King N, Tran MH. 2015. Long-Acting Anticoagulant Rodenticide (Superwarfarin) Poisoning: A Review of Its Historical Development, Epidemiology, and Clinical Management. *Transfusion Medicine Reviews*. 29: 250–258.

Lefebvre S, Fourel I, Queffélec S, Vodovar D, Mégarbane B, Benoit E, Siguret V, Lattard V. 2017. Poisoning by Anticoagulant Rodenticides in Humans and Animals: Causes and Consequences. [Internet] En: Poisoning - From Specific Toxic Agents to Novel Rapid and Simplified Techniques for Analysis, Malangu N (Ed.). InTech; 2017. doi: 10.5772/intechopen.69955.

Marossero M, Falguera F, Quevedo MG, Parot Varela M, Olivera NM, Ridolfi AS, Olmos V. 2018. Combined superwarfarin poisoning with extremely high levels of bromadiolone. *Current Topics in Toxicology*. 14: 89-93.

Mullins ME, Brands CL, Daya MR. 2000. Unintentional pediatric superwarfarin exposures: do we really need a prothrombin time? *Pediatrics*. 105 (2): 402-4. doi: 10.1542/peds.105.2.402. PMID: 1065496.3.

Ng WY; Ching CK; Chong YK; Ng SW; Cheung WL; Mak TWL. 2018. Retrospective Study of the Characteristics of Anticoagulant-Type Rodenticide Poisoning in Hong Kong. *Journal of Medical Toxicology*. 14: 218–228.

Nosal DG, van Breemen RB, Haffner JW, Rubinstein I, Feinstein DL. 2021. Brodifacoum pharmacokinetics in acute human poisoning: implications for estimating duration of vitamin K therapy. *Toxicol Commun*. 5 (1): 69-72. doi: 10.1080/24734306.2021.1887637. Epub 2021 Mar 1. PMID: 33768191; PMCID: PMC7990043.

Olmos V, Lenzken SC, Paz M, Olivera NM, Domínguez S, López CM, Roses OE. 2004. Cuantificación de Brodifacoum, Bromadiolone y Difenacoum en Suero Humano por HPLC con Detección Ultravioleta y Fluorométrica. *Acta Toxicol Argent*. 12 (1): 9-14.

Saracco AS. 2017. Recomendaciones para la atención de las intoxicaciones por raticidas anticoagulantes. Departamento de Toxicología. [en línea]. Ministerio de Salud, Provincia de Mendoza. Disponible en: <https://www.mendoza.gov.ar/wp-content/uploads/sites/7/2017/11/Recomendaciones-Intoxicaci%C3%B3n-Rodenticida-Anticoagulantes.pdf>. (Consulta 20 de diciembre de 2023).

Shepherd G, Klein-Schwartz W, Anderson BD. 2002. Acute, unintentional pediatric brodifacoum ingestions. *Pediatr Emerg Care*. 18 (3): 174-8. doi: 10.1097/00006565-200206000-00006. PMID: 12066002.

Simmons SC, Taylor LJ, Marques MB, Williams LA. 2018. Rat Poisoning: A Challenging Diagnosis with Clinical and Psychological Implications, *Laboratory Medicine*. 49 (3): 272–275. <https://doi.org/10.1093/labmed/lmx093>.

Soleng A, Edgar KS, von Krogh A, Seljetun KO. 2022. Suspected rodenticide exposures in humans and domestic animals: Data from inquiries to the Norwegian Poison Information Centre, 2005-2020. *PLoS One*. 17 (12): e0278642. doi: 10.1371/journal.pone.0278642. PMID: 36480523; PMCID: PMC9731470.

Yan H, Zhu L, Zhuo X, Shen M, Xiang P. 2016. Anticoagulant rodenticide intoxication in east China: a three-year analysis. *Forensic Sciences Research*. 1 (1): 22–27. <https://doi.org/10.1080/20961790.2016.1242042>.

## Use of norway rats as sentinel species in a contaminated urban basin: exploring the relationship between environmental lead and cerebellar cytoarchitecture

### Uso de la rata noruega como especie centinela en una cuenca urbana altamente contaminada: explorando la relación entre el plomo ambiental y la citoarquitectura cerebelosa

Scaltritti, Martin\*<sup>1</sup>; Tripodi, Mariel A.<sup>1</sup>; Pandolfi, Matias<sup>2†</sup>; Muschetto, Emiliano<sup>1</sup>; Hancke, Diego<sup>1</sup>; Suárez, Olga V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología de Roedores Urbanos, DEGE - IEGEBA (UBA-CONICET). <sup>2</sup>Laboratorio de Neuroendocrinología y Comportamiento en Peces y Anfibios, DBB- IBBEA (UBA - CONICET).

\* [martinscaltritti@gmail.com](mailto:martinscaltritti@gmail.com)

Recibido: 29 de agosto de 2024

Aceptado: 21 de diciembre de 2024

Editor: Gabriela Rovedatti

**Abstract.** Norway rats (*Rattus norvegicus*) have been used extensively as sentinels in environmental studies of lead exposure. This metal can affect every organ in the body, mainly the nervous system. The Matanza-Riachuelo Basin (MRB) is one of the most polluted basins in the world and presents a gradient of toxic metal contamination along its length. The overall goal of this study was to determine the relationship between environmental lead concentration and changes in the cerebellar cytoarchitecture of *R. norvegicus*. Six capture sites located in the MRB were characterized with soil and water presence and nine morphological variables were measured in the cerebellum of thirty-two rats to evaluate cytological damage. The number of cells per area of the molecular layer was negatively associated with the concentration of lead in the kidney and with age. Also, a negative association was found between the nucleus-to-cytoplasmic ratio of Purkinje cells and the concentration of lead in the soil of the study sites. The results obtained in this study show that lead contamination in the MRB could produce changes in the cytoarchitecture of the cerebellum of the rats living there. Despite the inherent limitations of studying wild rats, this work sheds light on how concentrations of lead lower than those used in experimental works can still generate effects on cerebellar cytoarchitecture.

**Key words:** Norway rat; Heavy metals; Pollution; Cytoarchitecture; Ecotoxicology.

**Resumen.** La rata noruega (*Rattus norvegicus*) ha sido utilizada extensivamente como especie centinela en los estudios medioambientales sobre exposición al plomo. Este metal puede afectar a todos los órganos del cuerpo, principalmente al sistema nervioso. La Cuenca Matanza-Riachuelo (CMR) es una de las cuencas más contaminadas del mundo y presenta un gradiente de contaminación por metales tóxicos a lo largo de su extensión. El objetivo general de este estudio fue determinar la relación entre la concentración ambiental de plomo y los cambios en la citoarquitectura cerebelosa de *R. norvegicus*. Se caracterizaron seis puntos de captura situados en la CMR con presencia de plomo en suelo y agua y se midieron nueve variables morfológicas en el cerebelo de treinta y dos ratas para evaluar el daño citológico. El número de células por área de la capa molecular se asoció negativamente con la concentración de plomo en el riñón y con la edad. Asimismo, se encontró una asociación negativa entre la relación núcleo-citoplasma de las células de Purkinje y la concentración de plomo en el suelo de los lugares de estudio. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la contaminación por plomo en la CMR podría producir cambios en la citoarquitectura del cerebelo de las ratas que allí viven. Teniendo en cuenta las limitaciones inherentes al estudio de ratas salvajes, este trabajo arroja luz sobre cómo concentraciones de plomo inferiores a las utilizadas en trabajos experimentales pueden aún generar efectos sobre la citoarquitectura cerebelosa.

**Palabras clave:** Rata noruega; Metales pesados; Contaminación; Citoarquitectura; Ecotoxicología.

## INTRODUCTION

Lead is one of the most abundant and toxic metals on earth, affecting practically all organs and systems of the human body being unable to be transformed to harmless forms (Sanín *et al.* 1998). We have been using Pb for centuries in multiple applications such as pigments, makeup, batteries, fuel additives, glass, electronic components, paints, etc. (White *et al.* 2007). Lead is a key metal pollutant introduced by human activities into soil. Although lead use has been drastically reduced worldwide in the last decades, we still have significant morbidity (Rezaee *et al.* 2022) and mortality, causing more than one million deaths in 2017 (Meyer *et al.* 2008; WHO 2018; IHME 2019). Lead poisoning is still a serious problem in the USA, where blood Pb levels  $\geq 5 \mu\text{g/dL}$  and  $\geq 10 \mu\text{g/dL}$ , in children, increases in a stepwise fashion for poor neighborhoods with housing built pre-1950 (Hauptman *et al.* 2023).

Lead seriously affect the nervous system (Clasen *et al.* 1974; Holtzman *et al.* 1987; Florea and Büsselberg 2006; White *et al.* 2007; Naqi 2015; Nesta *et al.* 2016; Balza *et al.* 2022; Hauptman *et al.* 2023) causing ataxia, impaired neurological development, and fetal growth, learning difficulties, attention disorders, behavioral issues, coma, seizures, and hyperirritability (ATSDR 2007; Balza *et al.* 2022). In the nervous system, one of the regions with great susceptibility to the toxic effects of lead is the cerebellum (Fonnum and Lock 2000), where the reduction of cell density and alterations in cell shape and size in its layers were observed in experimental studies with high doses of lead (Mcconnell *et al.* 1979; Lorton and Anderson 1986; Patrick and Anderson 2000; Sidhu and Nehru 2004; Naqi 2015). Sidhu and Nehru (2004) emphasized various factors related to lead toxicity which can affect the normal cytoarchitecture of the cerebellum, causing disturbances in its normal functions. Among these factors are mentioned the integrity of the blood-brain barrier, the role of lead-binding proteins, the presence of many cellular scavengers, the disturbance of redox enzyme systems such as glutathione and the induction of stress and oxidative damage (Adonaylo and Oteiza 1999), all detrimental to cell survival (Zelikoff *et al.* 1988).

The Matanza-Riachuelo Basin (MRB), Argentina, is one of the most polluted basins in the world (Bernhardt and Gysi 2013) and metals, like lead, represent the most common heavy metal pollutants (Ronco *et al.* 2008; Mendoza *et al.* 2015). This basin is one of the most urbanized and industrialized areas in the country with more than 16,000 settled industries, and four million residents, living in precarious conditions, with unhealthy sanitary practices, exposed to severe environmental pollution (INDEC 2010; Johnson 2015). Studies conducted by Matanza-Riachuelo Basin Au-

thority (Autoridad de Cuenca Matanza-Riachuelo, ACUMAR) reported that residents of MRB neighborhoods are exposed to environmental lead with blood lead values above the CDC blood lead reference of 3.5 micrograms per deciliter ( $\mu\text{g/dL}$ ) (CDC lead blood references in children, 2021).

To assess the human risk of exposure to metals, the use of animal species as sentinels is useful (Timbrell 1998; Ceruti *et al.* 2002; Sures 2003; Vidal-Martínez and Wunderlich 2017). Sentinel species serve as early warning indicators, providing advance notice of emerging environmental issues that may impact both the ecosystem and human wellbeing (O'Brien *et al.* 1993). We previously reported that rats (*Rattus norvegicus*) are a good sentinel species of lead contamination in urban ecosystems (Tripodi *et al.* 2020 a, b). We found that rats captured in the MRB were chronically exposed to lead, and they had bioaccumulation of this metal in their soft tissues (liver and kidney) and genotoxic damage, both strongly associated with environmental lead (Tripodi *et al.* 2020 a, b). Based on these results, the aim of this study was to evaluate lead-related damage in the cerebellum of *R. norvegicus* captured in the MRB.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area

The MRB is located in the Province of Buenos Aires and is bordered to the south by the City of Buenos Aires, Argentina. It has an area of 2,047 km<sup>2</sup>, 22% of which corresponds to urban areas and 55% to rural areas (Faggi and Breuste 2015). The most urbanized and industrialized area of the MRB is located near the mouth of the basin in the La Plata River (Mendoza *et al.* 2015). The main industries located in this area are tanneries, meat-processing plants, chemical, and metallurgical industries (Malpartida 2003). Moving away from these industrialized areas, there is a transition to a mixed urban-rural landscape (ACUMAR 2018), becoming a landscape with predominant agro-industrial activities. This urban-rural pattern is consistent with the gradient from the highest values of environmental lead in the lower basin and lower values towards the middle and high basins (Tripodi *et al.* 2021).

### Rodent trapping

Thirty-two rats (*Rattus norvegicus*) (Table 1) were captured between July and September 2014 at 6 sites located along the MRB (sites named S1 to S6) (Figure 1). Rats were captured using live cage traps as described in Tripodi *et al.* (2020, b). Traps were placed

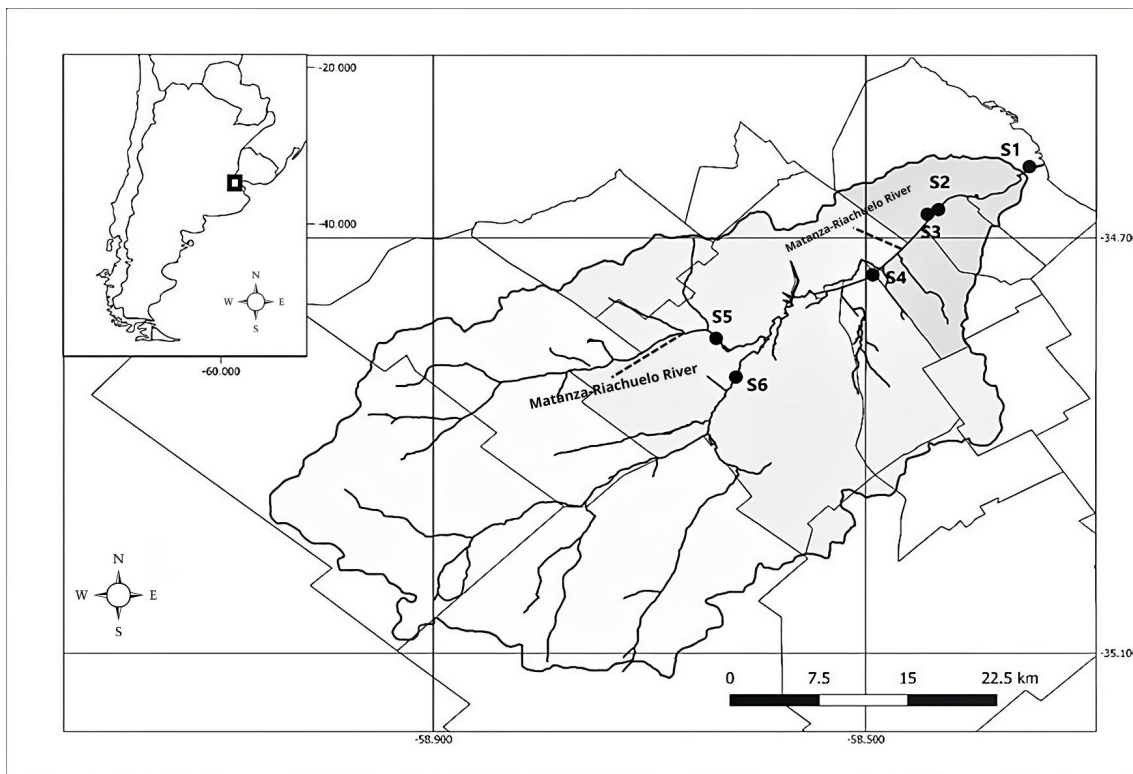
**Table 1.** Morphometric and lead concentration in organs and environment data from the 32 *Rattus norvegicus* specimens used in this study.

ID	Site	Sex	Age (Days)	Weight (g)	Body length (cm)	Pb Kidney ( $\mu\text{g/g}$ )	Pb Liver ( $\mu\text{g/g}$ )	Pb Water (mg/L)	Pb Soil ( $\mu\text{g/g}$ )
1	S1	Female	196	236	19	13.268	0.789	0.0125	404.4
2	S1	Male	104	256	19	6.041	0.01	0.003	116.0
3	S1	Female	95	288	19.5	7.831	1.449	0.0125	404.4
4	S1	Female	66	71	15	4.103	0.161	0.0465	96.9
5	S1	Female	112	271	22	6.904	0.01	0.0465	96.9
6	S1	Male	169	287	22	0.17	1.831	0.013	404.43
7	S1	Female	99	66	14.1	1.310	0.025	0.005	5.80
8	S1	Male	176	497	26	3.758	0.19	0.0035	197.5
9	S1	Female	121	148	19	1.774	0.01	0.003	116.0
10	S1	Female	188	134	15	6.686	0.436	0.0125	404.4
11	S1	Female	45	55	13.8	0.298	0.01	0.013	404.43
12	S2	Female	226	266	21	4.136	0.259	0.0125	404.4
13	S3	Male	178	233	20	37.745	0.204	0.003	116.0
14	S2	Female	43	238	22.7	7.99	0.438	0.0125	404.4
15	S3	Male	235	71	14.1	1.315	0.01	0.005	5.80
16	S2	Female	44	300	20	10.094	0.663	0.0125	404.4
17	S2	Male	28	34	11	3.121	0.041	0.008	31.3
18	S2	Male	352	111	17.1	13.748	0.161	0.0465	96.90
19	S3	Female	139	405	24	3.095	0.077	0.0035	197.5
20	S3	Female	95	92	15	1.401	0.025	0.005	5.80
21	S4	Male	178	298	23	1.655	0.01	0.003	116.0
22	S4	Male	269	282	23.4	2.798	0.738	0.0125	404.4
23	S4	Male	203	112	18.5	13.639	0.255	0.0465	96.9
24	S4	Male	202	249	21	25.123	0.465	0.0035	197.5
25	S4	Female	400	531	24.5	1967	0.19	0.005	5.80
26	S5	Male	483	270	20.5	1.600	0.107	0.0125	404.4
27	S5	Male	21	287	22	0.549	1.831	0.0125	404.4
28	S5	Male	20	35	11	0.438	0.079	0.008	31.3
29	S6	Male	15	35	11	0.157	0.079	0.005	31.25
30	S6	Male	22	301	22.4	2.687	0.098	0.0035	197.5
31	S5	Female	27	55	13.8	1.028	0.010	0.0125	404.4
32	S5	Male	29	67	13.5	1.226	0.010	0.005	5.80

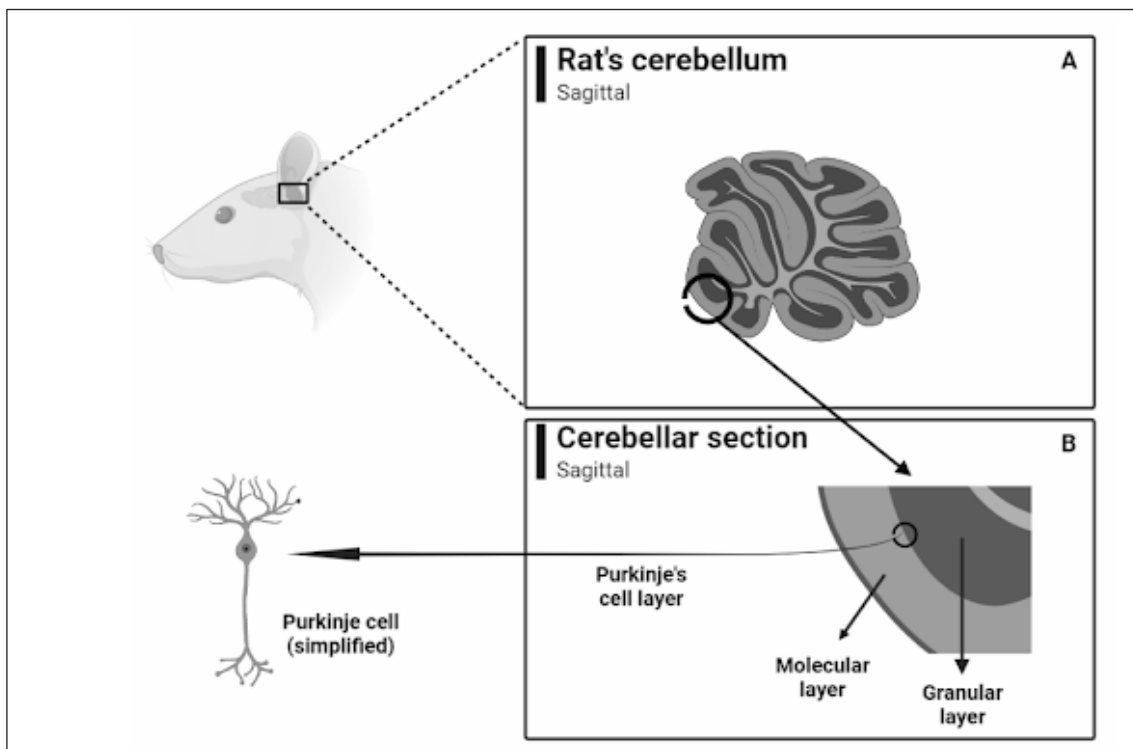
in transects close to the shores of the watercourses and had been monitored every morning for four consecutive days. The animals were anesthetized with ketamine (40 mg/kg) and acepromazine (2.5 mg/kg), weighed, measured, and sexed. Age was estimated using the paired eye-lens weight of the crystalline according to the equation proposed by Hardy *et al.* (1983). Kidney and liver samples were taken from each specimen to quantify lead concentrations (Table 1).

### Tissue preparation

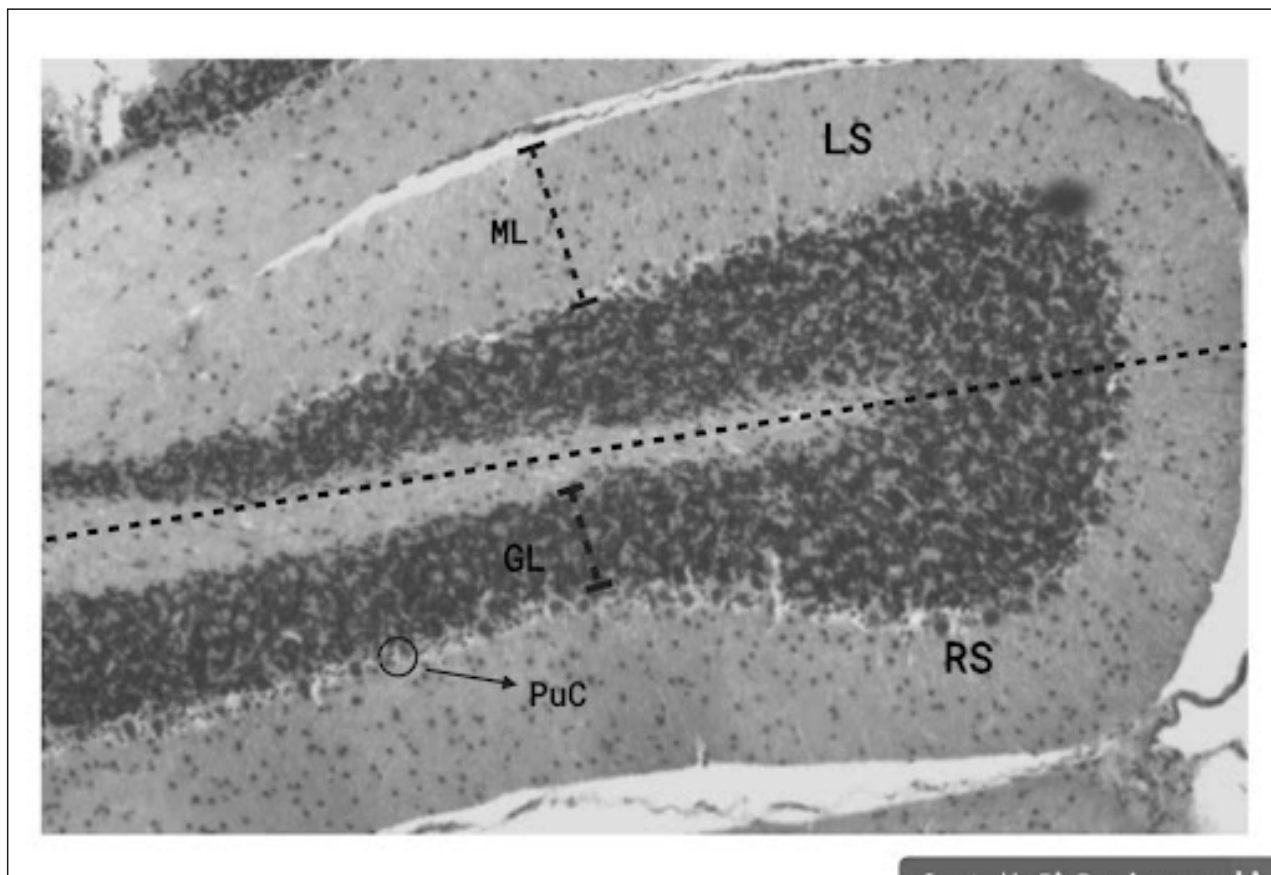
Immediately after sacrifice in the capture site, the brain was removed and fixed by immersion in 4% formaldehyde for 48 hours and then preserved in 70% ethanol for further analysis. The cerebellum has a simple structure composed of three layers: molecular layer, Purkinje cell layer, and the granular layer (Fonnum and Lock 2000) (Figure 2B, Figure 3). The cerebellum



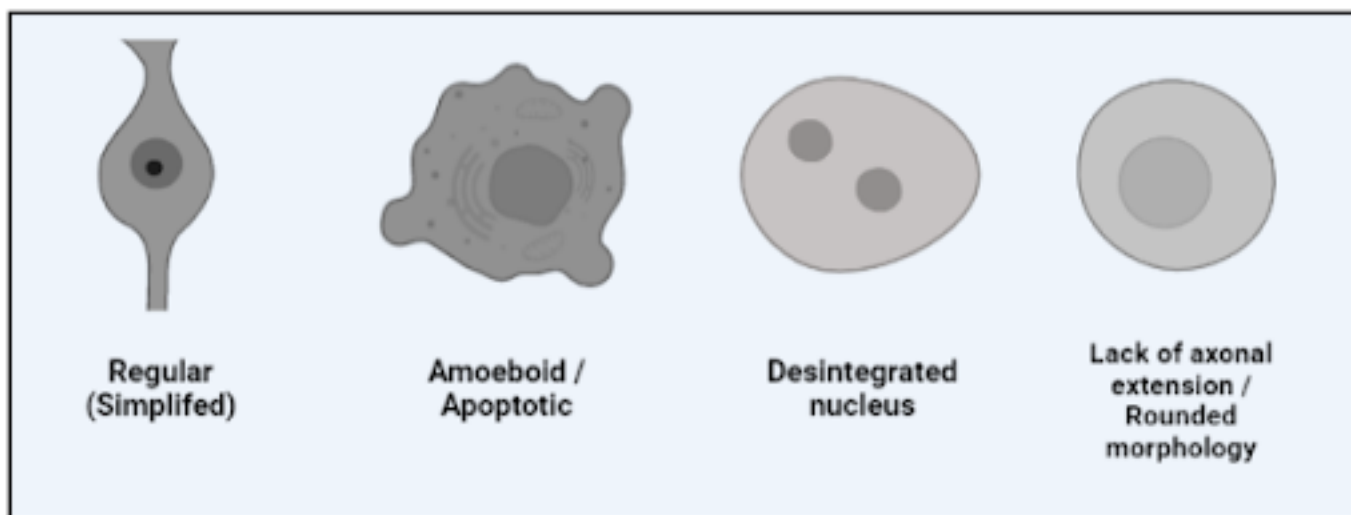
**Figure 1.** Location of rat's sampling sites (S1 to S6, according to Table 1) in the Matanza-Riachuelo Basin (MRB), indicating main course of Matanza-Riachuelo River (MRR).



**Figure 2.** A) Schematic sagittal view of rat cerebellum. B) Schematic cerebellar section identifying the three cerebellar layers: molecular layer (mainly cellular prolongations with a small number of small neurons and glial cells), granular layer (which contains numerous neurons, together with a smaller number of other types of neurons, the Golgi cells), and Purkinje mono cell layer. The structure of a Purkinje cell is shown simplified.



**Figure 3.** Light microscopy photograph of a cerebellar ridge, with Hematoxylin staining. ML= Molecular Layer. GL= Granular layer. PuC= Purkinje cell monolayer. RS= Right side. LS= Left side. (4X magnification) (Edited with Biorender App).



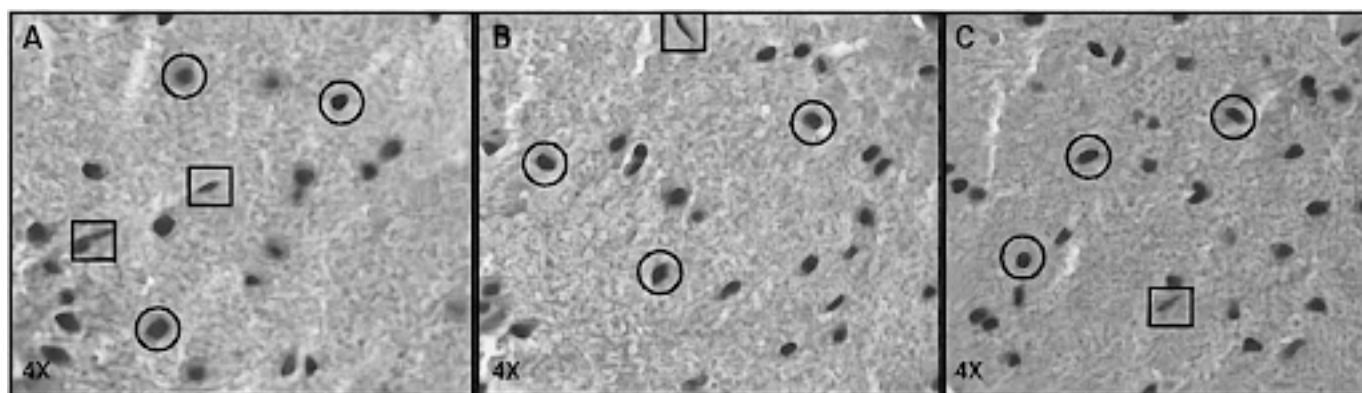
**Figure 4.** Schematic of Purkinje cells showing regular cell morphology and the anomalies considered in this study: amoeboid or apoptotic cells, disintegrated nucleus, lack of detectable axonal extension, and rounded shape (Made with Biorender App).

from each rat was embedded in paraffin and sectioned into 10- $\mu$ m thick slices (Figure 2A). Four consecutive sections, each separated by 40- $\mu$ m, were stained with hematoxylin (Fischer *et al.* 2008). In each section, 468 photographs were taken using an Olympus CX31 optical microscope, equipped with a Q-Imaging GO-3 camera and Q-Capture Pro 6.0 licensed software. For image analysis of molecular and granular layer widths, 4X magnification was used, while for the rest of the variables, photographs were taken at 40X magnification. Photographs at 40X mag were taken from right to left, with a movement of 250  $\mu$ m between photographs. The measurement and determination of the variables were performed using ImageJ 1.8.0 software.

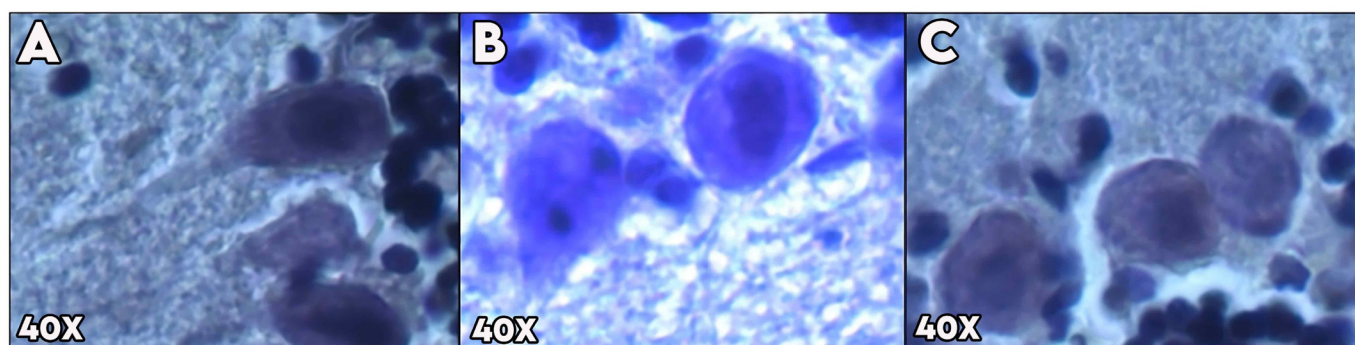
The parameters evaluated in each photograph included: Molecular and granular layer widths; molecular layer cell density; average nuclear and cytoplasmic area of Purkinje cells; nucleus-to-cytoplasmic (N:C)

ratio of Purkinje cells; average cell area of molecular and granular layer; and number of abnormal Purkinje cells. The abnormalities include irregular shapes, disintegrated nucleus, lack of axonal extension, and spherical or amoeboid shape (Figure 4).

Without making a distinction between the various cell types, all cells with circular or elliptical morphology visible under hematoxylin staining were counted to determine the molecular layer's cell density (Figure 5). Within the molecular layer of the cerebellum, a variety of distinctive cell types coexist, including basket cells, stellate cells, an expansive array of parallel fibers originating from the granule cell layer, as well as the flattened dendritic arbors of Purkinje cells. Due to the limitations of hematoxylin staining in distinguishing all these specific cell populations, the present study focused on quantifying the overall cell density of all cells exhibiting a circular or elliptical morphology that were visible with this histological technique (Figure 6).



**Figure 5.** Light microscopy photographs of molecular layer cells at 4x magnification. Circles indicate examples of cells counted and squares indicate cells with morphology not considered for analysis. Images were taken from rats captured in S1, S2 and S3 respectively.



**Figure 6.** Light microscopy photographs of Purkinje cells with Hematoxylin staining from *R. norvegicus* captured in MRB. (A) Purkinje cell of regular morphology (40X magnification). (B) Shows a cell with a disintegrated nucleus (left) and a cell without detectable axonal extension (right). (C) Cells with "amoeboid" and rounded morphology (40X magnification). Image A was taken from a rat captured in S3. Images B and C were taken from rats captured in S2.

## Statistical analyses

The data on environmental lead concentrations in surface water and soil (Table 2) and lead concentrations in the organs of the analyzed rats were obtained from a previous study carried out by Tripodi *et al.* (2020 b). The association between the variables measured in the cerebellum of *R. norvegicus* from the six sampling sites and environmental and rat characteristics were analyzed using Generalized Linear Mixed Models. Nine models were performed, one for each dependent variable (Molecular and granular layer widths, molecular layer cell density, average nuclear and cytoplasmic area of Purkinje cells, N:C ratio of Purkinje cells, average cell area of molecular and granular layer, and number of abnormal Purkinje cell). The explanatory variables in each model were environmental lead val-

ues of water and soil, characteristics of the captured rats (length, age, weight, sex, reproductive status), and the lead concentration in their liver and kidney. Random factors included, capture site (S1 to S6), rat identification number (1 to 32), and photographic analysis variables (Cerebellar section and ridge, side, photo number). Different types of probability distributions were used to model the dependent variables, including Normal distribution for molecular and granular layer widths, average nuclear and cytoplasmic area of Purkinje cells, and average cell area of molecular and granular layer; Poisson distribution for molecular layer cell density; Beta distribution for N:C ratio of Purkinje cells; and Bernoulli distribution for number of abnormal Purkinje cell. The final model was chosen based on the lowest Akaike's information criterion (AIC) and the fewest explanatory variables.

**Table 2.** Average lead concentration in water, soil, and organs of *R. norvegicus* captured at each sampling site. Data extracted from Tripodi *et al.* (2020 b). The EPA maximum contaminant level for lead in drinking water is 0.015 mg/L (Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention (ACCLPP), 2012). The Canadian Council of Ministers of the Environment stipulates the limit levels of lead in soil for agricultural, residential, commercial, and industrial use at 70, 140, 260 and 600 mg/kg respectively (Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999).

Site	n	Lead concentration			
		Water (mg/L, Mean ± SD)	Soil (mg/kg, Mean ± SD)	Kidney (µg/g, Mean ± SD)	Liver (µg/g, Mean ± SD)
S1	11	0.017 ± 0.016	241.0 ± 162.3	4.74 ± 3.94	0.45 ± 0.64
S2	5	0.018 ± 0.016	268.3 ± 187.8	7.82 ± 4.36	0.31 ± 0.24
S3	4	0.004 ± 0.001	81.3 ± 93.3	2.40 ± 1.23	0.08 ± 0.09
S4	5	0.014 ± 0.019	164.1 ± 150.6	9.04 ± 10.29	0.33 ± 0.28
S5	5	0.010 ± 0.003	250.1 ± 211.5	0.97 ± 0.48	0.41 ± 0.80
S6	2	0.006 ± 0.003	114.4 ± 117.6	1.42 ± 1.79	0.09 ± 0.01

All statistical analyses were performed using the R program version 4.0.3 with the nlme version 3.1-157 package used for models with Normal distribution, lme4 version 1.1-29 for models with binomial and Poisson distributions, and glmmTMB version 1.1.3 for a model with Beta distribution. These packages were chosen for their ability to handle mixed-effects models with different probability distributions for the dependent variables.

## RESULTS

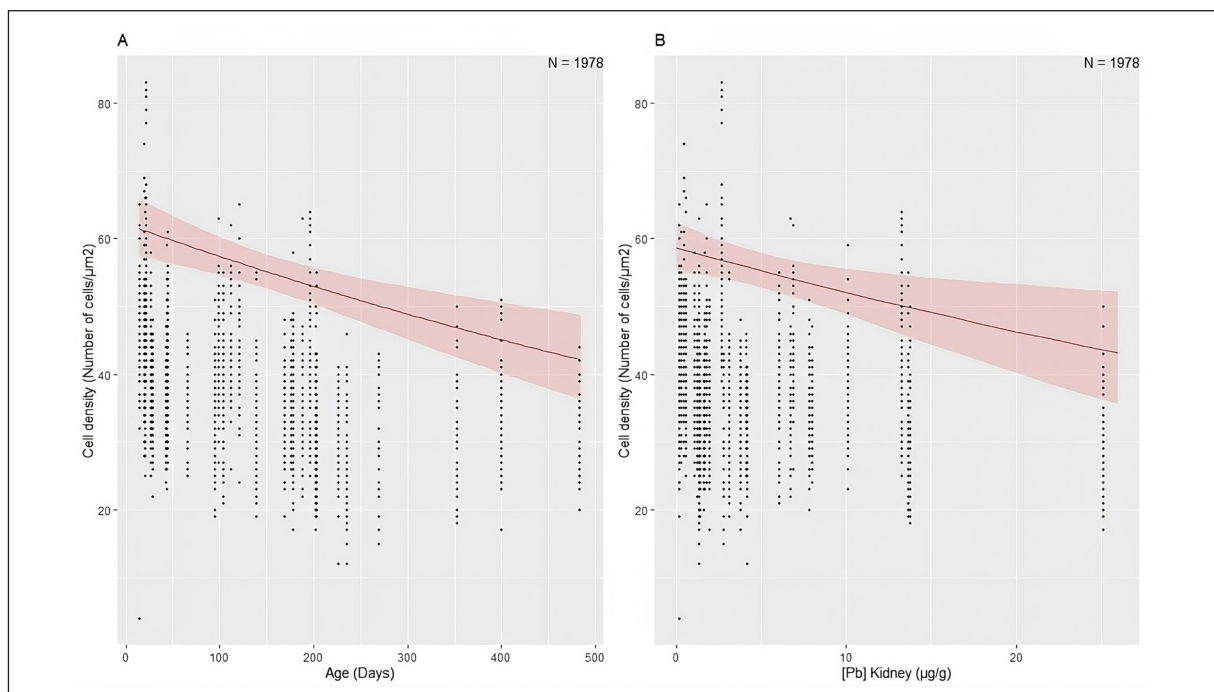
The sites closest to the mouth of the Matanza-Riachuelo Basin (S1 and S2) presented the highest average values in molecular and granular layer width (Table 3),

the smallest average granular and molecular layer cell size in the cerebellum and the highest percentage of Purkinje cells with anomalies (28.4%) (Figure 6). On the other hand, the highest average cell density of the molecular layer and the highest average N:C ratio of Purkinje cells were found in the rats at the site farthest away from the mouth of the MRB (S6).

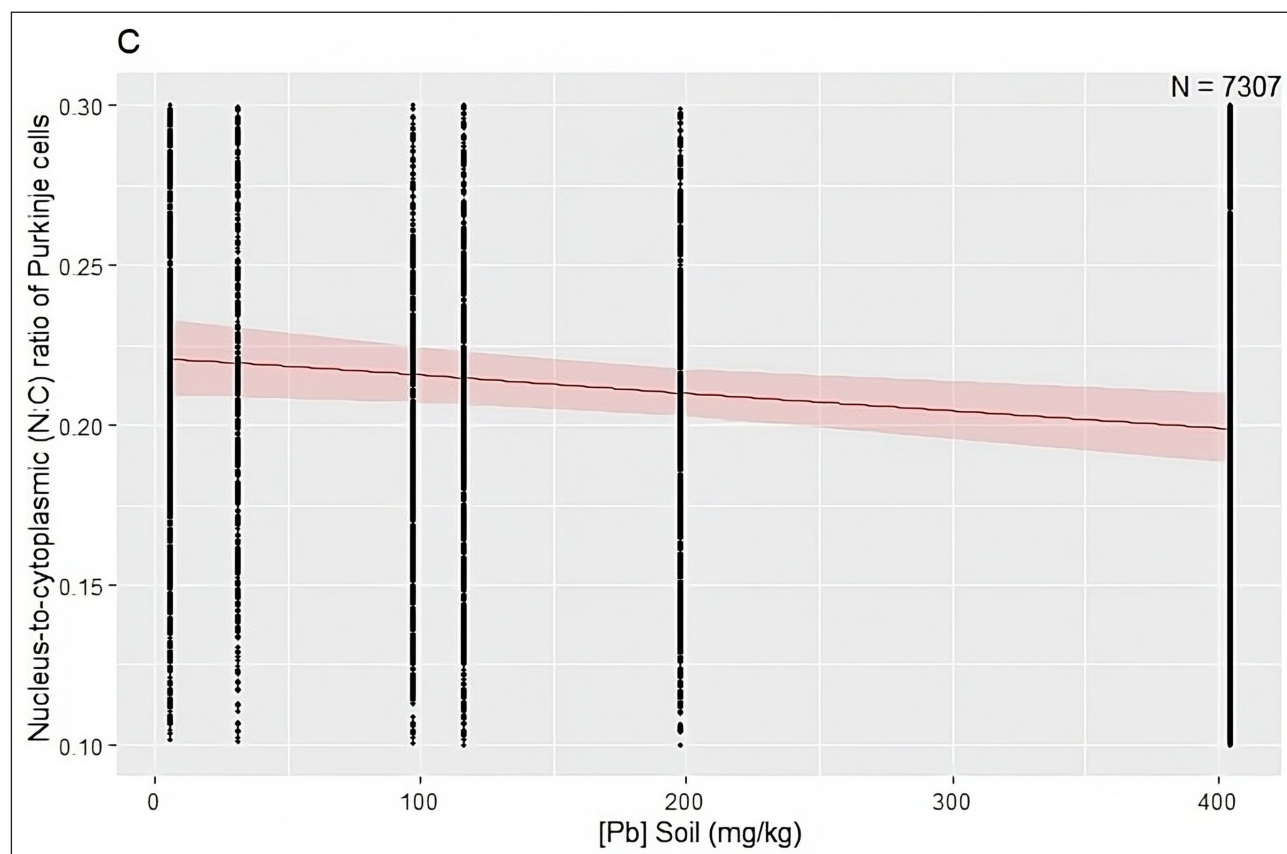
The cell density of the molecular layer was negatively associated with the concentration of lead in the kidney and with the age of the rats captured in the MRB (P value < 0.05) (Figure 7). In addition, the average N:C ratio of Purkinje cells of the rats captured in the CMR was negatively associated with soil lead concentration of the sampling sites (P value < 0.05) (Figure 8).

**Table 3.** Comparative cerebellar evaluation in the specimens of *R. norvegicus* captured in the MRB for each sampling site (S1 to S6). Values represent mean ± SD (S1 to S6).

Variable	Site					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Molecular layer width (µm, Mean ± SD)	168.4 ± 35.9	186.9 ± 35.9	167.5 ± 36.4	174.7 ± 35.8	158.6 ± 33.4	151.0 ± 37.4
Granular layer width (µm, Mean ± SD)	109.4 ± 33.3	128.5 ± 32.2	124.6 ± 33.5	122.8 ± 32.6	112.7 ± 32.1	117.3 ± 35.0
Molecular layer cell density (Number of cells. µm <sup>-2</sup> , Mean ± SD)	0.0021 ± 0.0005	0.0019 ± 0.0005	0.0017 ± 0.0005	0.0018 ± 0.0005	0.0023 ± 0.0005	0.0027 ± 0.0006
Nucleus-to-cytoplasmic (N:C) ratio of Purkinje cells (Mean ± SD)	0.19 ± 0.07	0.22 ± 0.08	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.24 ± 0.07
Purkinje cell nucleus area (µm <sup>2</sup> , Mean ± SD)	25.95 ± 12.5	32.06 ± 13.07	34.84 ± 12.37	32.25 ± 12.8	34.55 ± 12.54	38.77 ± 12.1
Purkinje cytoplasmic area (µm <sup>2</sup> , Mean ± SD)	138.24 ± 37.4	148.1 ± 35.5	159.7 ± 37.6	151.8 ± 36.6	157.7 ± 37.2	161.3 ± 37.0
Abnormal Purkinje cells proportion (Abnormal cells.total cells <sup>1</sup> , Mean ± SD)	0.114 ± 0.317	0.284 ± 0.451	0.127 ± 0.333	0.232 ± 0.422	0.100 ± 0.301	0.037 ± 0.189
Molecular layer cell area (µm <sup>2</sup> , Mean ± SD)	16.98 ± 4.78	17.85 ± 4.73	20.01 ± 5.24	21.5 ± 5.81	18.71 ± 4.57	20.4 ± 5.55
Granular layer cell area (µm <sup>2</sup> , Mean ± SD)	10.27 ± 3.33	10.12 ± 2.46	12.84 ± 3.37	12.90 ± 3.55	10.55 ± 2.76	14.4 ± 4.47



**Figure 7.** Relation between molecular layer cell density (Number of cells/µm) and age (P value < 0.05) (A) and kidney lead concentration (µg/g) (P value < 0.05) in *R. norvegicus* individuals captured in the MRB (B) Red areas indicate the confidence interval. Upright the number of observations is indicated.



**Figure 8.** Relation between nucleus-to-cytoplasmic (N:C) ratio of Purkinje cells and soil lead concentration at sampling sites (P value < 0.05). Red areas indicate the confidence interval. Upright the number of observations is indicated.

## DISCUSSION

In this work, we found that rats of the MRB showed cytoarchitecture changes in their cerebellum associated with lead exposure. First, the concentration of lead in the kidneys was negatively associated with the cell density in the molecular layer of the cerebellum of rats living in the MRB.

Cell loss is one of the most documented effects of lead poisoning in the CNS (Sidhu and Nehru 2004; Mousa *et al.* 2015; Naqi 2015), and according to Adonaylo and Oteiza (1999), a reduction in cell density in the molecular layer may be caused by cell death due to oxidative stress caused by chronic lead exposure. Although Ma (1996) suggests a critical value of 25  $\mu\text{g/g}$  of lead in the kidneys in wild mammals for diagnosing chronic lead exposure in natural environments, the lead values in the kidneys of the specimens used in this study did not exceed 9  $\mu\text{g/g}$ . Despite this, it was still sufficient to cause changes in the cellular density of the cerebellum. Naqi (2015) and Mousa *et al.* (2015) found similar results in experimental studies where the administration of high doses of lead in rats resulted in a reduction in the cell density of the molecular layer of the cerebellum.

This result could imply that high concentrations of bioavailable lead in natural environments can generate changes in the cell density of the cerebellum even at concentrations much lower than those administered experimentally.

Additionally, a negative association was found between the cell density of the molecular layer of rat's cerebellum and their age. There is a well-documented reduction in cerebellar volume and loss of cells in the different layers of the cerebellum, particularly Purkinje cells, as individuals age (Andersen *et al.* 2003; Andersen 2004). This correlation could be because, as individuals age, there is a reduction in the efficiency of cerebellar functioning in general, explained by a reduction in the integration of information in the senescing cerebellum. On the other hand, as Purkinje cells are the final destination of the afferent pathways of the cerebellar cortex (Purves *et al.* 2001), their loss could affect the cell density of the other layers. Our finding is consistent with the results reported by Zhang *et al.* (2006), who found a negative correlation between age and cell density in all three layers of the cerebellum in mammals. Under normal conditions, the N:C ratio is relatively

constant for each tissue, cell type and species (Stevenson 1935), making it an important indicator in the determination and analysis of atypia and malignancy in cells (Vaickus and Tambouret 2015; Moore *et al.* 2019). We found that the N:C ratio of Purkinje cells was negatively associated with soil lead concentration at the sampling sites. This could be a cellular response due to lead poisoning, causing either atrophy of the nucleus, an increase in total volume (McConnell *et al.* 1979) due to increased cytoplasmic activity, or both simultaneously, which could explain the negative association found in our study. However, no relationship was found between lead in soil and changes in neither nuclear nor total area of Purkinje cells separately. Previous studies have found contradictory results in the relationship between lead concentration and changes in cytoplasmic and nucleus size in Purkinje cells. For example, Naqi (2015) showed that the administration of high doses of lead in rats caused degenerating and decreasing in total size of Purkinje cells, while McConnell *et al.* (1979) found a swelling/increasing in the size of Purkinje cells with higher concentrations of lead. These conflicting results could be due to differences in the doses of lead administered, in timing and duration of exposure, or there could be threshold concentrations of lead above which one or the other effect occurs. In addition, it could also be due to the methodology used for tissue fixation, so these results must be taken with caution. Future studies should consider perfusion of the animals instead of formaldehyde fixation, for example, to prevent possible volumetric changes associated with cell death. Future investigations employing more specialized staining methods will be necessary to provide a deeper assessment of how lead exposure impacts the distinct cellular types within the molecular layer of the cerebellum.

More studies are needed to clarify the effects of lead in the nuclear and cytoplasmic area of Purkinje cells (and therefore the N:C ratio). Previous research by our group had shown that the lead concentrations in soft tissues (kidney and liver) of *R. norvegicus* were a good indicator of lead contamination in water and soil in the MRB (Tripodi *et al.* 2020 b). Lead in MRB is therefore bioavailable, and this study's results indicate that there is enough lead in soft tissues to affect the cytoarchitecture of the cerebellum (e.g., by reducing the molecular layer's cell density).

The Canadian Council of Ministers of the Environment (1999) suggests soil lead limits in 70, 140, 260 and 600 mg/kg for agricultural, residential, commercial, and industrial use, respectively. Four of the six sites analyzed in our study have soil lead concentrations that exceeded the recommended limit for residential use, which is especially concerning given that among these sites there is a shantytown (S2) and the associa-

tion found in this study between lead contamination and signs of cerebellar damage in rats. This highlights the importance of using sentinel species that live near humans in the analysis of exposure to contaminants, considering that even concentrations of lead much lower than those used experimentally have an impact on cerebellar cytoarchitecture.

In this regard, certain response variables analyzed in this study (proportion of abnormal Purkinje cells, molecular layer width, and total and nucleus area of the Purkinje cell) show trends that correspond to expected outcomes but lack significant associations with explanatory variables. This could also be related to each specimen's lead bioaccumulation and exposure extent, as well as its age, sex, or nutritional status. Obtaining more data would help in determining whether some of the trends observed in the non-significant response variables could be attributed to a lack of power in the analyses performed due to the number of samples used. Although the effects of lead on the central nervous system (CNS) have been well studied, most of the research has been conducted in experimental studies using lead concentrations that exceed those found in natural environments. However, by studying wild rats in areas near human populations, we can learn how wild populations respond to contaminants like lead in natural environments.

Finally, because of the heavy pollution in the MRB, other neurotoxic metals like cadmium and arsenic may have a synergistic effect with lead, even at low concentrations. Previous research has found that certain metals, such as lead and arsenic, have a significant synergistic neurotoxic effect (Mejía *et al.* 1997; Singh *et al.* 2017). This observation is especially pertinent given the presence of both metals in the MRB (Tripodi *et al.* 2021). However, further investigation is necessary to fully understand their synergistic effect, especially at the natural concentrations found in the basin.

This work contributed to the understanding of the damage in the CNS of wild rats caused by exposure to environmental contaminants such as lead in the MRB. We highlight the importance of knowing how species that live in close relationship with humans, such as *R. norvegicus*, respond to exposure to neurotoxic pollutants, considering the variations in exposure between species.

Given that rats do not explore the environment in the same way as humans, live in burrows and are closely associated with water sources, there could be a greater intake of lead contained in the soil and water and consequently a higher neurotoxic damage. Considering that *R. norvegicus* is a commensal species of humans, and that the MRB is a highly populated area with inhabitants in a disfavored socioeconomic situation living on the floodplain of rivers, residing in precarious

housings and with a lack of access to health centers, this work highlights the potential and neglected health risk to which people are exposed to.

Finally, studies in this type of environment involve several problems such as high crime rates, theft of traps, and periodic flooding, all of which make it difficult to obtain an optimal sample size. This work sheds light on how lower concentrations of lead than those used in experimental work can still generate effects on cerebellar cytoarchitecture of rats. Furthermore, there might be a synergistic effect with other neurotoxic metals, so further studies including the different types of metals in the basin are needed.

## REFERENCES

- [ACCLPP] Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention 2012. Annual Meeting of the Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention Record of the Proceedings.
- [ACUMAR] Autoridad de Cuenca Matanza Riachuelo 2018. Población expuesta a contaminantes ambientales en zonas de la CMR - ACUMAR. Retrieved November 5, 2022, from <https://www.acumar.gob.ar/indicadores/poblacion-expuesta-contaminantes/>.
- [ACUMAR] Autoridad de Cuenca Matanza Riachuelo 2020. Sistema de indicadores, Anexo. Datos del Indicador: 9. Población expuesta a contaminantes ambientales en zonas de la CMR. Actualizado a Julio de 2020.
- Adonaylo VN, Oteiza PI 1999. Lead intoxication: Antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicology*. 135(2–3): 77–85. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(99\)00051-7](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(99)00051-7).
- Andersen BB, Gundersen HJG, Pakkenberg B. 2003. Aging of the Human Cerebellum: A Stereological Study. *Journal of Comparative Neurology*. 466(3): 356–365. <https://doi.org/10.1002/cne.10884>.
- Andersen BB 2004. Reduction of Purkinje cell volume in cerebellum of alcoholics. *Brain Research*. 1007(1–2): 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.01.058>.
- [ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2007. Toxicological profile for lead, Atlanta, GA, USA: US Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Balza JS, Bikomeye JC, Beyer KMM, Flynn KE. 2022. Elevated blood lead levels of refugee children in the United States: a systematic review of recent literature (2011–2021). *Reviews on Environmental Health*. 38(2): 361–383. doi: 10.1515/reveh-2022-0015.
- Bernhardt A, Gysi N. 2013. The world's worst 2013: the top ten toxic threats. Blacksmith Institute and Green Cross Switzerland.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999. Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health.
- [CDC]CentersforDiseaseControlandPrevention. 2021. Childhood Lead Poisoning Prevention: Guidelines and Recommendations. <https://www.cdc.gov/nceh/lead/resources/guidelines.html#:~:text=CDC%20uses%20a%20blood%20lead,higher%20than%20most%20children's%20levels>.
- Ceruti R, Ghisleni G, Ferretti E, Cammarata S, Sonzogno O, Scanziani E. 2002. Wild rats as monitors of environmental lead contamination in the urban area of Milan, Italy. *Environmental Pollution*. 117(2): 255–259. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00273-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00273-1).
- Clasen RA, Hartmann JF, Coogan PS. 1974. Experimental acute lead encephalopathy in the juvenile rhesus monkey. *Environmental Health Perspectives*. 7: 175–185. <https://doi.org/10.1289/ehp.747175>.
- Faggi AM, Breuste J. 2015. Matanza-Riachuelo river basin. An ecological perspective on the recovery of its banks. Universidad de Flores, Buenos Aires.
- Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. 2008. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harbor Protocols*. 3(5): pdb.prot4986. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot4986>.
- Florea AM, Büsselberg D. 2006. Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds. *BioMetals*. 19(4): 419–427. <https://doi.org/10.1007/s10534-005-4451-x>.
- Fonnum F, Lock EA. 2000. Cerebellum as a target for toxic substances. *Toxicology Letters*. 112–113: 9–16. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00246-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00246-5).
- Hardy AR, Quy RJ, Huson LW. 1983. Estimation of age in the Norway rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) from the weight of the eyelens. *Journal of Applied Ecology*. 20 (1): 97–102. <https://doi.org/10.2307/2403378>.
- Hauptman M, Rogers ML, Scarpaci M, Morin B, Vivier PM. 2023. Neighborhood disparities and the burden

of lead poisoning. *Pediatric Research*. 94(2): 826-836. doi: 10.1038/s41390-023-02476-7.

Holtzman D, Olson JE, DeVries C, Bensch K. 1987. Lead toxicity in primary cultured cerebral astrocytes and cerebellar granular neurons. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 89(2): 211–225. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(87\)90042-1](https://doi.org/10.1016/0041-008X(87)90042-1).

[IHME] Institute for Health Metrics and Evaluation 2019. GBD compare data visualization. Seattle, WA: IHME, University of Washington, 2016. <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare>. Accessed 23 April 2019.

[INDEC] Institute of Statistics and Census of Argentina 2120. Census 2010.

Johnson BG. 2015. Un abordaje interdisciplinario para rehabilitar las riberas de la Cuenca Matanza-Riachuelo. *Terra Mundus*, 2.

Lorton D, Anderson WJ. 1986. The effects of postnatal lead toxicity on the development of the cerebellum in rats. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*. 8 (1): 51-9. PMID: 3703095.

Ma WC. 1996. Lead in mammals. In J. P. Meador (Ed.), *Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentrations*. CRC Press.

Malpartida A. 2003. La Cuenca del Río Matanza-Riachuelo. Revisión de Antecedentes de Recursos Naturales. In: *Compuestos xenobióticos y otros polutantes en la Cuenca* p 144.

McConnell P, Berry M. 1979. The effects of postnatal lead exposure on Purkinje cell dendritic development in the rat. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 5: 115-132. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.1979.tb00665.x>.

Mejía JJ, Díaz-Barriga F, Calderón J, Ríos C, Jiménez-Capdeville ME. 1997. Effects of lead-arsenic combined exposure on central monoaminergic systems. *Neurotoxicology and Teratology*. 19(6): 489–497. [https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(97\)00066-4](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(97)00066-4).

Mendoza RE, García IV, de Cabo L, Weigandt CF, Fabrizio de Iorio A. 2015. The interaction of heavy metals and nutrients present in soil and native plants with arbuscular mycorrhizae on the riverside in the Matanza-Riachuelo River Basin (Argentina). *Science of the Total Environment*. 505: 555–564. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.105>.

Meyer PA, Brown MJ, Falk H. 2008. Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 659(1–2):166–175. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.03.003>.

Moore MJ, Sebastian JA, Kolios MC. 2019. Determination of cell nucleus-to-cytoplasmic ratio using imaging flow cytometry and a combined ultrasound and photoacoustic technique: a comparison study. *Journal of Biomedical Optics*. 24(10): 1. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.24.10.106502>.

Mousa AM, Al-Fadhli AS, Rao MS, Kilarkaje N. 2015. Gestational lead exposure induces developmental abnormalities and up-regulates apoptosis of fetal cerebellar cells in rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 38(1): 73–83. <https://doi.org/10.3109/01480545.2014.907578>.

Naqi SZ. 2015. A comparative study of the histological changes in cerebral cortex, hippocampus, cerebellum, pons & medulla of the albino rat due to lead toxicity. *International Journal of Anatomy and Research*. 3(2): 1173–1178. <https://doi.org/10.16965/ijar.2015.194>.

Nesta BS, Shouta MMN, Yoshinori A, Osei EB, Hazuki M, Mayumi I. 2016. Heavy metals and metalloid accumulation in livers and kidneys of wild rats around gold-mining communities in Tarkwa, Ghana. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 8(7): 58–68. <https://doi.org/10.5897/jece2016.0374>.

O'Brien DJ, Kaneene JB, Poppenga RH. 1993. The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. *Environmental Health Perspectives*. 99(10): 351–368. <https://doi.org/10.1289/ehp.9399351>.

Patrick GW, Anderson WJ. 2000. Dendritic alterations of cerebellar Purkinje neurons in postnatally lead-exposed kittens. *Developmental Neuroscience*. 22(4): 320–328. <https://doi.org/10.1159/000017456>.

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D. 2001. *Neuroscience*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10799/>.

Rezaee M, Esfahani Z, Nejadghaderi SA, Abbasi-Kangevari M, Saeedi Moghaddam S, Ghanbari A, Ghamari A, Golestani A, Foroutan Mehr E, Kazemi A *et al*. 2022. Estimating the burden of diseases attributable to lead exposure in the North Africa and Middle East region, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2019. *Environmental Health: A*

- Global Access Science Source. 21(1): 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12940-022-00914-3>.
- Ronco A, Peluso L, Jurado M, Bulus Rossini G, Salibian A. 2008. Screening of sediment pollution in tributaries from the southwestern coast of the Rio de la Plata estuary. *Latin American Journal of Sedimentology and Basin Analysis*. 15: 67–75.
- Sanín L, González T, Romieu I, Hernández M. 1998. Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. *Salud Pública de México*. 40: 359–368.
- Sidhu P, Nehru B. 2004. Lead intoxication: histological and oxidative damage in rat cerebrum and cerebellum. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. 17(1): 45–53. <https://doi.org/10.1002/jtra.10052>.
- Singh N, Gupta VK, Kumar A, Sharma B. 2017. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 5, p. 70). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00070>.
- Stevenson J. 1935. Histological changes in the liver of salamanders during starvation. *Field and Laboratory*. 4(1). Available at: <https://scholar.smu.edu/fieldandlab/vol4/iss1/1>.
- Sures B, Scheible T, Bashtar AR, Taraschewski H. 2003. Lead concentrations in *Hymenolepis diminuta* adults and *Taenia taeniaeformis* larvae compared to their rat hosts (*Rattus norvegicus*) sampled from the city of Cairo, Egypt. *Parasitology*. 127(5): 483–487. <https://doi.org/10.1017/S0031182003003901>.
- Timbrell JA. 1998. Biomarkers in toxicology. *Toxicology*. 129: 1–12. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(98\)00058-4](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(98)00058-4).
- Tripodi M, Andrioli NB, Suárez OV. 2020 (a). Genotoxicity evaluation using micronucleus test in *Rattus norvegicus* captured in urban ecosystems of Buenos Aires, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*. 27(22): 27626–27634. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08897-9>.
- Tripodi M, Cueto G, Suárez OV. 2021. Evaluation of changes in spatial pattern of metals pollution in surface water using multivariate analysis: case study an urban basin from Buenos Aires, Argentina. *Urban Water Journal*. 18(9): 725–732. <https://doi.org/10.1080/1573062X.2021.1925708>.
- Tripodi M, Muschetto E, Cueto G, Hancke D, Suárez OV. 2020 (b). Are soft tissues of urban rats good indicators of exposure to heavy metal pollution? A study conducted in one of the most polluted basins of Buenos Aires, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*. 192: 349. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08300-7>.
- Vaickus LJ, Tambouret RH. 2015. Young investigator challenge: The accuracy of the nuclear-to-cytoplasmic ratio estimation among trained morphologists. *Cancer Cytopathology*. 123(9): 524–530. <https://doi.org/10.1002/cncy.21585>.
- Vidal-Martínez VM, Wunderlich AC. 2017. Parasites as bioindicators of environmental degradation in Latin America: a meta-analysis. *Journal of Helminthology*. 91: 165–173. <https://doi.org/10.1017/S0022149X16000432>.
- White LD, Cory-Slechta DA, Gilbert ME, Tiffany-Castiglioni E, Zawia NH, Virgolini M, Rossi-George A, Lasley SM, Qian YC, Basha MR. 2007. New and evolving concepts in the neurotoxicology of lead. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 225(1): 1–27. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.08.001>.
- [WHO] World Health Organization 2018. Lead poisoning and health <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>. Accessed 10 July 2022.
- Zelikoff JT, Li JH, Hartwig A, Wang XW, Costa M, Rossman TG. 1988. Genetic toxicology of lead compounds. *Carcinogenesis*. 9(10): 1727–1732. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/9.10.1727>.
- Zhang C, Hua T, Zhu, Z, Luo X. 2006. Age-related changes of structures in cerebellar cortex of cat. *Journal of Biosciences*. 31: 55–60. <https://doi.org/10.1007/BF02705235>.

# IMÁGENES EN TOXICOLOGÍA

---

## Vecinos cercanos venenosos Close venomous neighbours

de Roodt, Adolfo Rafael<sup>1,2\*</sup>; Damin, Carlos Fabián<sup>1,3</sup>; Hermann, Daniel Ignacio Jesús<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Primera Cátedra de Toxicología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155, Piso 8vo. Código Postal: C1121A6B CABA. Teléfono 11 5950-9500. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Producción de Biológicos, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos G. Malbrán”. <sup>3</sup>Hospital de Agudos “Juan A. Fernández”.

\*[aderoodt@gmail.com](mailto:aderoodt@gmail.com)

Recibido: 30 de enero de 2024

Aceptado: 10 de marzo de 2024

Editor: Ricardo Antonio Fernández

**Resumen.** Los anfibios poseen secreciones cutáneas con una enorme cantidad de compuestos de muy variada estructura química entre los que se pueden mencionar aminas biogénicas, esteroides, alcaloides en su piel que tienen como utilidad su defensa ante predadores y ante infecciones. Se muestran dos de las especies de “sapos” más comunes en el conurbano de Buenos Aires, *Rhinella arenarum* y *Rhinella dorbignyi*, mostrando sus glándulas cutáneas y parotoideas, las cuales secretan sustancias tóxicas que pueden generar intoxicación sistémica por su ingestión y en ocasiones irritación cutánea por el contacto.

**Palabras clave:** Sapos; Veneno; Anfibios.

**Abstract.** Amphibians possess cutaneous secretions containing a vast array of compounds with highly varied chemical structures, including biogenic amines, steroids, and alkaloids, which are used in their defense against predators and infections. We show two of the most common species of toads in the Buenos Aires metropolitan area, *Rhinella arenarum* and *Rhinella dorbignyi*, displaying their cutaneous and parotoid glands, which secrete toxic substances that may cause systemic poisoning upon ingestion and occasionally skin irritation upon contact.

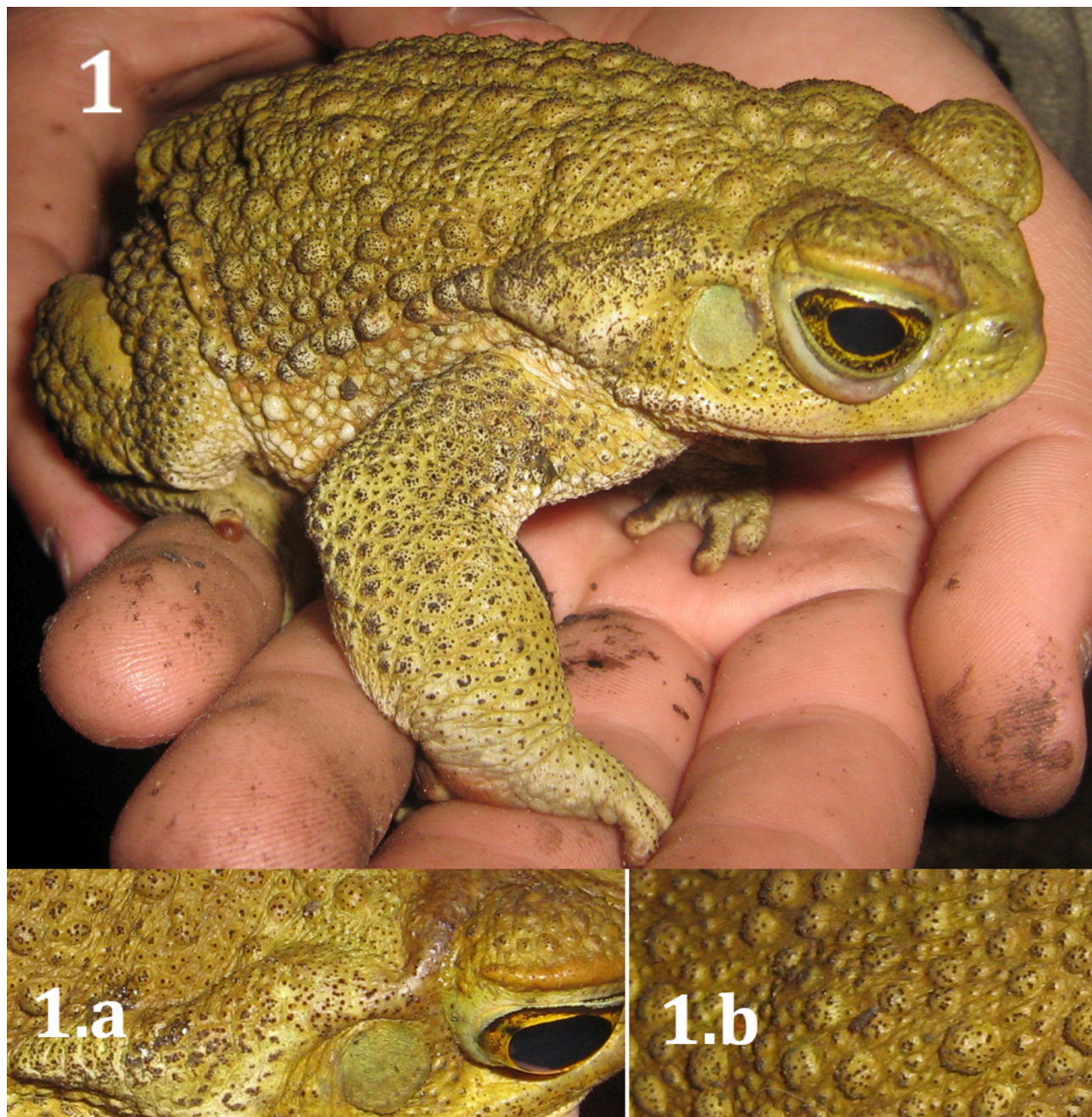
**Keywords:** Toad; Venom; Amphibian.

Los animales que pueden generar envenenamientos en humanos pueden diferenciarse de acuerdo al mecanismo mediante el cual el veneno que éstos poseen puede ingresar al organismo de quien sufrirá ese envenenamiento. Éste puede producirse por la inoculación de veneno en los tejidos, mediante la ingestión del animal o sus tejidos que contienen sustancias tóxicas o por el contacto con secreciones tóxicas secretadas o aspersionadas por el animal por variados mecanismos (Nelsen *et al.* 2013). Como ejemplos, las víboras (serpientes de la Familia Viperidae) pueden inocular veneno producido por glándulas especializadas, que es vehiculizado dentro del receptor de su mordedura mediante dientes inoculadores asociados a las mismas.

Los peces de las familias de los tetraodóntidos (“pez globo”), pueden ser responsables de envenenamientos graves cuando se los ingiere, debido a la ingestión de tetrodotoxina, toxina bloqueante de canales de sodio producida por bacterias presentes en el pez (Zhenchi Li *et al.* 2020) en ciertos tejidos del mismo. Los “milpiés” (miriápodos, diplópodos), pueden aspersionar varias sustancias tóxicas como cianuro de hidrógeno, terpenos, benzoquinonas y otras. Sin embargo, hay animales que pueden generar intoxicaciones por más de un mecanismo, y en nuestro país tenemos varios ejemplos, siendo uno de los más cercanos el de los anfibios y dentro de éstos específicamente los anuros. En este caso mostramos imágenes de *Rhinella arenarum*

(“sapo común”), de un tamaño en ejemplares adultos de 10 cm (Figura 1) y (Figura 2) *Rhinella dorbignyi*, ex *Rhinella fernandezae* (“sapito cavador”), animal de menor tamaño, de 6-7 cm (Heredia 2008), ambos de Tortuguitas, provincia de Buenos Aires, hasta hace unos años comprendidos dentro del género *Bufo* (Peyra *et al.* 2021). Estas especies son los sapos más comúnmente observados en la CABA y todo el conurbano bonaerense. Poseen glándulas cutáneas distribuidas en el dorso del cuerpo (Figuras 1.a y 2.a) y glándulas

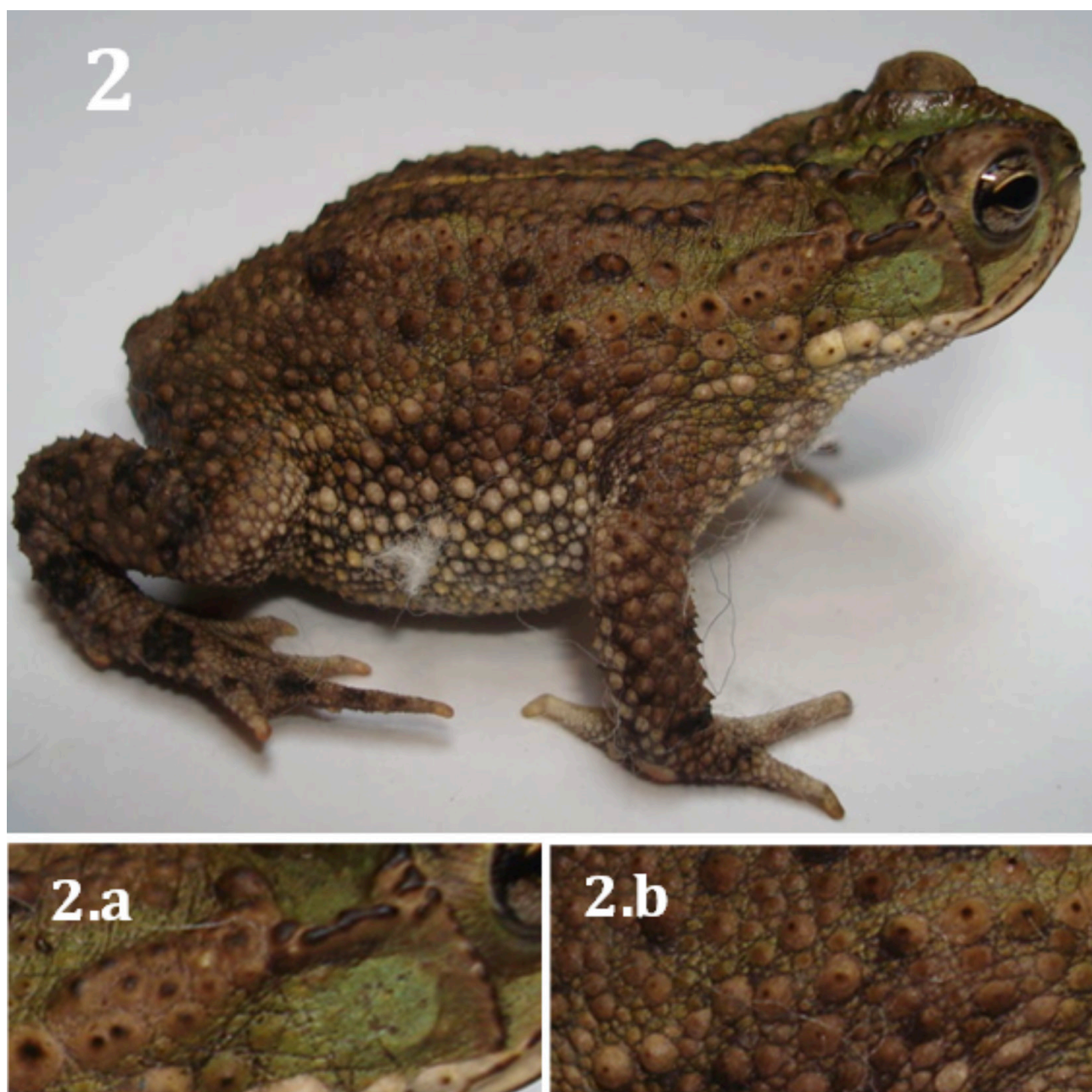
parotoideas tras los ojos en relación al oído (Figuras 1.b y 2.b), las que contienen compuestos tóxicos que al sentirse el animal amenazado secretan profusamente cubriendo su piel con una alta variedad de toxinas que tienen por motivo disuadir a los predadores (Jared *et al.* 2009). Entre las toxinas de los sapos, se pueden destacar 1- las aminas biogénicas como adrenalina, noradrenalina (afectan el sistema nervioso autónomo, 2- los derivados esteroides como bufadienolidos y la bufotoxina, toxinas que inhiben canales de potasio



**Figura 1.** Ejemplar de *Rhinella arenarum*. **1.a:** glándula parotoidea. **1.b:** glándulas cutáneas. Los ejemplares adultos de esta especie llegan a medir 10 cm.

en el músculo cardíaco actuando de manera similar al digital, generando bloqueo aurículoventricular y 3- alcaloides como bufotenina, dihidrobufotenina y bufotionina, que pueden actuar sobre el sistema nervioso central y producir efectos alucinógenos (Daly 1995; Garrafo *et al.* 2012; da Silva 2015 ). Si bien el envenenamiento por anuros en humanos no es común en Argentina, en otros países se producen, causando en algunos casos la muerte (Keomany *et al.* 2007), siendo en nuestro país de importancia en medicina veterinaria, dado que pueden producir envenenamientos, in-

cluso mortales en caninos y otros animales al ser atacados o ingeridos, causando edema pulmonar y bloqueo aurículo-ventricular por los compuestos esteroides con actividad similar a digital que poseen éstos (Kwan *et al.* 1992; Camplesi 2006; Barbosa *et al.* 2009). Por lo tanto, se debe ser cuidadoso cuando se utilizan estos animales como alimento y también se debe tener presente la potencialidad de envenenamiento en animales domésticos, en especial tras las lluvias, momento en que los perros de exteriores pueden llegar a estar en contacto con estos anuros.



**Figura 2.** Ejemplar de *Rhinella dorbignyi*. **2.a:** glándula parotoidea. **2.b:** glándulas cutáneas. Los ejemplares adultos de esta especie llegan a medir 6-7 cm.

## CONFLICTO DE INTERESES

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

## REFERENCIAS

- Barbosa CM, Medeiros MS, Riani Costa CCM, Camplesi AC, Sakate M. 2009. Toad poisoning in three dogs: case reports. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 15(4): 789-798.
- Camplesi AC. 2006. Avaliações clínicas e laboratoriais da intoxicação experimental por veneno de sapo em cães. Tesis Maestría. Universidade Estadual Paulista. Sao Paulo. Brasil. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 103 pp. <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/ee39e190-56a9-4391-9de7-f0244843ffa6/content>.
- Daly JW. 1995. The chemistry of poisons in amphibian skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92: 9-13.
- da Silva FJM. 2015. A composição do veneno do sapo-cururuzinho muda de acordo com sua dieta?. Tesis Maestría. Universidade Federal de Alfenas. Minas Gerais. Brasil. 59 pp. <https://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/wp-content/uploads/sites/188/2021/03/Disertacao-Juceli-Franca.pdf>.
- Garraffo HM, Andriamaharavo NR, Vaira M, Quiroga MF, Heit C, Spande TF. 2012. Alkaloids from single skins of the Argentinian toad *Melanophryniscus rubriventris* (ANURA, BUFONIDAE): An unexpected variability in alkaloid profiles and a profusion of new structures. *SpringerPlus* 1:51. <http://www.springerplus.com/content/1/1/51>.
- Heredia J. 2008. Anfibios del Centro de Argentina. L.O.L.A. Buenos Aires. Argentina. 99 pp. ISBN 978-950-9725-99-7.
- Jared C, Antoniazzi MM, Jordao AEC, Silva JRMC, Greven H, Rodrigues MT. 2009. Parotoid macroglands in toad (*Rhinella jimi*): their structure and functioning in passive defence. *Toxicon* 54(3):197-207. DOI: 10.1016/j.toxicon.2009.03.029.
- Keomany S, Mayxay M, Souvannasing P, Vilayhong Ch, Stuart BL, Srour L, New PL. 2007. Toad Poisoning in Laos. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77(5): 850-853.
- Kwan T, Patusco AD, Kohl L. 1992. Digitalis toxicity caused by toad venom. *Chest* 102;949-950. DOI 10.1378/chest.102.3.949.
- Nelsen DR, Nisani Z, Cooper AM, Fox GA, Gren ECK, Corbit AG, Hayes WK. 2013. Poisons, toxins, and venoms: redefining and classifying toxic biological secretions and the organisms that employ them. *Biol. Rev.* (2013), pp. 000-000. 1. doi: 10.1111/brv.12062.
- Pereyra MO, Blotto BL, Baldo D, Chaparro JC, Ron SR, Elias-Costa AJ, Iglesias PP, Venegas PJ, Thomé MTC, Ospina-Sarria JJ, (...) Julián Faivovich J. 2021. Evolution in the Genus *Rhinella*: A Total Evidence Phylogenetic Analysis of Neotropical True Toads (Anura: Bufonidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 447(1):1-156 (2021). <https://doi.org/10.1206/0003-0090.447.1.1>.
- Zhenchi L, Jinglin T, Yukun L, Chiu-Hong L, Zongwei C, Chun-Fai Y. 2020. Puffer Fish Gut Microbiota Studies Revealed Unique Bacterial Co-Occurrence Patterns and New Insights on Tetrodotoxin Producers *Mar Drugs* 18(5):278. DOI: 10.3390/md18050278.

## 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 itálica.

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

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

**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](http://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](http://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 dis-*

*covery: emerging strategies*. Wallingford, Oxfordshire (GB): CABI. (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.

### 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: [www.sciencedirect.com/science/book/9780123746283](http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123746283)

### 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](http://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 comprimento, 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 converterem 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: Editoria. 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](http://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](http://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>