

# *Acta Toxicológica Argentina*



Vol. 32, Nº3  
Año 2024



Asociación  
Toxicológica  
Argentina

Publicación de la  
Asociación Toxicológica Argentina  
Buenos Aires, Argentina

**FOTO DE LA PORTADA:**

"Ejemplares de *Zygochlamys patagonica* (vieira), una de las especies de moluscos filtradores de interés comercial capaces de actuar como vectores de toxinas producidas por fitoplancton en nuestras costas" .

Foto: Gabinete de Fotografía del INIDEP. Agradecimientos al Gabinete de Fotografía del INIDEP y a la Lic. Nora Montoya.

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, Google Académico, Periódica y Redalyc.



## 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. Zeinstenger

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*

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.*

## ÍNDICE

### (CONTENTS)

#### Trabajo Original

Optimización y validación de un método analítico para la cuantificación de cocaína y sus metabolitos en fluido oral utilizando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

*Fernández, Nicolás; Quiroga, Patricia Noemí* ..... 83

#### Revisiones

El impacto en el ambiente debido a la fabricación y el uso de propulsantes sólidos. Evaluación del riesgo tóxico: necesidades y desafíos

*Ross, Pablo G.; Costantini, Martín H.; Castro, Gerardo D.* ..... 97

#### Intoxicaciones por Paracetamol: un desafío regional

*Venegas Calderón, Judith; Zelada Perez, Banny Carolina; Pava Garzón, Diana Marcela; Ramos Rodríguez, Viviana; Cuellar, Marta Isabel; Amaya, María Luz; Madurga Sanz, Mariano; Guzmán-Quilo, Carolina; Hernández, Magda; González-Alvarez, María Estefanía; Cruz, Wendy Lizeth; Tortorella, María Noel; Altamirano Villalva, Adrián; Moreno Rodríguez, Yulisa; Cruz Caballero, Yuri Andrea; Zeledón Solano, Ana Guiselle; Montero Carvajal, Earvin Eduardo* ..... 113

**Instrucciones para los autores** ..... 124

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

# Optimización y validación de un método analítico para la cuantificación de cocaína y sus metabolitos en fluido oral utilizando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

## Optimization and validation of an analytical method for the quantification of cocaine and its metabolites in oral fluid using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Fernández, Nicolás\*; Quiroga, Patricia Noemí

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Toxicología y Química Legal, Laboratorio de Asesoramiento Toxicológico Analítico (CENATOXA). Junín 956 7mo piso (C1113AAD). Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Buenos Aires, Argentina. Tel.: +54 11 52874741.

\*[nfernandez@ffyb.uba.ar](mailto:nfernandez@ffyb.uba.ar); [pquiroga@ffyb.uba.ar](mailto:pquiroga@ffyb.uba.ar)

Recibido: 12 de septiembre de 2024

Aceptado: 18 de diciembre de 2024

Editor: Edda Villaamil Lepori

**Resumen:** La cocaína (COC) es un potente estimulante del sistema nervioso central, cuyo consumo continúa siendo un problema de salud pública a nivel global. El fluido oral (FO) se ha consolidado como una matriz biológica alternativa y no invasiva para el monitoreo de COC y sus metabolitos, siendo especialmente útil en aplicaciones como los controles por conducir bajo la influencia de drogas, entornos laborales, toxicología clínica y justicia penal. En el presente trabajo se describe la optimización y validación de un método para la cuantificación de COC, benzoilecgonina (BE), ecgonina metil éster (EME) y cocaetileno (CE) en FO mediante cromatografía gaseosa-espectrometría de masas (GC-MS), previa extracción en fase sólida (SPE). La SPE se optimizó utilizando 250  $\mu$ L de FO (pH 6), seguido de acondicionamiento con buffer fosfato de sodio y extracción con diclorometano/2-propanol/amoníaco (70:26:4 v/v), y posterior derivatización con anhídrido pentafluoropropiónico y hexafluoro-2-propanol. El método fue validado de acuerdo con directrices internacionales, utilizando estándares deuterados (COC-d<sup>3</sup>, BE-d<sup>3</sup>, EME-d<sup>3</sup>, CE-d<sup>3</sup>). La curva de calibración obtenida fue lineal en el rango de trabajo (5 y 800 ng/mL), con coeficientes de correlación superior a 0,990 y un límite inferior de cuantificación (LC) de 5 ng/mL. La precisión intraensayo varió entre 2,2% y 14,4%, y la interensayo entre 4,2% y 14,9%, mientras que la exactitud, en términos de error relativo, fue de  $\pm 10\%$ . La recuperación relativa osciló entre 89% y 106%. Los analitos mostraron estabilidad durante tres ciclos de congelado/descongelado. La aplicación del método a muestras de consumidores de COC demostró un rendimiento excelente. En conclusión, el método propuesto es altamente sensible, específico y rápido, con excelentes tasas de recuperación y precisión. Estas características lo hacen ideal para su aplicación en diversos campos de la toxicología, incluyendo toxicología laboral, clínica y forense.

**Palabras clave:** Cocaína; Benzoilecgonina; Fluido oral; Cromatografía gaseosa - espectrometría de masas; Validación.

**Abstract:** Cocaine (COC) is a potent central nervous system stimulant, the consumption of which continues to be a global public health issue. Oral fluid (OF) has emerged as a reliable, non-invasive biological matrix for monitoring COC and its metabolites, proving particularly useful in driving under the influence of drugs (DUID) testing, occupational settings, clinical toxicology, and criminal justice applications. This study describes the optimization and validation of a method for the quantification of COC, benzoylecgonine (BE), ecgonine methyl ester (EME), and cocaethylene (CE) in OF using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), preceded by solid-phase extraction (SPE). SPE was optimized using 250  $\mu$ L of OF (pH 6), followed by conditioning with sodium phosphate buffer and extraction with dichloromethane/2-propanol/ammonia (70:26:4 v/v), and subsequent derivatization with pentafluoropropionic anhydride and hexafluoro-2-propanol. The method was validated according to international guidelines, using deuterated

standards (COC-d<sup>3</sup>, BE-d<sup>3</sup>, EME-d<sup>3</sup>, CE-d<sup>3</sup>). The obtained calibration curve was linear within the working range (5 to 800 ng/mL), with correlation coefficients above 0.990 and a lower limit of quantification (LLOQ) of 5 ng/mL. Intra-assay precision ranged from 2.2% to 14.4%, and inter-assay precision from 4.2% to 14.9%, while accuracy, in terms of relative error, was  $\pm 10\%$ . The relative recovery ranged from 89% to 106%. The analytes demonstrated stability through three freeze-thaw cycles. Application of the method to samples from cocaine users showed excellent performance. In conclusion, the proposed method is highly sensitive, specific, and rapid, with excellent recovery and precision rates. These characteristics make it ideal for application in various fields of toxicology, including occupational, clinical, and forensic toxicology.

**Keywords:** Cocaine; Benzoyllecgonine; Oral fluid; Gas chromatography - mass spectrometry; Validation.

## INTRODUCCIÓN

La cocaína (COC) es una droga estimulante cuyo consumo sigue representando un serio problema de salud pública global. Según el Informe Mundial sobre Drogas 2023 de la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC), la producción mundial de cocaína alcanzó un máximo histórico en 2021, impulsando también un aumento en su demanda. América Latina sigue siendo una de las principales regiones afectadas, tanto por ser zona de producción como por el incremento sostenido en el consumo de cocaína en varios de sus países (UNODC 2023).

El abuso de COC no solo tiene consecuencias a nivel individual y social, sino que también genera un importante desafío en ámbitos como las pruebas por conducción bajo los efectos de drogas, el monitoreo en ambientes laborales y la administración de justicia penal, donde la detección confiable y rápida de la droga es esencial para la prevención y el control.

En los últimos años, el uso del fluido oral (FO) como matriz biológica alternativa para la detección de drogas ha ganado aceptación debido a su carácter no invasivo, la facilidad de recolección y la capacidad de reflejar concentraciones similares a las de la sangre en situaciones agudas de consumo (Drummer 2008; Bosker y Huestis 2009; Wille *et al.* 2014; Desrosiers y Huestis 2019; Gallardo *et al.* 2023). En el caso de la COC, el FO ha demostrado ser eficaz para detectar tanto la sustancia original como sus principales metabolitos: benzoilecgonina (BE), ecgonina metil éster (EME) y cocaetileno (CE), cada uno con importancia diagnóstica y toxicológica (Cone *et al.* 1997; Clauwaert *et al.* 2004; Verstraete 2004; Ellefsen *et al.* 2016; Bassotti *et al.* 2020). La BE es el principal metabolito de la COC y se considera un marcador clave de consumo, mientras que el CE, formado en presencia de alcohol, está asociado a mayor toxicidad y efectos cardiovasculares adversos (Xu *et al.* 1994; Roque Bravo *et al.* 2022).

Para la detección de COC y sus metabolitos en FO, la cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se ha consolidado como una de las

técnicas analíticas de mayor sensibilidad y especificidad. Esta técnica permite la identificación precisa de los compuestos analizados, lo que resulta fundamental en contextos clínicos y forenses, donde la sensibilidad y la especificidad son requisitos indispensables (Barroso *et al.* 2009; Bosker y Huestis *et al.* 2009; Ellefsen *et al.* 2016). Sin embargo, el análisis depende en gran medida de una adecuada preparación de la muestra y de la optimización del método de extracción, siendo la extracción en fase sólida (SPE) una de las metodologías preferidas debido a su capacidad para concentrar y purificar los analitos de interés (Fernández *et al.* 2019; Álvarez-Freire *et al.* 2023). En comparación con la extracción líquido-líquido, la SPE ofrece mayor selectividad mediante el uso de fases estacionarias específicas, menor consumo de disolventes orgánicos, lo que disminuye los costos y el impacto ambiental, así como mejor reproducibilidad y recuperación de analitos, incluso en bajas concentraciones.

El objetivo de este estudio fue la optimización y validación de un método basado en GC-MS, con previa extracción en fase sólida, para la cuantificación de COC, BE, EME y CE en fluido oral. La validación del método se llevó a cabo de acuerdo con las normativas internacionales, evaluando parámetros críticos como la selectividad, el límite de cuantificación (LC), la linealidad, la precisión intra e interensayo, la exactitud, la recuperación y la estabilidad de los analitos. La consistencia del enfoque analítico asegura la fiabilidad del método para su aplicación en diversos contextos, desde el control por conducir bajo la influencia de drogas hasta la toxicología clínica y forense.

En resumen, este trabajo constituye un aporte original a la toxicología analítica, mediante el desarrollo y validación de un método sensible, específico y reproducible para la determinación de COC y sus principales metabolitos en fluido oral. La metodología propuesta se distingue por la optimización de los volúmenes de solventes en las etapas de acondicionamiento, lavado y elución en SPE, ajustados según la masa de relleno de las columnas utilizadas, lo cual mejora la eficiencia y reduce el uso de reactivos. Además, por primera vez, se emplea la combinación de HFP y PFPA como agentes

de derivatización para el análisis de estos compuestos en esta matriz biológica. Estas estrategias metodológicas permiten alcanzar una adecuada sensibilidad y especificidad, posicionando al método como una herramienta útil en estudios de monitoreo del consumo de COC en poblaciones reales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos y estándares

Los estándares analíticos: EME, BE, COC y CE en soluciones de acetonitrilo a 1,0 mg/mL; y los estándares internos (EI): ecgonina metil éster-d<sup>3</sup> (EME-d<sup>3</sup>), benzoilecgonina-d<sup>3</sup> (BE-d<sup>3</sup>), cocaína-d<sup>3</sup> (COC-d<sup>3</sup>), y cocaetileno-d<sup>3</sup> (CE-d<sup>3</sup>) en soluciones de acetonitrilo a 0,1 mg/mL, se adquirieron de Cerilliant (Round Rock, TX, EE. UU.).

El metanol, diclorometano, isopropanol, acetato de etilo e hidróxido de amonio fueron provistos por Merck Química (Buenos Aires, Argentina); todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico ACS o para cromatografía. El ácido clorhídrico (37% v/v) fue obtenido de Merck Química (Buenos Aires, Argentina). El agua ultrapura fue obtenida mediante un equipo PURELAB flex 1 (ELGA LabWater, Buenos Aires, Argentina).

El 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol [para derivatización en GC, 99%] (HFP) y el anhídrido pentafluoropropiónico [para derivatización en GC, 99%] (PFPA) se adquirieron de Sigma Aldrich (Buenos Aires, Argentina).

Los cartuchos Clean Screen® de SPE (CSDAU 131) fueron obtenidos de United Chemical Technologies (UCT Inc., Bristol, PA, EE. UU.), y los colectores de vacío fueron provistos por Varian (Lake Forrest, CA, EE. UU.).

### Calibradores, controles de calidad y estándares internos

Se preparó una solución de trabajo (A) mediante la dilución adecuada de cada solución primaria (1 mg/mL) en acetonitrilo, obteniendo una concentración de 5 µg/mL para EME, BE, COC y CE. Posteriormente, se preparó una segunda solución de trabajo a una concentración de 0,5 µg/mL para estos mismos analitos, diluyendo la solución de trabajo (A) en acetonitrilo.

Las soluciones primarias de los estándares internos (EI), con una concentración inicial de 100 µg/mL, se diluyeron en acetonitrilo para obtener una solución de EI a 5 µg/mL.

Todas las soluciones primarias y de trabajo fueron almacenadas a -20 °C en viales de vidrio ámbar para preservar su estabilidad.

Los calibradores de trabajo con concentraciones de 5, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 600 y 800 ng/mL se prepa-

raron diariamente mediante la adición de estas soluciones a un blanco de fluido oral (volumen final: 1 mL). A cada punto de calibración confeccionado en fluido oral se adicionó EI (5 µg/mL), obteniendo una concentración final de 300 ng/mL.

Las muestras de control de calidad (CC) se prepararon diariamente usando fluido oral blanco (volumen final: 1 mL) a concentraciones de 5, 35, 150, 350 y 750 ng/mL.

### Equipamiento

La optimización y cuantificación se realizó con un cromatógrafo gaseoso Hewlett-Packard (HP6890N, Palo Alto, California, EEUU) equipado con inyector automático HP6890, acoplado a un detector de masas MSD5973 Network (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EEUU) y con una columna capilar HP-5MS (5% fenil-metilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) provista por J&W Scientific, (Folsom, CA, EEUU).

### Muestras biológicas

Para la optimización y validación del método desarrollado, se utilizó fluido oral de voluntarios del personal del laboratorio (n: 25), quienes no estuvieron expuestos a COC, con el fin de garantizar que la matriz utilizada estuviera libre de interferencias por la presencia de esta sustancia y sus metabolitos. Las muestras se recolectaron sin estimulación previa, utilizando diferentes kits comerciales diseñados para este fin, en recipientes específicos, siguiendo las especificaciones de los fabricantes, sin requerir preparación previa del voluntario ni pretratamiento de la muestra, con un volumen mínimo de aproximadamente 0,5 – 1,0 mL.

Una vez optimizado el método, se procedió a la verificación mediante el análisis de fluido oral de individuos expuestos a COC. Estas muestras fueron obtenidas de personas que acudieron al Laboratorio de Asesoramiento Toxicológico Analítico (CENATOXA), quienes presentaban solicitudes de confirmación por GC-MS, luego de obtener resultados positivos de COC en pruebas de cribado realizadas sobre fluido oral.

### Preparación de las muestras

Las muestras de fluido oral fueron homogeneizadas y centrifugadas utilizando un volumen de 0,5 mL. A una alícuota de 250 µL se le añadieron 15 µL de una solución de EI (5 µg/mL). La mezcla fue homogeneizada en vórtex durante 15 segundos y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 10 minutos. Luego, se incorporaron 800 µL de buffer fosfato 100 mM (pH 6,00).

El acondicionamiento de las columnas SPE consistió en la aplicación secuencial de 520 µL de metanol, 520 µL de agua destilada y 520 µL de ácido clorhídrico 0,1 N. Posteriormente, la muestra se aplicó a una velocidad

de elución de 1 mL/min, seguida de una secuencia de lavado con 1,3 mL de agua destilada, 1,3 mL de HCl 0,1 N y 1,3 mL de una mezcla metanol/agua destilada (50:50, v/v). La elución se realizó con 2,1 mL de una mezcla de diclorometano: isopropanol: amoníaco (70:26:4, v/v/v), y el eluido se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno.

Finalmente, al extracto seco se le añadieron 35 µL de PFPA y 15 µL de HFIP, se incubó en baño seco a 70 °C durante 10 minutos. Posteriormente, se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno y el residuo se re suspendió en 50 µL de acetato de etilo para su análisis por GC-MS.

### Condiciones cromatográficas y del detector de masas

El programa de temperatura del horno fue 90 °C durante 2 minutos con una rampa de 20 °C/min hasta 300 °C durante 3 minutos. La temperatura del inyector, línea de transferencia y fuente de ionización, fueron de 220, 280 y 220 °C respectivamente. El modo de inyección utilizado fue splitless, con un volumen de inyección de 2 µL y flujo de helio de 0,8 mL/min. La fragmentación se efectuó por impacto electrónico, a una corriente de 300 mA, energía del electrón de 70 eV, operado en modo SIM. En la *Tabla 1* se resumen los parámetros del espectrómetro de masas optimizados para cada compuesto.

**Tabla 1.** Parámetros del espectrómetro de masa optimizados para cada compuesto.

Compuesto	Tiempo de Retención (min)	Ventana de Tiempo (min)	Ion Cuantificador (m/z)	Ion Cualificador 1 (m/z)	Ion Cualificador 2 (m/z)	Dwell time (ms)	Peak width (m/z units)
EME	7,52	7,00 – 8,00	182	82	345	80	0,5
BE	10,65	10,00 – 11,40	318	334	439	80	0,5
COC	11,75	11,40 – 11,90	182	272	303	80	0,5
CE	12,00	11,90 – 13,00	196	272	317	80	0,5

EME ecgonina metil ester, BE benzoilecgonina, COC cocaína, CE cocaetileno.

### Análisis de datos

El análisis de los datos obtenidos mediante GC-MS se realizó utilizando el software MSD ChemStation Data Analysis, provisto por Agilent Technologies. Para cada ion analizado, se determinó el tiempo de retención, el tiempo de retención relativo y la abundancia relativa porcentual en relación con el ion cuantificador.

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo utilizando el software GraphPad Prism 5.0 (2009), de GraphPad Software.

### Optimización del método

El método fue optimizado para mejorar la eficiencia, selectividad y sensibilidad en la detección de EME, BE, COC y CE en fluido oral. Las modificaciones consistieron en ajustes en los volúmenes de los solventes utilizados en los pasos de acondicionamiento, lavado y elución de la columna SPE, los cuales se adaptaron en función de la masa del relleno de la columna empleada, que difería de la especificada en el protocolo descrito para la detección de COC en fluido oral, según el Clinical and Forensic Applications Manual de United Chemical Technologies Inc. (UCT 2023). En el paso de derivatización, se implementó el uso en conjunto de los reactivos HFP y PFPA.

### Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción de los compuestos se realizó siguiendo el protocolo descrito para la detección de COC en fluido oral, según el Clinical and Forensic applications manual de United Chemical Technologies Inc. (UCT 2023), pero con modificaciones específicas en varios pasos clave. A continuación, se detallan las modificaciones introducidas:

- Columna utilizada, Clean Screen® DAU [CSCOC 131 (130 mg/ 1 mL)]. Columna de modo mixto con fase reversa (C8) e intercambio iónico fuerte (ácido bencenosulfónico).
- Preparación de muestra: volumen de fluido oral 250 µL.
- Acondicionamiento de la columna: se utilizó 520 µL de metanol, 520 µL de agua ultrapura y 520 µL de ácido clorhídrico 100 mM.
- Lavado de la columna: se utilizó 1 300 µL de agua ultrapura, 1 300 µL de ácido clorhídrico 100 mM y 1 300 µL de metanol / agua ultrapura (50/50).
- Elución: se utilizó 2 100 µL de diclorometano / Isopropanol / Amoniaco (70/26/4).

### Derivatización

Se reemplazó el uso de N,O-bis(trimethylsilyl)trifluo-

roacetamide (BSTFA) con 1% de trimethylchlorosilane (TMCS) por la combinación de PFPA y HFP, incubando la mezcla a 70 °C durante 10 minutos. Posteriormente, se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno y el residuo obtenido se resuspendió en 50 µL de acetato de etilo para su análisis mediante GC-MS.

### **Validación del Método Analítico**

La validación del método analítico fue realizada conforme a las directrices de la Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX 2019), United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC 2009), la Food and Drug Administration (FDA 2020). Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

#### **Selectividad y Especificidad**

Para evaluar la especificidad y la selectividad, se analizaron muestras de fluido oral de individuos no expuestos a la sustancia de interés (n=10), quienes estaban bajo tratamiento con diversos fármacos (ibuprofeno, paracetamol, clonazepam, alprazolam, lamotrigina, etinilestradiol, entre otros) y con hábitos de consumo frecuente de mate, café y tabaco.

Las muestras fueron extraídas y analizadas según el procedimiento previamente descrito. Se compararon los picos en el tiempo de retención de interés con los de muestras de fluido oral enriquecidas con los analitos en el LC.

Los criterios de aceptación para la identificación de compuestos fueron según los establecidos por la World Anti-Doping Agency (WADA, 2023). El tiempo de retención absoluto debía estar dentro del  $2\% \pm 0,1$  minuto del tiempo de retención del mismo analito en el LC. La identificación mediante espectrometría de masas (modo SIM) requería la adquisición de al menos tres iones diagnósticos, y que sus abundancias relativas no difirieran en más de una cantidad tolerada con respecto a las generadas por el mismo compuesto en el LC preparado y analizado de manera contemporánea (si la abundancia relativa del ion en la muestra control era mayor al 50%, se aceptaba una tolerancia absoluta de  $\pm 10\%$ ; si este valor era entre el 25% y el 50%, se permitía una tolerancia relativa de  $\pm 20\%$ ; si se encontraba entre el 5% y el 25%, se aceptaba una tolerancia absoluta de  $\pm 5\%$ ; y, finalmente, para abundancias relativas de iones de 5% o menos, se utilizaba una tolerancia relativa de  $\pm 50\%$ ).

El método se considerará selectivo y específico si no se pudiera identificar ningún pico interferente en las muestras blanco al aplicar estos criterios.

#### **Linealidad y Límite de Cuantificación (LC)**

Para evaluar la linealidad del método, se preparó una curva de calibración durante siete días consecutivos, utilizando fluido oral fortificado para obtener concen-

traciones finales de 5, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 600 y 800 ng/mL (siete réplicas para cada concentración). La linealidad se analizó graficando la relación de áreas entre el ion cuantificador de cada compuesto y su análogo deuterado en función de la concentración del analito. Los criterios de aceptación incluyeron un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) igual o superior a 0,99, y una exactitud expresada en términos de error relativo porcentual (ER %) de los calibradores menor que 20% para el nivel bajo y menor que 15% para los niveles medio y alto. Además, se calcularon los valores medios y las desviaciones estándar ( $\pm DE$ ) de las pendientes, las ordenadas al origen y los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las curvas de calibración diarias. Para evaluar la linealidad se aplicaron el test F de Fisher.

El LC se determinó analizando 10 réplicas de fluido oral blanco fortificadas con EME, BE, COC y CE a una concentración de 5 ng/mL (SWGTOX 2019). Se verificó que las relaciones señal/ruido de todos los analitos fueran superiores a 10. La relación señal/ruido se determinó utilizando la herramienta S/N del software Chemstation. Esta relación se definió como la altura del pico del ion cuantificador para cada compuesto dividida por el ruido pico a pico, el cual se midió desde -0,05 minutos hasta el inicio del pico. Además, se evaluaron los datos de precisión y exactitud. Los criterios de aceptación para el LC fueron un coeficiente de variación (CV %) y un ER % menor que 20% (SWGTOX 2019; FDA 2020).

#### **Precisión y Exactitud**

**Precisión Intraensayo:** se evaluó en cuatro concentraciones (5, 10, 300 y 800 ng/mL), fortificando fluido oral blanco y procesando cinco réplicas por concentración. El criterio de aceptación fue un CV % menor que 20% para el nivel bajo y menor que 15% para los niveles medio y alto (SWGTOX 2019; FDA 2020).

**Precisión Interensayo:** se estimó en cinco concentraciones (5, 35, 150, 350 y 750 ng/mL) con tres réplicas por concentración, durante cinco días consecutivos. El criterio de aceptación fue un CV % menor que 20% en el nivel bajo y menor que 15% en los niveles medio y alto (SWGTOX 2019; FDA 2020). La precisión intra-corrída e inter-corrída se calculó mediante un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor, considerando el número de corrída como el factor categórico del modelo (SWGTOX 2019).

La exactitud se valoró en términos de ER %, con criterios de aceptación de un ER % menor que 20% para el nivel bajo y menor que 15% para los niveles medio y alto (FDA 2020).

#### **Recuperación**

La recuperación se determinó fortificando muestras de fluido oral en cuatro niveles de concentración (5, 10,

300 y 800 ng/mL), con 5 réplicas por nivel. Se compararon las áreas de los iones cuantificadores en el fluido oral fortificado con las obtenidas a partir de la disolución del analito puro en solución de acetonitrilo. El criterio de aceptación fue un CV % menor que 20% en el nivel bajo y menor que 15% en los niveles medio y alto (UNODC 2009).

#### Estabilidad

La estabilidad se determinó fortificando muestras de fluido oral a concentraciones baja, media y alta (35, 150, 350 y 750 ng/mL), con tres réplicas por nivel. Estas muestras se sometieron a tres ciclos de congelado (-20 °C) y descongelado. La estabilidad se evaluó en términos de CV %, siendo aceptable un valor menor que 20% en el nivel bajo y menor que 15% en los niveles medio y alto. También se evaluó en términos de ER %, con criterios de aceptación de un ER % menor que 20% para el nivel bajo y menor que 15% para los niveles medio y alto.

#### Aplicación en Muestras Reales

Finalmente, para la validación del método en muestras reales, se analizaron muestras de fluido oral (n=13) enviadas al CENATOXA para confirmar los resultados positivos en la prueba inicial de screening para BE. Los criterios de confirmación empleados fueron los establecidos por la World Anti-Doping Agency (WADA 2023), garantizando así que el método cumple con los estándares internacionales para la detección de sustancias en fluidos biológicos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación de COC y sus metabolitos en FO es una herramienta clave para el monitoreo del consumo de COC, dada su capacidad para reflejar de manera precisa las concentraciones de la droga en sangre en situaciones de consumo reciente (Scheidweiler *et al.* 2010). La correlación entre las concentraciones de cocaína y sus metabolitos en plasma y FO ha sido ampliamente estudiada, mostrando una relación positiva significativa entre ambos fluidos. Aunque las concentraciones en FO suelen ser más bajas que en plasma, los metabolitos de la cocaína siguen un patrón similar en ambos casos, lo que sugiere que el FO puede ser una matriz alternativa viable (Cone *et al.* 1988; Scheidweiler *et al.* 2010). Sin embargo, se observa que el fluido oral presenta una ventana de detección más estrecha, lo que implica que los niveles de cocaína en esta muestra disminuyen más rápidamente tras su consumo, lo que puede representar tanto una ventaja para detectar el consumo reciente como una limitación en determinados contextos. Los metabolitos, como la BE, tienen

una correlación más fuerte en ambos fluidos, lo que refuerza su utilidad como biomarcador para la detección de consumo reciente de cocaína, incluso cuando los niveles de la droga en plasma ya han disminuido (Scheidweiler *et al.* 2010).

El metabolismo de la COC se produce principalmente en el hígado, donde la COC se hidroliza a través de la acción de las enzimas carboxilesterasas. Este proceso da lugar a la formación de BE, que luego se excreta predominantemente en la orina (Cone *et al.* 1997). La identificación y cuantificación de estos metabolitos en FO es posible debido a la presencia de cantidades significativas de BE en fluidos biológicos como la saliva, lo que permite la detección en un período temporal más corto en comparación con otras matrices como la orina (Cone *et al.* 1997; Scheidweiler *et al.* 2010).

En la práctica, la determinación de COC y sus metabolitos en FO se realiza utilizando técnicas altamente sensibles como GC-MS (UNODC 2014; SAMHSA 2023). Esta metodología ofrece especificidad y elevada sensibilidad, permitiendo la detección precisa de la COC, BE, EME y CE incluso en concentraciones bajas. La ventaja del FO como matriz biológica reside en su facilidad de recolección no invasiva, lo que facilita su aplicación en pruebas rápidas de detección, tanto en el control de tránsito como en entornos laborales (Bosker y Huestis 2009; UNODC 2014).

La técnica de SPE es esencial en la preparación de muestras para la detección de COC y sus metabolitos en fluido oral, proporcionando un método reproducible y eficiente. Diferentes tipos de fases sólidas, como las fases C18, mixtas y copoliméricas (Fernández *et al.* 2019), ofrecen alternativas que se adaptan a las propiedades fisicoquímicas de la COC y sus metabolitos, optimizando la recuperación y minimizando las interferencias.

En el marco de este trabajo, se utilizó una columna copolimérica para la extracción en fase sólida de COC y sus metabolitos. Estas columnas ofrecen una alta capacidad de retención para una amplia gama de compuestos debido a su estructura porosa y capacidad de interactuar con los analitos a través de múltiples mecanismos. Estas fases son especialmente útiles para la extracción simultánea de cocaína y sus diferentes metabolitos, incluyendo la BE y la CE (Fernández *et al.* 2019; UCT 2023). En el presente trabajo se adaptaron los volúmenes de solventes empleados en los pasos de acondicionamiento, lavado y elución de columnas de SPE, en función de la masa del relleno de la columna utilizada. El enfoque se basa en el "Clinical and Forensic Applications Manual" de United Chemical Technologies Inc. (UCT 2023), donde se especifican ciertos volúmenes estándar de solventes para estas etapas. Sin embargo, en este estudio se utilizó una columna con un relleno de 130 mg, lo que requirió modificaciones en los volúmenes de solvente para optimizar el rendi-

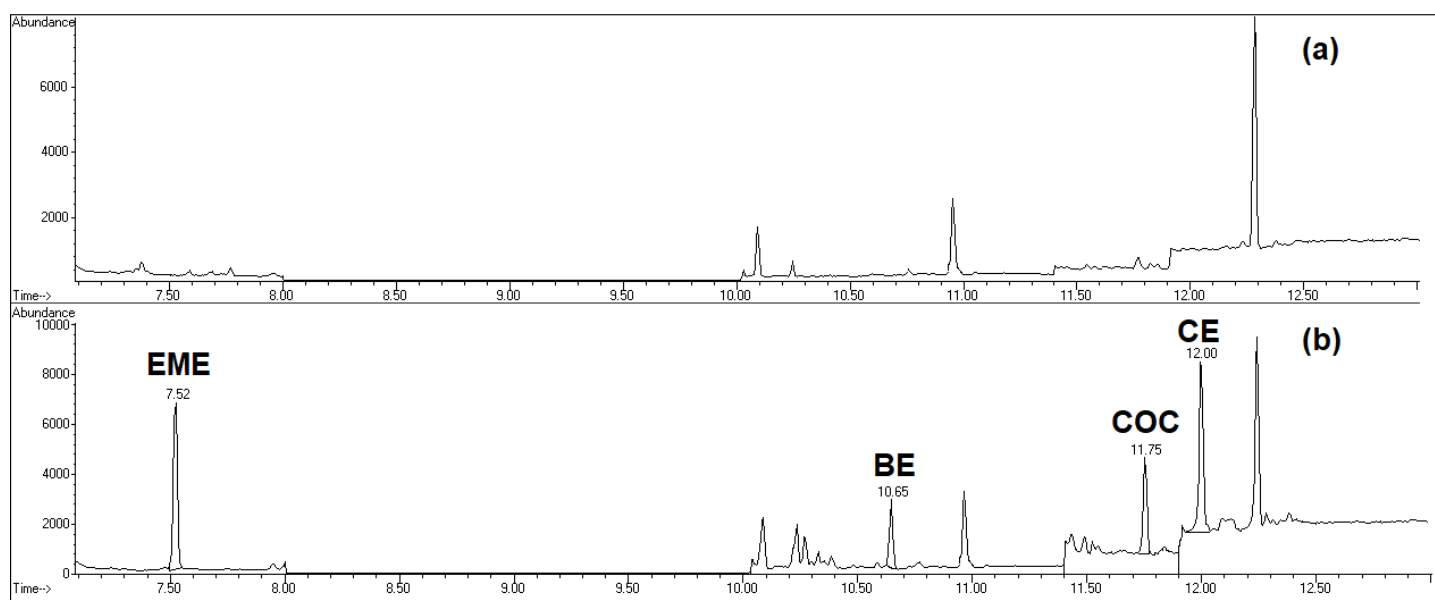
miento de la extracción. Este ajuste es crítico para garantizar la eficiencia en la retención y recuperación de los analitos de interés.

La derivatización es un procedimiento clave en la determinación de COC y sus metabolitos en FO mediante GC-MS, ya que mejora la volatilidad, estabilidad y la capacidad de detección de los compuestos. En particular, el uso en conjunto del HFP y PFPA ha demostrado ser altamente eficaz en la optimización de los análisis de COC y metabolitos en muestras de orina (Fernández *et al.* 2019). En este estudio, se adaptó el uso combinado de HFP y PFPA, previamente utilizado en el CENATOXA para el análisis de COC y sus metabolitos en muestras de orina, para la detección de estos analitos en FO. Esta modificación metodológica permitió explorar una nueva matriz biológica con ventajas sobre la orina, como lo es el FO, que presenta un acceso más

simple y menos invasivo, así como una correlación más cercana con los niveles de drogas en circulación en el momento de la toma de muestra.

Según nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se emplean estos derivatizantes combinados para el análisis de COC y sus metabolitos en FO. Los resultados obtenidos mostraron que la combinación de HFP y PFPA es igualmente eficaz en la derivatización de estos compuestos en esta matriz, proporcionando una adecuada sensibilidad y especificidad.

El análisis de blancos de FO (n=10) no mostró picos interferentes en la ventana de detección de cada analito y de su análogo deuterado (Figura 1a), lo que demuestra la especificidad del método. Esta ausencia de interferencias es esencial, donde la complejidad de la matriz de FO puede generar interferencias con otros compuestos endógenos o exógenos.



**Figura 1.** Cromatograma de una muestra de fluido oral blanco (a) y de una muestra de fluido oral fortificada en el LLOQ (b), adquiridos en modo SIM. **EME** ecgonina metil ester, **BE** benzoilecgonina, **COC** cocaína, **CE** cocaetileno.

Además, la selectividad del espectrómetro de masas fue reforzada por la utilización de ventanas de detección (m/z) estrechas que permitió la identificación precisa de los iones seleccionados, garantizando así la adecuada identificación y cuantificación del analito sin interferencias significativas.

El método desarrollado para la cuantificación de EME, BE, COC y CE en muestras de FO demostró una especificidad adecuada y alta selectividad bajo las condiciones cromatográfica descritas. Se logró una separación óptima entre los analitos, con una resolución adecuada para evitar interferencias entre los compuestos.

El modelo de calibración fue evaluado a partir de un

conjunto de siete curvas de calibración. La suposición de homocedasticidad se evaluó mediante un análisis de regresión lineal. Esta evaluación se llevó a cabo graficando los residuos en función de la concentración obtenida en el ensayo intra-diario y aplicando una prueba F. El gráfico de residuos mostró claramente que el error no se distribuía aleatoriamente en torno al eje de concentración. Asimismo, la prueba F reveló una diferencia significativa entre las varianzas, por lo cual no se cumplió con el supuesto de homocedasticidad. Para compensar la heterocedasticidad, se aplicaron regresiones ponderadas por mínimos cuadrados. Se evaluaron seis factores de ponderación para cada compuesto

**Tabla 2.** Linealidad (n=7).

Compuesto	IS	Modelo	Rango Lineal (ng mL <sup>-1</sup> )	Pendiente (media ± SD) (n=7)	y-Intercepto (media ± SD) (n=7)	R <sup>2</sup> (rango) (n=7)
EME	EME-d <sup>3</sup>	1/X <sup>2</sup>	5 - 800	0,00341±0,00041	0,01930±0,01851	0,9911-0,9957
BE	BE- d <sup>3</sup>	1/X <sup>2</sup>	5 - 800	0,00245±0,00026	0,01181±0,00902	0,9927-0,9957
COC	COC-d <sup>3</sup>	1/X <sup>2</sup>	5 - 800	0,00276±0,00049	0,02298±0,01172	0,9910-0,9940
CE	CE-d <sup>3</sup>	1/X <sup>2</sup>	5 - 800	0,00327±0,00023	0,04370±0,02172	0,9902-0,9948

Media y desviación estándar.

**EME** ecgonina metil ester, **BE** benzoilecgonina, **COC** cocaína, **CE** cocaetileno.

( $1/x^{0,5}$ ,  $1/x$ ,  $1/x^2$ ,  $1/y^{0,5}$ ,  $1/y$ ,  $1/y^2$ ). La selección del factor de ponderación más adecuado se realizó en función del ER% asociado a cada uno. Se eligió el factor que presentó la menor suma de errores y que, simultáneamente, mostró un valor medio de  $R^2 \geq 0,99$ . Dicho factor fue  $1/x^2$  para todos los analitos evaluados. A partir de estas regresiones ponderadas por mínimos cuadrados, se obtuvieron relaciones lineales válidas entre 5 y 800 ng/mL para todos los analitos, con coeficientes de correlación superiores a 0,990 y a exactitud de los calibradores [ER%] fue inferior a  $\pm 15\%$  para todas las concentraciones evaluadas. En la *Tabla 2* se presentan los valores medios y las desviaciones estándar de las pendientes, las ordenadas al origen y los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las curvas de calibración para cada compuesto. Estos resultados son consistentes con los estándares internacionales para la validación de métodos bioanalíticos, y comparables con otros estudios en fluido oral que también reportaron coeficientes de correlación mayores a 0,99 para cocaína y sus metabolitos (Cámpora *et al.*

2003; Concheiro *et al.* 2010; Montesano *et al.* 2015; Fiorentin *et al.* 2017; Fabresse *et al.* 2019)

El LC obtenido en este estudio fue de 5 ng/mL (*Tabla 3, Figura 1b*), proporciona una cuantificación precisa de bajas concentraciones de COC y sus metabolitos en FO. Este valor es comparable e incluso inferior al de algunos métodos previamente reportados en la literatura. Por ejemplo, Fabresse *et al.* (2019) reportaron un LC de 10 ng/mL para COC, BE, EME y CE en FO utilizando LC-MS/MS. Adicionalmente, Fiorentin *et al.* (2017) reportaron un LC de 4,25 ng/mL utilizando 1000  $\mu$ L de FO. Cámpora *et al.* (2003) y Álvarez-Freire *et al.* (2023) reportaron LC de 1 ng/mL utilizando 1000  $\mu$ L de FO. En contraste, nuestro estudio emplea un volumen significativamente menor (250  $\mu$ L), lo que lo hace considerablemente más aplicable en la práctica. Esta reducción en el volumen requerido es crucial, ya que en los dispositivos de recolección de muestras de FO generalmente no se obtienen más de 1 mL de muestra, lo que limita la aplicabilidad de métodos que requieren mayores volúmenes.

**Tabla 3.** Límite de cuantificación (n=10).

Compuesto	Concentración Nominal (ng/mL)	Concentración media calculada ± SD (ng/mL)	CV <sup>1</sup> (%)	ER <sup>2</sup> (%)	S/R	Presencia de iones cualificadores
EME	5,0	4,4 ± 0,59	13,4	-12,0	42	Sí
BE	5,0	4,8 ± 0,42	8,0	-4,0	67	Sí
COC	5,0	5,3 ± 0,34	7,8	5,4	17	Sí
CE	5,0	4,7 ± 0,54	7,9	-6,5	49	Sí

Media y desviación estándar.

<sup>(1)</sup> Coeficiente de variación (%).

<sup>(2)</sup> Error relativo (%) = [(concentración media calculada - concentración nominal)/concentración nominal] × 100]

S/R: Relación señal/ruido.

**EME** ecgonina metil ester, **BE** benzoilecgonina, **COC** cocaína, **CE** cocaetileno.

El LC obtenido en este estudio para COC y BE de 5 ng/mL, permite la cuantificación precisa de bajas concentraciones en FO. Este nivel de sensibilidad es particularmente relevante cuando se compara con los valores de corte (cut-off) para métodos confirmatorios establecidos por entidades internacionales para el análisis de drogas en el lugar de trabajo. Por ejemplo, la Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA 2023) de Estados Unidos establece un valor de cutoff para BE de 8 ng/mL en FO para pruebas de confirmación de COC en programas de monitoreo de drogas laborales y forenses. En la misma línea, la European Workplace Drug Testing Society (EWDTS 2022) establece un valor de corte similar de 8 ng/mL para la detección de BE en matrices orales en sus pautas para la detección de drogas

en el lugar de trabajo. El método desarrollado en este estudio, con un LC de 5 ng/mL, está en línea con estos valores de corte, lo que permite su aplicación en contextos forenses donde se requiere la detección de consumos recientes y la evaluación del cumplimiento de regulaciones internacionales.

En cuanto a la precisión intraensayo, los resultados oscilaron entre 2,2% y 14,4%, mientras que la precisión interensayo varió entre 4,2% y 15,0% (Tabla 4). Estos valores se encuentran dentro de los límites aceptables establecidos por las guías de validación internacionales, y son comparables a los reportados por Cámpora *et al.* (2003). Además, la exactitud del método, expresada en términos de error relativo, fue de  $\pm 12,8\%$  (Tabla 4), lo que indica una exactitud adecuada en la cuantificación de los analitos.

**Tabla 4.** Precisión intraensayo, precisión interensayo y exactitud.

Compuesto	Intra-día (n=5)				Inter-día (n=15)			
	Concentración Nominal (ng/mL)	Concentración Media $\pm$ SD (ng/mL)	CV <sup>1</sup> (%)	ER <sup>2</sup> (%)	Concentración Nominal (ng/mL)	Concentración Media $\pm$ SD (ng/mL)	CV <sup>1</sup> (%)	ER <sup>2</sup> (%)
EME	5	4,8 $\pm$ 0,22	4,6	-4,0	5	5,2 $\pm$ 0,39	7,5	4,0
	10	11,2 $\pm$ 2,0	14,4	11,9	35	35,7 $\pm$ 5,3	14,9	2,0
	300	314 $\pm$ 11	3,6	4,8	150	160 $\pm$ 13	8,0	6,9
	800	806 $\pm$ 18	2,2	0,7	350	322 $\pm$ 30	9,2	-11,3
					750	711 $\pm$ 44	6,2	-5,2
BE	5	5,4 $\pm$ 0,52	9,6	8,0	5	4,9 $\pm$ 0,70	14,3	-2,0
	10	10,7 $\pm$ 0,9	8,8	6,8	35	39,5 $\pm$ 4,5	11,3	12,8
	300	318 $\pm$ 15	4,6	5,9	150	168 $\pm$ 7	4,2	12
	800	817 $\pm$ 21	2,5	2,2	350	357 $\pm$ 27	7,5	2,0
					750	728 $\pm$ 44	6,0	-2,9
COC	5	4,6 $\pm$ 0,33	7,2	-8,0	5	5,1 $\pm$ 0,75	14,7	2,0
	10	9,5 $\pm$ 1,0	13,1	-4,5	35	35,1 $\pm$ 5,3	15,0	0,4
	300	313 $\pm$ 14	4,5	4,4	150	156 $\pm$ 14	9,2	3,9
	800	814 $\pm$ 32	4,0	1,7	350	322 $\pm$ 27	8,5	-8,0
					750	710 $\pm$ 77	10,8	-5,4
CE	5	5,1 $\pm$ 0,45	8,8	2,0	5	4,4 $\pm$ 0,60	13,6	-12,0
	10	9,5 $\pm$ 1,3	13,6	-4,9	35	36,4 $\pm$ 4,6	12,6	4,1
	300	320 $\pm$ 18	5,5	6,8	150	163 $\pm$ 7,8	4,7	9,1
	800	817 $\pm$ 45	5,5	2,1	350	331 $\pm$ 27	8,1	-5,5
					750	715 $\pm$ 48	6,7	-4,7

Media y desviación estándar.

<sup>(1)</sup> Coeficiente de variación (%).

<sup>(2)</sup> Error relativo (%) = [(concentración media calculada - concentración nominal / concentración nominal)  $\times$  100].

**EME** ecgonina metil ester, **BE** benzoilecgonina, **COC** cocaína, **CE** cocaetileno.

La recuperación relativa de los analitos fue del 89-106% (Tabla 5), reflejando una buena eficiencia del método, superando incluso los resultados de recuperación observados en estudios previos. Fiorentin *et al.* (2017) reportaron recuperaciones del 65-79% para BE, mientras que Concheiro *et al.* (2010) informaron

una recuperación para BE y EME del 25% y 18% respectivamente. El método propuesto por nuestro grupo ofrece una mejor capacidad de retención y recuperación de los analitos en esta matriz biológica. Esta elevada recuperación, asegura que el método es preciso y fiable para su uso en aplicaciones forenses y clínicas.

**Tabla 5.** Recuperación (%) evaluada a tres concentraciones (n=3).

Compuesto	Concentración Nominal (ng/mL)	Recuperación $\pm$ S.D. (%)	CV <sup>1</sup> (%)
<b>Ecgonina metil ester</b>	5	98 $\pm$ 8	8,2
	10	100 $\pm$ 10	10,0
	300	96 $\pm$ 12	12,8
	800	106 $\pm$ 10	10,0
<b>Benzoilecgonina</b>	5	95 $\pm$ 4	4,2
	10	105 $\pm$ 7	7,0
	300	89 $\pm$ 4	4,8
	800	96 $\pm$ 4	4,2
<b>Cocaína</b>	5	103 $\pm$ 7	6,8
	10	104 $\pm$ 6	6,0
	300	99 $\pm$ 11	11,4
	800	100 $\pm$ 5	5,3
<b>Cocaetileno</b>	5	91 $\pm$ 2	2,2
	10	102 $\pm$ 12	12,0
	300	101 $\pm$ 9	9,3
	800	104 $\pm$ 4	4,1

Media y desviación estándar.

<sup>(1)</sup> Coeficiente de variación (%).

En cuanto a la estabilidad, los analitos resultaron ser estables durante tres ciclos de congelado y descongelado (Tabla 6), un aspecto crucial en el manejo de muestras biológicas que pueden estar sujetas a variaciones de temperatura durante el almacena-

miento o el transporte. Este resultado coincide con lo reportado por Montesano *et al.* (2015), quienes evaluaron la estabilidad de la cocaína y sus metabolitos en fluido oral bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

**Tabla 6.** Estabilidad evaluada a 4 concentraciones (n=3).

Compuesto	Tres ciclos descongelado/congelado (-20°C)			
	Concentración Nominal (ng/mL)	Concentración Media $\pm$ SD (ng/mL)	CV <sup>1</sup> (%)	ER <sup>2</sup> (%)
Ecgonina metil ester	35	33 $\pm$ 3,0	9,3	-6,7
	150	150 $\pm$ 6,0	4,1	0,4
	350	345 $\pm$ 15	7,5	-1,4
	750	759 $\pm$ 29	8,4	1,2
Benzoilecgonina	35	36 $\pm$ 5,0	2,2	2,8
	150	152 $\pm$ 26	5,7	1,3
	350	359 $\pm$ 10	4,3	2,6
	750	763 $\pm$ 5,7	7,0	1,7
Cocaína	35	35 $\pm$ 3,7	10,9	-1,5
	150	153 $\pm$ 6,5	4,3	2,0
	350	338 $\pm$ 8,5	5,7	-3,4
	750	767 $\pm$ 11	9,6	2,3
Cocaetileno	35	38 $\pm$ 1,8	4,8	7,3
	150	166 $\pm$ 14	8,9	11,0
	350	341 $\pm$ 12	3,4	-2,6
	750	775 $\pm$ 21	5,1	3,3

Media y desviación estándar.

<sup>(1)</sup> Coeficiente de variación (%).

<sup>(2)</sup> Error relativo (%) = [(concentración media calculada - concentración nominal)/concentración nominal]  $\times$  100].

### Aplicación en Muestras Reales

En el presente estudio, se analizaron 13 muestras de fluido oral previamente clasificadas como positivas para cocaína mediante una prueba inicial o de screening, las cuales fueron cuantificadas utilizando el método propuesto. Las muestras fueron sometidas a los criterios de confirmación establecidos por la WADA (2023). La distribución de los resultados obtenidos fue la siguiente: BE en 12 muestras (rango de concentración: 23,7 - 356,3 ng/mL), EME en 7 muestras (rango de concentración: 6,5 - 54,9 ng/

mL), COC en 5 muestras (rango de concentración: 13,2 - 42,2 ng/mL) y CE en 2 muestras (6,4 ng/mL y 8,1 ng/mL). En una muestra no se logró identificar la presencia de BE, COC, EME ni CE. Este resultado podría estar relacionado con una mala interpretación o con la especificidad de la prueba de detección inicial.

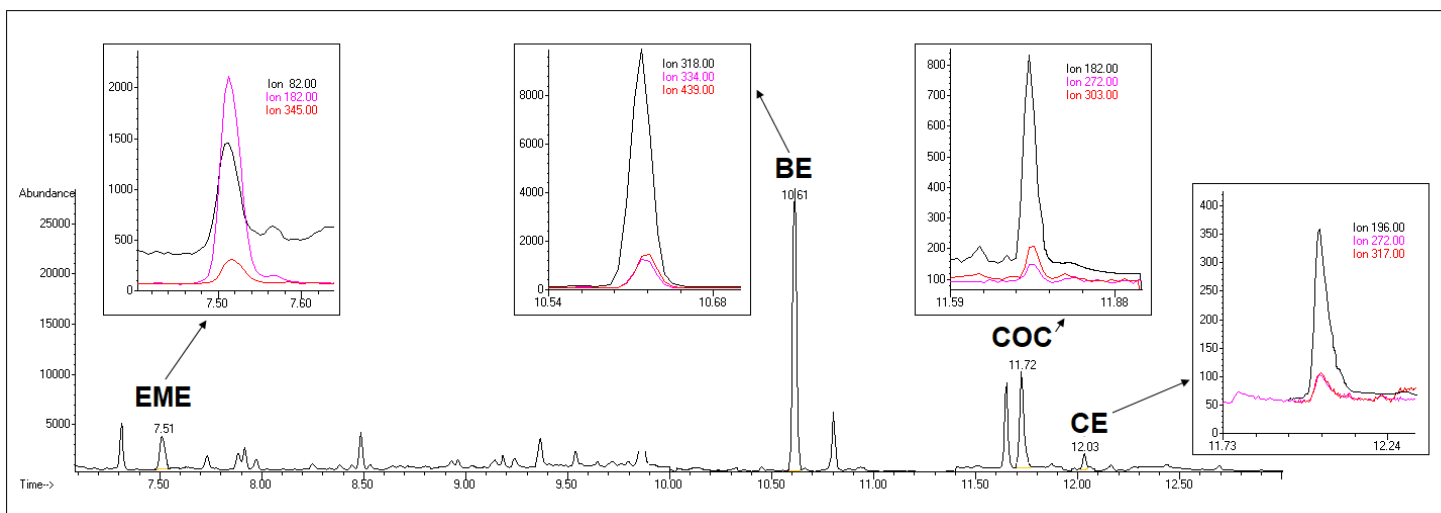
En la *Tabla 7* se presentan los valores de BE, COC, EME y CE en las muestras analizadas, y en la *Figura 2* un cromatograma con los iones monitoreados de EME, BE, COC y CE para una muestra real (muestra #1).

**Tabla 7.** Aplicación en muestras reales.

Muestra #	EME (ng/mL)	BE (ng/mL)	COC (ng/mL)	CE (ng/mL)
1	19,2	297,7	28,8	8,1
2	54,9	356,3	42,2	6,4
3	ND	ND	ND	ND
4	ND	62,9	13,9	ND
5	ND	65,0	ND	ND
6	ND	189,7	13,3	ND
7	ND	132,1	13,2	6,5
8	10,2	37,3	ND	ND
9	15,6	34,8	ND	ND
10	12,2	48,6	ND	ND
11	ND	39,8	ND	ND
12	10,2	23,7	ND	ND </td
13	6,5	42,4	ND	ND

ND no detectable.

**EME** ecgonina metil ester, **BE** benzoilecgonina, **COC** cocaína, **CE** cocaetileno.



**Figura 2.** Cromatograma de una muestra de fluido oral (Muestra #1) con resultado positivo en la prueba inicial o screening identificada. **EME** ecgonina metil ester, **BE** benzoilecgonina, **COC** cocaína, **CE** cocaetileno.

### CONCLUSIÓN

La determinación de COC y sus metabolitos en FO es una herramienta clave para el monitoreo del consumo reciente de esta droga. El método desarrollado en este estudio, basado en la cuantificación de EME, BE, COC y CE, demuestra ser altamente sensible y específico,

con un LC de 5 ng/mL, alineándose con los valores de corte establecidos por entidades internacionales como la SAMHSA y la EWDTs.

Entre las principales ventajas del método destaca su capacidad para detectar bajas concentraciones de metabolitos con un pequeño volumen de muestra, lo cual es crucial en entornos forenses y clínicos, donde se re-

quiere sensibilidad y especificidad en la detección de consumos recientes. Además, la recuperación elevada y la estabilidad de los analitos en las condiciones de análisis optimizan la confiabilidad del método, superando incluso los resultados de estudios previos.

En comparación con otras publicaciones, el presente método no solo ofrece una mayor sensibilidad, sino que también simplifica el procesamiento de las muestras mediante la combinación de HFP y PFPa como agentes derivatizantes, facilitando su implementación en laboratorios toxicológicos. La alta selectividad y ausencia de interferencias, sumadas a la simplicidad en la recolección de FO como matriz biológica, refuerzan su valor para aplicaciones en controles por conducir bajo la influencia de drogas, monitoreo laboral y contextos forenses.

En resumen, el método propuesto ofrece un equilibrio ideal entre sensibilidad, precisión y simplicidad, consolidándose como una herramienta eficaz y robusta para el análisis toxicológico de COC y sus metabolitos en FO. Estas propiedades lo convierten en una alternativa competitiva frente a otros métodos disponibles, destacando su potencial para aplicaciones forenses, clínicas y laborales que requieren un enfoque confiable y eficiente.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la contribución de la investigación a los bioquímicos Ainchil Lorenzano, Jeremías A.; Carreras, Laura J.; Colazo Buttazzoni, Paula C.; Mongelós Gibelli, Diego A.; Stroia, Noelia G.

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no poseen conflictos de intereses o relaciones personales que hayan podido influir sobre lo enunciado en este trabajo.

## REFERENCIAS

Álvarez-Freire I, Cabarcos-Fernández P, Rubio NC, Moreda-Piñeiro A, Tabernero-Duque MJ, Sánchez-Sellero I, Bermejo-Barrera P, Bermejo-Barrera AM. 2023. Detection of coca alkaloids in oral fluid from coca leaf (tea) consumers: using solid phase extraction to improve validation parameters and widen the detection window. *Analytical Methods*. 23;15(45): 6177-6183. <https://doi.org/10.1039/D3AY01298K>

Barroso M, Gallardo E, Queiroz JA. 2009. Bioanalytical methods for the determination of cocaine and metabolites in human biological samples. *Bioanalysis*. 1(5): 977-1000. <https://doi.org/10.4155/bio.09.72>

Bassotti E, Merone GM, D'Urso A, Savini F, Locatelli M, Tartaglia A, Dossetto P, D'Ovidio C, de Grazia U. 2020. A new LC-MS/MS confirmation method for the determination of 17 drugs of abuse in oral fluid and its application to real samples. *Forensic Science International*. 312: 110330. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110330>

Bosker WM, Huestis MA. 2009. Oral fluid testing for drugs of abuse. *Clinical Chemistry*. 55(11): 1910-1931. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.108670>

Cámpora P, Bermejo AM, Tabernero MJ, Fernández P. 2003. Quantitation of cocaine and its major metabolites in human saliva using gas chromatography-positive chemical ionization-mass spectrometry (GC-PCI-MS). *Journal of Analytical Toxicology* 27(5): 270-4. <https://doi.org/10.1093/jat/27.5.270>

Clauwaert K, Decaestecker T, Mortier K, Lambert W, Deforce D, Van Peteghem C, Van Bocxlaer J. 2004. The determination of cocaine, benzoylecgonine, and cocaethylene in small-volume oral fluid samples by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*. 28(8): 655-9. <https://doi.org/10.1093/jat/28.8.655>

Cone EJ, Kumor K, Thompson LK, Sherer M. (1988). Correlation of saliva cocaine levels with plasma levels and with pharmacologic effects after intravenous cocaine administration in human subjects. *Journal of Analytical Toxicology*. 12(4), 200-206. <https://doi.org/10.1093/jat/12.4.200>

Cone EJ, Oyler J, Darwin WD. (1997). Cocaine Disposition in Saliva Following Intravenous, Intranasal, and Smoked Administration. *Journal of Analytical Toxicology*. 21(6), 465-475. <https://doi.org/10.1093/jat/21.6.465>

Desrosiers BA y Huestis MA. 2019. Oral Fluid Drug Testing: Analytical Approaches, Issues and Interpretation of Results. *Journal of Analytical Toxicology*. 43(6): 415-443. <https://doi.org/10.1093/jat/bkz048>

Drummer OH. 2008. Introduction and review of collection techniques and applications of drug testing of oral fluid. *Therapeutic Drug Monitoring*. 30(2): 203-6. <https://doi.org/10.1097/ftd.0b013e3181679015>

Ellefsen KN, Concheiro M, Pirard S, Gorelick DA, Huestis MA. 2016. Cocaine and benzoylecgonine oral fluid on-site screening and confirmation. *Drug Testing and Analysis*. 8(3-4): 296-303. <https://doi.org/10.1002/dta.1966>

[EWDTS] European Workplace Drug Testing Society European. 2022. Guidelines for Workplace Drug Testing in Oral Fluid, Version 3.0.

Fabresse N, Aouad H, Knapp A, Mayer C, Etting I, Larabi IA, Alvarez JC. 2019. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous detection of 10 illicit drugs in oral fluid collected with FLOQSwabs™ and application to real samples. *Drug Testing and Analysis*. 11(6): 824-832. <https://doi.org/10.1002/dta.2563>

Fernández N, Cabanillas LM, Olivera NM, Quiroga PN. 2019. Optimization and validation of simultaneous analyses of ecgonine, cocaine, and seven metabolites in human urine by gas chromatography-mass spectrometry using a one-step solid-phase extraction. *Drug Testing and Analysis*. 11(2): 361-373. <https://doi.org/10.1002/dta.2547>

Fiorentin TR, D'Avila FB, Comiran E, Zamboni A, Scherer JN, Pechansky F, Borges PEM, Fröhlich PE, Limberger RP. 2017. Simultaneous determination of cocaine/crack and its metabolites in oral fluid, urine and plasma by liquid chromatography-mass spectrometry and its application in drug users. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 86: 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2017.04.003>

[FDA] Food and Drug Administration. 2020. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. U.S. Maryland: Department of Health And Human Services, Food and Drug Administration.

Gallardo E, Rosado T, Barroso M. 2023. The potential of oral fluid in drug monitoring: an update. *Bioanalysis*, 15(12): 657-660. <https://doi.org/10.4155/bio-2023-0122>

Montesano C, Simeoni MC, Curini R, Sergi M, Sterzo CL, Compagnone D. 2015. Determination of illicit drugs and metabolites in oral fluid by microextraction on packed sorbent coupled with LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 407, 3647-3658. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8583-8>

Roque Bravo R, Faria AC, Brito-da-Costa AM, Carmo H, Mladěnka P, Dias da Silva D, Remião F. 2022 Cocaine: an updated overview on chemistry, detection, bio-kinetics, and pharmacotoxicological aspects including abuse pattern. *Toxins (Basel)*. 114(4): 278. <https://doi.org/10.3390/toxins14040278>

[SAMHSA] Substance Abuse and Mental Health Servi-

ces Administration. Department of Health and Human Services. 2023. Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs, oral fluid. Fed Regist. 42 CFR Chapter I.

Scheidweiler KB, Spargo EA, Kelly TL, Cone EJ, Barnes AJ, Huestis MA. 2010. Pharmacokinetics of cocaine and metabolites in human oral fluid and correlation with plasma concentrations after controlled administration. *Therapeutic Drug Monitoring*32(5): 628-37. <https://doi.org/10.1097/ftd.0b013e3181f2b729>

[SWGTOX] Scientific Working Group for Forensic Toxicology. 2019. Standard practices for method validation in forensic toxicology. ANSI/ASB Standard 036, First Edition.

[UCT] United Chemical Technologies. 2023. Solid phase extraction applica-tions manual. Bristol, PA.

[UNODC] United Nations Office on Drugs and Crime. 2009. Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens, United Nations publication. Sales no. E.09.XI.16.

[UNODC] United Nations Office on Drugs and Crime. 2014. Guidelines for testing drugs under international control in hair, sweat and oral fluid. United Nations publication. ST/NAR/30/Rev.3.

[UNODC] United Nations Office on Drugs and Crime. 2023. Informe Mundial sobre Drogas 2023. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito.

Verstraete AG. 2004. Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. *Therapeutic Drug Monitoring*. 26(2)200-5. <https://doi.org/10.1097/00007691-200404000-00020>

Wille SM, Baumgartner MR, Fazio VD, Samyn N, Kraemer T. 2014. Trends in drug testing in oral fluid and hair as alternative matrices. *Bioanalysis*. 6(17): 2193-209. <https://doi.org/10.4155/bio.14.194>

[WADA] Word Anti-Doping Agency. 2023. Minimum criteria for chromatographic-mass spectrometric confirmation of the identity of analytes for doping control purposes.

Xu YQ, Crumb WJ Jr, Clarkson CW. 1994. Cocaethylene, a metabolite of cocaine and ethanol, is a potent blocker of cardiac sodium channels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 271(1): 319-25.

## REVISIONES

---

# El impacto en el ambiente debido a la fabricación y el uso de propulsores sólidos. Evaluación del riesgo tóxico: necesidades y desafíos

## Environmental impact of solid propellant manufacturing and use. Toxic risk assessment: needs and challenges

Ross, Pablo G.<sup>1,2</sup>; Costantini, Martín H.<sup>3,4</sup>; Castro, Gerardo D.<sup>3,4\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería del Ejército Gral. Div. Manuel N. Savio, Universidad de la Defensa Nacional (UNDEF). Av. Cabildo 15, C1426AAA Ciudad Autónoma de Buenos Aires. <sup>2</sup>Departamento de Química Aplicada. <sup>3</sup>Departamento de Investigaciones en Bioseguridad y Toxicología. Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas para la Defensa (CITEDEF). Juan Bautista de La Salle 4397, B1603ALO Villa Martelli. <sup>4</sup>Unidad de Investigación y Desarrollo Estratégicos para la Defensa (UNIDEF, MINDEF-CONICET).

\*[gcastro@citedef.gob.ar](mailto:gcastro@citedef.gob.ar)

Recibido: 15 de octubre de 2024

Aceptado: 30 de diciembre de 2024

Editor: Adolfo de Roodt

**Resumen:** Los ésteres nítricos alifáticos son actualmente los ingredientes energéticos más utilizados en propulsores sólidos de base simple, doble y triple. Estos compuestos son inestables en condiciones ambientales, por lo que deben incorporarse en la fórmula del propulsante agentes estabilizantes para inhibir y ralentizar las reacciones que llevan a su descomposición. Varias de estas sustancias estabilizantes son tóxicas o generan productos tóxicos durante su uso, ocasionando diversos problemas ambientales y para la salud humana. Al ser liberados a la biosfera, estos xenobióticos representan riesgos tóxicos para los ecosistemas, los seres humanos y otras biotas. Los suelos de todo el mundo se contaminan con materiales energéticos provenientes de operaciones de fabricación, conflictos militares, entrenamientos militares en campos de tiro e impacto, y la quema/detonación a cielo abierto de municiones obsoletas. En estos contextos, los materiales energéticos experimentan transformaciones bióticas y abióticas, dependiendo de los compuestos involucrados y de factores ambientales, que causan diferentes niveles de contaminación con efectos negativos en los receptores ecológicos que habitan los sitios impactados y las áreas adyacentes expuestas a la migración externa de los contaminantes. La evaluación del impacto tóxico provocado por la contaminación del ambiente con compuestos explosivos y propulsores es un tema complejo, no solamente por la variedad de sustancias energéticas que pueden involucrarse sino también -y fundamentalmente- por las interacciones con las variables ambientales, que pueden modificar drásticamente el destino y la persistencia ambientales y por supuesto, la toxicidad para organismos diversos. Puede decirse que los explosivos y propulsores más comunes hoy en uso no son sustancias muy estables en el ambiente o refractarias a la degradación, tanto por caminos abióticos como mediados por organismos vivos. Sin embargo, esto no debe interpretarse como una ventaja (respecto a otras sustancias más persistentes) ya que varios de sus caminos de transformación química conducen a compuestos con una toxicidad apreciable. Esta característica hace que, aun cuando la permanencia de la estructura química original en un ambiente no sea extensa, el aporte crónico del contaminante sumado a su conversión a especies más tóxicas lleve a un escenario de riesgo ambiental persistente y de complejidad cambiante.

**Palabras clave:** Propulsores; Nitrocelulosa; Nitroglicerina; Difenilamina; Centralitas; Perclorato de amonio.

**Abstract:** Aliphatic nitric oxide esters are currently the most widely used energetic ingredients in single-, double-, and triple-base solid propellants. These compounds are unstable under ambient conditions, so stabilizing agents must be incorporated into the propellant formula to inhibit and slow the reactions that lead to their decomposition. Several of these stabilizing substances are toxic or generate toxic byproducts during use, causing various environmental and human health problems. When released into the biosphere, these xenobiotics provoke toxic risks to ecosystems, humans, and other biota. Soils around the world are contaminated with energetic materials from manufacturing operations, military conflicts, military training at firing and impact ranges, and the open burning/detonation of obsolete munitions. In these contexts, energetic materials undergo biotic and abiotic transformations, depending on the compounds involved and environmental factors, causing varying levels of contamination with negative effects on ecological receptors inhabiting the impacted sites and adjacent

areas exposed to the external migration of contaminants. Assessment of the toxic impact caused by environmental contamination with explosive and propellant compounds is a complex issue, not only due to the variety of energetic substances that can be involved but also—and fundamentally—due to the interactions with environmental variables, which can drastically alter environmental fate and persistence, and of course, toxicity to different organisms. It can be said that the most common explosives and propellants in use today are not very stable substances in the environment or refractory to degradation, either through abiotic pathways or mediated by living organisms. However, this should not be interpreted as an advantage (compared to other more persistent substances), since several of their chemical transformation pathways lead to compounds with appreciable toxicity. This characteristic means that, even when the permanence of the original chemical structure in an environment is not extensive, the chronic contribution of the contaminant, combined with its conversion to more toxic species, leads to a scenario of persistent environmental risk of evolving complexity.

**Keywords:** Propellants; Nitrocellulose; Nitroglycerin; Diphenylamine; Centralites; Ammonium perchlorate.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de los compuestos energéticos, que no son más que los componentes químicos activos de los explosivos y propulsores, es necesaria tanto para fines pacíficos (por ejemplo: construcción, demolición y minería) como en actividades militares. Entre los compuestos energéticos de uso más común se encuentran los explosivos 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina (RDX) y octahidro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocina (HMX) (Castro 2024; Ross y Castro 2024). La nitroglicerina, la nitroguanidina, la nitrocelulosa, el 2,4-dinitrotolueno y el perclorato de amonio se emplean en distintas formulaciones de propulsores de misiles, cohetes y armas.

Los propulsores sólidos para cañones, artillería y morteros se componen de materiales de baja explosividad formulados para operar a una velocidad controlada y producir gases que impulsan cohetes o aceleran los proyectiles de los cañones. El componente principal de las formulaciones de propulsores para cañones, artillería y morteros suele ser un compuesto químico orgánico nitrado, como la nitrocelulosa, frecuentemente combinado con otras sustancias energéticas como la nitroglicerina, la nitroguanidina o los dinitrotoluenos. Es así que los propulsores sólidos que contienen nitrocelulosa se dividen en tres clases, según la presencia de energéticos añadidos y los propulsores de base simple que contienen la nitrocelulosa como único material energético. Los propulsores de base doble contienen al polímero impregnado con un nitrato orgánico como la nitroglicerina y los de base triple incluyen además nitroguanidina. Otros ingredientes comprenden compuestos que modifican la velocidad de combustión, aglutinantes o plastificantes que facilitan la carga del propulsor en la carcasa y a compuestos que mejoran la estabilidad del propulsor durante su almacenamiento (Pichtel 2012).

Uno de los problemas técnicos principales relacionados con la fabricación y el uso de propulsores, es la evaluación de su estabilidad química y la predicción de

su vida útil segura. A una temperatura de almacenamiento normal de 21-30 °C, los propulsores deberían tener una vida útil segura de 140 años, y un mínimo de 35 años (Lee *et al.* 2015). Sin embargo, es una propiedad característica de los propulsores basados en nitrocelulosa, que los constituyentes de tipo éster nítrico (como la nitroglicerina o la nitrocelulosa) experimentan una descomposición lenta incluso a temperatura ambiente. Los procesos químicos subyacentes en esta degradación espontánea han sido muy bien estudiados (Lindblom 2004; Trache y Tarchoun 2018). Los productos de degradación formados, a menos que se eliminen, pueden reducir la estabilidad química, lo que puede provocar la autoignición del propulsor debido a la naturaleza exotérmica de las reacciones. Además, pueden provocar pérdida del poder calorífico, cambios en las propiedades balísticas y agrietamiento en cargas de diámetro grande.

Es por esta razón que se incluyen cantidades pequeñas de compuestos estabilizadores en las formulaciones de los propulsores, ya sea individualmente o en mezclas, para que reaccionen con los productos de degradación, reduciendo así la probabilidad de estos efectos adversos. Estos aditivos no pueden prevenir la descomposición de los ésteres nítricos, pero sí pueden inhibirla y evitar el efecto catalítico causado por productos de descomposición como NO, NO<sub>2</sub>, HNO<sub>2</sub> y HNO<sub>3</sub>. Los estabilizantes reaccionan progresivamente con los gases liberados por la composición energética hasta su agotamiento. La disminución de estos “estabilizadores primarios” se acompaña de la formación de diferentes derivados considerados “estabilizadores secundarios”, ya que también desempeñan una acción estabilizadora. Los estabilizantes convencionales empleados para materiales energéticos basados en ésteres nítricos, son aminas aromáticas como la difenilamina, la 2-nitrodifenilamina y la p-nitro-N-etilanilina, y compuestos de urea como la N,N'-di-*tert*-butil-N,N'-difenilurea (etil centralita), la N,N'-dimetil-N,N'-difenilurea (metil centralita) y la N-metil-N,N'-difenilurea (akardita II). Al reaccionar con los óxidos de nitrógeno, los estabiliza-

dores convencionales se convierten en una variedad de N-nitrosaminas y C-nitrosaminas. Las reacciones de estos agentes estabilizadores son complejas y en ellas se generan diferentes productos sucesivos desde el estabilizador primario, que también pueden actuar como estabilizadores (Lindblom 2004; Trache y Tarchoun 2018). El término "estabilizador eficaz" se utiliza para evaluar la estabilidad en la prueba de temperatura única. Los estabilizadores secundarios son sustancias con propiedades estabilizadoras que no se incluyeron en la formulación del propulsante, pero que se produjeron a partir de los estabilizadores iniciales durante su fabricación o envejecimiento. La mayoría de los productos de agotamiento de los estabilizadores pertenecen a esta clase. Algunos de los productos de transformación de la difenilamina pueden unirse a la estructura polimérica de la nitrocelulosa mediante interacciones complejas (Lindblom 2004). Lo cierto es que en cualquier caso o etapa del envejecimiento del propulsante se forman sustancias tóxicas (no todas con una fórmula conocida) con potencial para migrar al ambiente. Los derivados nitrosados generados se consideran tóxicos y cancerígenos. Esto ha motivado la búsqueda de alternativas más seguras y exentas de la formación de N-nitrosaminas y de otros productos tóxicos (Krumlinde *et al.* 2017; Trache y Tarchoun 2018).

### El destino ambiental y la toxicidad de los componentes de las formulaciones propulsantes

La gestión sostenible de los campos de entrenamiento y todo aquel ámbito donde se produzcan o utilicen explo-

sivos y propulsantes requiere el conocimiento de la distribución, el transporte, el destino y la cuantificación de los componentes de las municiones (propulsantes y explosivos) en el suelo, en las aguas superficiales y en las subterráneas (Brannon y Myers 1997; Juhasz y Naidu 2007). Las formulaciones de propulsantes sólidos son mezclas compuestas por compuestos energéticos, aglutinantes, estabilizadores y modificadores de la velocidad de combustión. Los factores que afectan el transporte y el destino ambiental de estos compuestos, tan diversos en estructura y actividad biológica, incluyen la disolución, la sorción, la biotransformación, la volatilización y la transformación fotoquímica (Mirecki *et al.* 2006). Como resultado de las actividades que los utilizan y debido a prácticas inadecuadas para su gestión y eliminación, muchas sustancias energéticas y sus subproductos han contaminado el ambiente hasta niveles que amenazan el ganado, la fauna silvestre y los ecosistemas, y también la salud humana (Pichtel 2012).

Los compuestos energéticos pueden ingresar al suelo a partir de distintas fuentes. Entre las más importantes se destacan: (i) instalaciones de producción de municiones y propulsantes, por ejemplo, desde lagunas de aguas residuales, fosas de filtración; (ii) instalaciones de empaque o almacenamiento; (iii) instalaciones de eliminación y destrucción de residuos, por ejemplo, vertederos a cielo abierto, fosas de quema, incineradores; (iv) campos de tiro y zonas de impacto de armas (Spalding y Fulton 1988; Best *et al.* 1999; Spiegel *et al.* 2005; Martel *et al.* 2008; Martel *et al.* 2009; Kalderis *et al.* 2011; Pichtel 2012) (Figura 1).

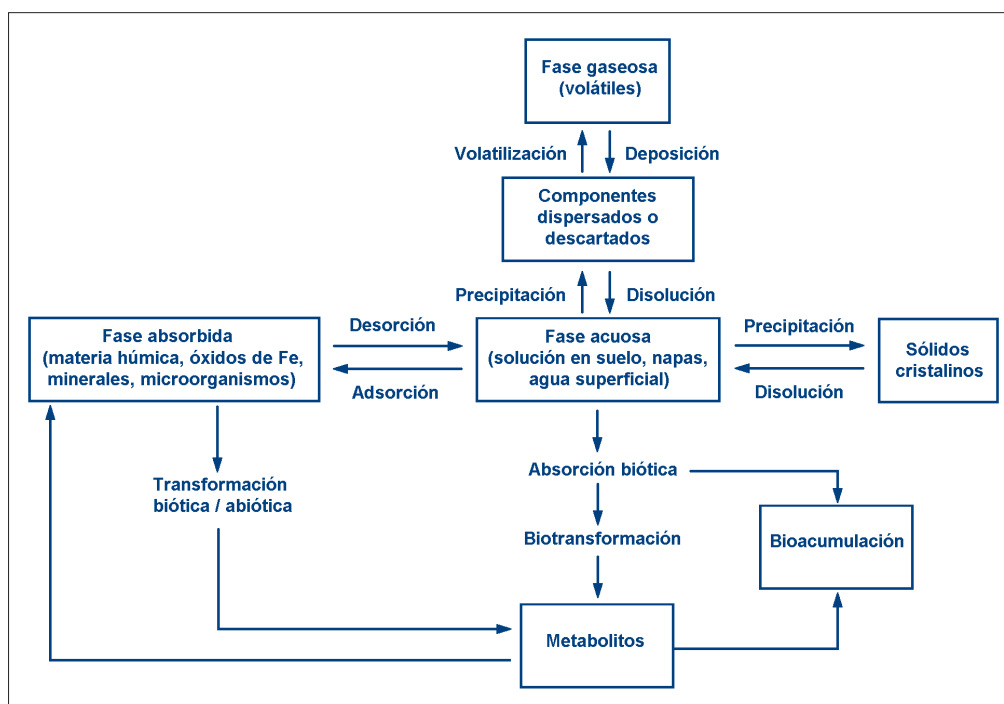


Figura 1. Vías y compartimentos posibles para el destino ambiental de explosivos y propulsantes.

La contaminación del suelo y agua por compuestos energéticos en plantas de fabricación, zonas de conflicto y campos de tiro militares es una preocupación internacional (Ferreira *et al.* 2017; Galante *et al.* 2017). Solo en Estados Unidos, miles de instalaciones militares están catalogadas como contaminadas por compuestos energéticos (Becker 1995; Hains *et al.* 2001; Martel *et al.* 2009; Kalderis *et al.* 2011). Aproximadamente 20 millones de hectáreas se ven afectadas por bombardeos y otras actividades de entrenamiento. Un número aún mayor de sitios contaminados podría existir en Europa y en Asia (Pichtel 2012). Las importantes emergencias de salud pública derivadas de la contaminación del suelo han generado demandas de la ciudadanía en varios de esos lugares para que se tomen medidas de remediación (Eriksson *et al.* 2004). Durante las últimas décadas, una mayor conciencia ambiental ha obligado a los organismos de Defensa en EE.UU., Canadá y muchos países europeos y asiáticos a identificar sitios contaminados y a evaluar el impacto de las actividades militares en la calidad del suelo, las aguas subterráneas y las aguas superficiales (Pichtel 2012).

A diferencia de los compuestos energéticos más comunes, como el TNT y las nitraminas, no es mucho lo que se conoce sobre la toxicidad en los ecosistemas de los componentes orgánicos de las fórmulas propulsantes, una vez liberadas en el ambiente. Esto es notable, visto que existen reportes en la literatura sobre ensayos en modelos experimentales animales (para toxicidad humana) y algunos protocolos para una eventual evaluación de riesgo tóxico ambiental (Arenal y Sample 2015; Quinn 2015; Sample y Arenal 2015; Williams *et al.* 2015; ATSDR 2017; DCPH-A 2023). Esto no es lo mismo que estudiar el destino ambiental de las sustancias, aspecto sobre el cual sí hay información publicada (Kitchens *et al.* 1978; Wentzel *et al.* 1979a; Wentzel *et al.* 1979b; Brannon y Myers 1997; Dave *et al.* 2000; Mirecki *et al.* 2006; Juhasz y Naidu 2007; Pichtel 2012; Liu *et al.* 2019; Edebali *et al.* 2024). En los escenarios ambientales donde estas sustancias podrían estar presentes, juegan un papel determinante variables físico-químicas y biológicas que condicionan su persistencia e impacto tóxico, tal como se analizó en publicaciones recientes de los autores de este manuscrito sobre el impacto tóxico ambiental de los explosivos (Castro 2024; Ross y Castro 2024). El caso del anión perclorato es distinto, ya que es abundante en la literatura la información tanto sobre su disposición en el ambiente como sobre los efectos tóxicos en animales y plantas (Clarkson *et al.* 2006; Smith 2006; Eck 2015; Kumar *et al.* 2023; Sahu 2024).

### **Nitrocelulosa**

Existe poca información sobre el destino ambiental de la nitrocelulosa, aunque puede inferirse algún patrón

de comportamiento a partir de las propiedades físico-químicas del compuesto. La baja solubilidad de la nitrocelulosa en agua sugiere que es poco probable que se produzca un lavado desde el aire o una lixiviación desde vertederos y otros sitios contaminados hacia aguas superficiales o subterráneas (Quinn 2015). La nitrocelulosa es relativamente resistente a la biodegradación, lo que puede contribuir a su persistencia en el ambiente (Ryon 1986). Reconociendo que la fabricación de municiones que contienen el compuesto genera cantidades sustanciales de nitrocelulosa residual en el ambiente, el Centro Ambiental del Ejército de los Estados Unidos publicó un informe técnico sobre la posibilidad de eliminar de forma segura el compuesto mediante compostaje (U.S. AEC 2002). Este organismo realizó una demostración de campo en la Planta de Municiones del Ejército Badger (EE.UU.) identificando mezclas de compost viables que contenían sustratos biodegradables y agentes de carga para promover la actividad catabólica microbiana. Sin embargo, la eficiencia del sistema sigue siendo incierta debido a la dificultad de monitorear su rendimiento. Otro estudio sugirió que, dado que el triacetato y el trinitrato de celulosa son resistentes a la digestión enzimática, la nitrocelulosa debería ser muy persistente en el ambiente (Sullivan *et al.* 1987). Aunque la biodegradación de la nitrocelulosa no parece muy probable, se ha demostrado que la hidrólisis alcalina produce metabolitos que sí pueden ser degradados por microorganismos (Ryon 1986; Hartley *et al.* 1992).

Estudiar la toxicidad de un compuesto polimérico como la nitrocelulosa implica dificultades experimentales, asociadas con fenómenos que no son habituales para la toxicocinética de moléculas pequeñas. Los pocos estudios referidos en la bibliografía fueron realizados en modelos experimentales animales relevantes para la toxicología humana (rata, perro y ratón; y esencialmente por vía oral) (Quinn 2015). La nitrocelulosa se consideró no tóxica, ya que los únicos efectos observados en estos estudios de toxicidad oral (incluyendo protocolos crónicos y multigeneracionales) fueron un aumento del consumo de alimento, una disminución del aumento de peso y la impactación intestinal. La impactación solo se observó en los ratones debido a sus tractos gastrointestinales relativamente pequeños. En las ratas y perros la nitrocelulosa pudo pasar libremente por sus intestinos, más grandes. Los efectos sobre la alimentación y el peso corporal se debieron al volumen no nutritivo del material fibroso y no degradable. Si bien estos estudios nos llevarían a la conclusión que la nitrocelulosa no es tóxica para la mayoría de las especies de mamíferos monogástricos (incluidos los humanos), no sería prudente extender este juicio para la eventual exposición oral en rumiantes o especies con fermentación intestinal que digieren la celulosa. En

estos animales, sus procesos digestivos podrían liberar nitratos al digerirla, en un ambiente microbiano anaeróbico con potencial redox bajo, que facilitarían reacciones de reducción. Por lo tanto, se debe tener precaución al extrapolar este concepto a los herbívoros. No hay registros en la literatura sobre estudios de toxicidad de la nitrocelulosa en aves, reptiles o anfibios (Quinn 2015). Hay registros sobre toxicidad inhalatoria o dérmica y ocular en humanos para material particulado lo suficientemente fino (NJDOH 2010).

Si bien no hay evidencia que la nitrocelulosa sea directamente tóxica para las plantas, es cierto que su proceso de producción puede generar aguas residuales tóxicas para la vegetación (Ribeiro *et al.* 2013). Estudios de laboratorio han demostrado que la nitrocelulosa puede ser tóxica para algunos organismos acuáticos, especialmente algas (Bentley *et al.* 1977; U.S. EPA 2009). Otras especies como peces, invertebrados y algas, no han mostrado efectos tóxicos agudos. La naturaleza fibrosa de la nitrocelulosa también puede causar problemas ambientales al cubrir los hábitats bentónicos, lo que podría afectar sus poblaciones (Ryon 1986; Ribeiro *et al.* 2013).

Por último, debe mencionarse que el proceso de envejecimiento de la nitrocelulosa en un propulsante, aun en presencia de agentes estabilizantes, supone en alguna medida la modificación química de la estructura polimérica, por interacciones entre la celulosa y los productos que se van formando con el tiempo (por ejemplo, derivados de la difenilamina). Aunque no identificados, su presencia es obvia a través de los cambios de color que el propulsante experimenta al envejecer (Lindblom 2004). Desde el lado toxicológico del problema esto implica que sustancias desconocidas en cantidades variables pasarán al ambiente cuando la nitrocelulosa envejecida se descarte.

### **Difenilamina y sus derivados nitrados y nitrosados**

La difenilamina es una sustancia que se utiliza principalmente por sus propiedades antioxidantes. Tiene numerosas aplicaciones como antioxidante industrial. Esta amina (y sus derivados) se utilizan principalmente como estabilizadores en explosivos y propulsores que contienen nitrocelulosa, en perfumería y como antioxidantes en la industria del caucho y los elastómeros. También se la utiliza ampliamente para prevenir el deterioro poscosecha de los cultivos de manzanas y peras. Es un compuesto precursor de numerosas sustancias que se utilizan para la producción de tintas, productos farmacéuticos, productos químicos para fotografía y otras aplicaciones a pequeña escala. Esto ha llevado a que desde hace bastante tiempo haya merecido la atención de organismos reguladores, en cuanto a su toxicidad humana, residualidad e impacto en

el ambiente (U.S. EPA 1987; U.S. EPA 1998; Drzyzga 2003; Arenal y Sample 2015; U.S. EPA 2015; Ahmed 2024). La razón de fondo es que su propiedad antioxidante está relacionada con la capacidad para generar intermediarios o productos químicos que son reactivos biológicamente (por ejemplo, radicales libres y otros). La difenilamina es un compuesto incluido en la tercera lista de contaminantes prioritarios de la Unión Europea, asignándole a Alemania la evaluación y control de sus riesgos ambientales (Drzyzga 2003).

La difenilamina y la 2-nitrodifenilamina se utilizan como estabilizantes en numerosas mezclas de propulsores sólidos (Kitchens *et al.* 1978; Mirecki *et al.* 2006). La difenilamina estabiliza los propulsores de base simple, en los que la nitrocelulosa es el principal material energético; la 2-nitrodifenilamina estabiliza propulsores de base doble y triple, en los que la nitroglicerina gelatiniza a la nitrocelulosa. Estos compuestos reaccionan con los óxidos de nitrógeno que se forman *in situ* a partir de la degradación de la nitrocelulosa (Wentzel *et al.* 1979a; Haberman 1986). Durante el almacenamiento del propulsante, la difenilamina muestra una creciente sustitución con grupos nitro a medida que se consumen los óxidos de nitrógeno (Haberman 1986). La difenilamina y los compuestos nitro-, dinitro- y nitroso-sustituídos relacionados, presentan una solubilidad en agua de baja a moderada. En la literatura se ha descrito un rango de solubilidades en agua para la difenilamina, con valores entre 36 y 300 mg/L (Mirecki *et al.* 2006). Si bien no abundan los datos sobre el destino y el transporte de la difenilamina en el ambiente, pueden inferirse algunas características a partir de sus propiedades físico-químicas. Por ejemplo, la baja solubilidad de la difenilamina en agua sugiere que el compuesto no se repartirá ni dispersará fácilmente en medios acuosos. Además, un log Kow bajo (3,50) sugiere una baja movilidad en el suelo, aunque se esperaría que la amina se volatilice del suelo húmedo, dada la constante estimada de la Ley de Henry de 2,69 atm·m<sup>3</sup>/mol (Arenal y Sample 2015). La degradación de la difenilamina se dedujo a partir de la disminución de la toxicidad en *Daphnia* al utilizar soluciones acuosas de difenilamina envejecidas (30 días), aunque los productos no se cuantificaron en estos experimentos (Dave *et al.* 2000). La N-nitrosodifenilamina, la 2-nitrodifenilamina, la 4-nitrodifenilamina y la 2,4-dinitrodifenilamina son productos de transformación de la difenilamina. La N-nitrosodifenilamina y la 2-nitrodifenilamina también presentan una solubilidad baja en agua, aunque los valores no están bien cuantificados (Mirecki *et al.* 2006). Estos compuestos también resisten la degradación (Wentzel *et al.* 1979a; U.S. EPA 1992). La 4-nitrodifenilamina es prácticamente insoluble y es improbable que se degrade rápido.

La difenilamina ha mostrado alguna biodegradación,

al menos en condiciones experimentales, mediante bacterias o barros activados (Drzyzga 2003; Arenal y Sample 2015). Es interesante también el hallazgo de cepas bacterianas provenientes de suelos contaminados con la amina, que pueden crecer utilizándola como única fuente de carbono, nitrógeno y energía. Esto puede suponer que se trata de una respuesta adaptativa a la contaminación (Shin y Spain 2009).

A pesar de lo que podría inferirse de la  $DL_{50}$  relativamente alta de la difenilamina, hay un factor común para la toxicidad aguda en modelos animales experimentales (roedores) y es el daño renal como blanco crítico. Se observa una variabilidad muy importante en cuanto a la susceptibilidad entre especies, lo cual es sugestivo para la existencia de pasos críticos mediados por el metabolismo o por las defensas celulares, donde se exprese una diferencia entre los distintos animales (Arenal y Sample 2015). En un régimen de administración subcrónico aparecieron también alteraciones en el bazo y el hígado de ratones, como refiere el documento del IPCS (OMS) sobre esta sustancia. En el mismo, se refieren a los niveles de exposición seguros (NOAEL) como también detalles experimentales de los estudios realizados (IPCS 1998). Para una exposición crónica también se realizaron estudios detallados sobre la morfología y la función renal, detectándose daños progresivos con el tiempo de exposición (rata) (Evan *et al.* 1978). Otros estudios de toxicidad crónica, esta vez con perros durante dos años, mostraron daños en bazo, hígado, riñón y médula ósea (U.S. EPA 1987). Otros varios protocolos de exposición reportados siempre fueron concurrentes en lo que concierne a los sitios blancos de la toxicidad (Arenal y Sample 2015). En el documento elaborado por el IPCS se refieren también a varios estudios realizados en roedores para evaluar toxicidad reproductiva y del desarrollo (IPCS 1998). No hay evidencia en la literatura sobre toxicidad provocada por la inhalación de difenilamina y respecto a la absorción dérmica, estudios realizados con conejos y ratas solamente mostraron alteraciones renales en éstas últimas para dosis altas (Arenal y Sample 2015). Para otras especies no-mamíferas es poca la información disponible, mencionando estudios en gallinas que mostraron daño renal solamente, y en el caso de anfibios la difenilamina mostró ser tóxica y teratogénica (Fort *et al.* 1999).

Respecto a los derivados nitrados de la difenilamina, la información disponible en la literatura refiere esencialmente a los mononitrados y con mayor información para la 4-nitro difenilamina. El isómero orto es un aditivo estabilizante para algunas formulaciones propulsantes como el Otto Fuel II y aquellos de base doble y también con algunos otros usos en la industria civil (Sample y Arenal 2015). Se trata de sustancias con una volatilidad muy baja con lo cual no debería esperarse su

partición hacia el aire. Lo mismo puede decirse respecto de su muy baja solubilidad en agua, que prevendría su difusión hacia napas desde lo absorbido por los sedimentos o suelos, como ya mencionamos. Esto no evitó que se estudiara su impacto ambiental, en particular de la 4-nitro difenilamina (Monsanto Incorporated 1991; ATSDR 1995; OECD 1998). En estos estudios se concluyó que si bien la degradación ambiental podría ser lenta no se esperarían efectos serios debido a su bajo nivel de producción (Sample y Arenal 2015). La información disponible (y relevante para este trabajo) respecto a la toxicidad en modelos animales de laboratorio refiere a daño renal, en el bazo, y a alteraciones en parámetros hematológicos en rata, para dosis moderadas a bajas de 4-nitro difenilamina por vía oral. No debería suponerse un comportamiento similar para el isómero orto utilizado en los propulsantes ya que la posición 2 de un sustituyente como el nitro seguramente influirá en la toxicidad y en el metabolismo de la sustancia. No hay disponibles datos toxicológicos para otras especies, ya sean éstos modelos experimentales o relevantes para la ecotoxicidad (Sample y Arenal 2015).

Por último, nos referiremos a la N-nitroso difenilamina, que es tanto un producto de la acción estabilizante de la difenilamina en las formulaciones propulsantes como también una sustancia con amplio uso en la industria del caucho desde hace muchos años (aunque progresivamente fuera reemplazada por otros compuestos) (ATSDR 2017). La N-nitroso difenilamina puede pasar al ambiente, degradándose en el aire, el agua o el suelo en pocas semanas. En el aire, la luz solar la descompone, como ocurre con muchas N-nitrosaminas. En el suelo y el agua, es degradada por bacterias. La N-nitroso difenilamina se disuelve en agua, pero se adhiere firmemente al suelo y no se desplaza rápidamente. Estudios de laboratorio muestran que esta N-nitrosamina se descompone después de 30 días en ciertos tipos de suelo. No se espera que se acumule en plantas ni en animales (ATSDR 2017). Es importante hacer notar que se trata de una N-nitrosamina que no se ve afectada por las vías metabólicas comunes a muchas otras que son fuertemente carcinogénicas, en razón de su metabolismo de fase I oxidante y mediado por el citocromo P450. En este caso, su metabolismo transcurre esencialmente por denitrosación y posterior oxidación de la difenilamina resultante sobre el átomo de nitrógeno o en el anillo aromático. Esto explica la toxicidad por otros mecanismos que no son los usuales de la N-nitrosaminas (IARC 1982; ATSDR 2017).

### **Dimetil centralita y dietil centralita**

Las centralitas de metilo y etilo son derivados de difenilurea (carbanilida) con sustituyentes alquilo. Estos compuestos estabilizan las mezclas de propulsantes y sus componentes de ignición y detonación en diversas

municiones de pequeño y gran calibre (Mirecki *et al.* 2006; Padfield *et al.* 2014). Estos compuestos también reducen la temperatura del propulsante durante la deflagración, reducen el destello y actúan como gelatinizantes en propulsores que contienen nitroglicerina (U.S. AARDC 1983). Diversos compuestos de nitrourea, anilina y N-nitrosamina se forman *in situ* a medida que la mezcla de propulsante envejece (Wentsel *et al.* 1979b; Curtis 1987; Trache y Tarchoun 2018). Tanto la centralita de metilo como la de etilo presentan una baja solubilidad en agua (Mirecki *et al.* 2006). Si se detectan etil o metil centralita en el suelo, es probable que se dispersarán como sólidos de grano fino, en lugar de como soluto. La etil centralita se hidroliza a un compuesto de anilina solo en condiciones ácidas y calientes (100 °C, 60 % de ácido sulfúrico) (Wentsel *et al.* 1979b) y es resistente a la hidrólisis básica (Kitchens *et al.* 1978).

Muy poca es la información disponible en la literatura acerca de las transformaciones bióticas de estas sustancias, así como de su toxicidad (U.S. Army Environmental Hygiene Agency 1977; Cerilliant 2012; East Harbour Group 2022). Aun así, estas sustancias se consideran residuos peligrosos generados desde la industria militar (Department of the Army 2023). Su estructura química simple permite inferir reacciones bióticas probables, desde lo que se conoce sobre la biotransformación de xenobióticos con base a urea (ejemplo, algunos fármacos y pesticidas). Las ureas sustituidas, en las que uno o ambos átomos de nitrógeno del grupo urea (NH-CO-NH) se sustituyen por grupos alquilo o arilo, se metabolizan mediante mecanismos, como la desalquilación, la hidroxilación y la hidrólisis de la urea misma. Las vías metabólicas específicas y los metabolitos formados dependerán de la estructura de la urea sustituida y de los sistemas enzimáticos implicados. Para la escisión de los grupos etilo o metilo intervendría la desalquilación oxidativa, que a menudo implica enzimas del citocromo P450. Este proceso puede conducir a la formación de ureas menos sustituidas o no sustituidas. La hidroxilación es probable también en las centralitas, por la presencia de los anillos aromáticos, lo que da lugar a la formación de metabolitos hidroxilados (fenoles). Por otra parte, el propio enlace urea puede escindirse, lo que da lugar a la formación de amidas, aminas e isocianatos. Los metabolitos también pueden conjugarse con ácido glucurónico o sulfato, lo que los hace más solubles en agua y facilita su excreción. El hecho que intervengan sistemas enzimáticos como las enzimas del citocromo P450 implica que la naturaleza de los grupos sustituyentes alquilo y arilo, influirá en las vías metabólicas que resulten aptas para biotransformar y los tipos de metabolitos formados. Estas vías metabólicas pueden variar entre las distintas especies, y las diferencias individuales en la actividad

enzimática también pueden afectar el metabolismo de estas ureas sustituidas. En resumen, si bien a priori no se supone que sean compuestos muy tóxicos y con impacto importante en el ambiente, debería monitorearse su persistencia y evaluar su toxicidad en organismos centinela de ecosistemas.

### **Nitroglicerina**

La nitroglicerina se produce esencialmente para su uso militar como componente de propulsores y explosivos. Tiene uso también como vasodilatador, para el tratamiento de enfermedades cardíacas y parece tener un futuro en quimioterapia anti cáncer (Meunier *et al.* 2023). Es posible que la nitroglicerina se libere al ambiente durante su producción y uso como componente de propulsores y explosivos, así como en compuestos farmacéuticos (en una cantidad mucho menor, por supuesto) (Williams *et al.* 2015). Los vertidos de aguas residuales procedentes de la fabricación de preparaciones de dinamita comercial, explosivos militares y otras fuentes de producción pueden contener nitroglicerina. La solubilidad relativamente alta en agua (1 800 miligramos por litro a 20 °C) sugiere que cantidades ambientalmente significativas podrían disolverse en el agua de efluentes y de residuos y permanecer luego en la columna de agua. Su liberación al ambiente se ve influenciada por procesos tanto abióticos como bióticos. La degradación de la nitroglicerina suele ser lenta (Smith 1986). Se estimó que su vida media fotolítica en agua pura es de cinco días, y que su vida media hidrolítica a temperaturas ambientales normales es superior a un año a un pH de 3 a 8. Un entorno alcalino reduce significativamente la vida media hidrolítica del éster (Williams *et al.* 2015).

Si llegara al suelo, la nitroglicerina puede filtrarse fácilmente debido a su alta solubilidad en agua y a su movilidad. Si bien no se dispone de muchos datos experimentales sobre su destino en el suelo, puede deducirse como procesos probables la biotransformación y la hidrólisis abiótica (en condiciones alcalinas preferentemente), mediante pasos sucesivos de desnitrificación. En ambientes acuáticos los caminos de degradación parecen ocurrir principalmente mediante biotransformación y fotólisis. Si se libera a la atmósfera, la nitroglicerina probablemente se encontrará en forma de aerosol y estará sujeta a sedimentación y lavado por la lluvia. En un trabajo de investigación realizado en el contexto real de un campo de entrenamiento militar, se evaluó el destino ambiental de la nitroglicerina, recogiendo muestras de suelos superficiales, suelos subterráneos y agua (Bordeleau *et al.* 2012). Los resultados mostraron que los residuos están compuestos de partículas de propulsante intactas, así como de pequeñas cantidades de nitroglicerina, dinitroglicerina y nitrato, que se disuelven rápidamente por la precipitación, lo

que resulta en pulsos esporádicos de estos compuestos en el agua de la zona no saturada después de eventos de lluvia o deshielo. La nitroglicerina y la dinitroglicerina disueltas pueden degradarse progresivamente, liberando nitrato como producto final. Se dedujo que a lo largo de varios años, las pequeñas partículas ubicadas en la superficie del suelo pueden descender a través del mismo mediante la infiltración de agua, lo que explica la presencia de nitroglicerina en los suelos subterráneos del sitio original, décadas después del cierre del sitio. La nitroglicerina ya no lixivia desde estas partículas antiguas; por lo tanto, su presencia en los suelos subterráneos no implica que las aguas subterráneas corran riesgo de contaminación (Bordeleau *et al.* 2012).

La fotólisis de la nitroglicerina o de su diéster también es una posibilidad, aunque se carece de datos. La constante de la Ley de Henry, calculada a partir de las solubilidades en agua y presiones de vapor reportadas, oscila entre 3,3 y 0,06 Torr L/mol, lo que resulta en una vida media de volatilización a partir del agua de aproximadamente 3 000 días (o aproximadamente ocho años). Por lo tanto, el transporte físico desde sistemas acuosos debería ser relativamente poco importante. Dado su alta solubilidad en agua, su adsorción al suelo y a los sedimentos, así como su bioconcentración en organismos acuáticos, no deberían ser apreciables.

En lo que concierne a la toxicidad de la nitroglicerina, no abunda la información sobre el impacto para la vida silvestre (Sullivan *et al.* 1979). La evidencia más sólida y completa proviene de ensayos con modelos animales experimentales relevantes para la toxicidad humana (roedores, perro), donde se pudo observar para distintos regímenes de administración y dosis una clara toxicidad en el sistema vascular, hepático y en testículo. En estudios de toxicidad reproductiva multigeneracional pudo observarse una caída severa de la fertilidad en roedores (Williams *et al.* 2015). Respecto de ensayos con otras especies animales la evidencia es muy escasa. Tampoco abundan los datos respecto a la fitotoxicidad de la nitroglicerina. En un trabajo se pudo observar actividad metabólica desnitrificante en raíces y translocación de los metabolitos hacia otros tejidos de la planta, junto con bioconcentración de la dinitroglicerina en raíces y brotes (Rocheleau *et al.* 2011).

### **Perclorato de amonio**

El anión perclorato, a pesar de lo que podría suponerse por su nivel de oxidación elevado, es bastante estable en el ambiente y puede persistir en aguas superficiales y subterráneas durante más de una década. Esto se debe a la alta energía de activación que requiere para reaccionar con otros componentes del ambiente (Callahan *et al.* 1998). Sin embargo, una vez que se produce la combustión en el propulsante, el perclorato de amonio provoca reacciones químicas fuertemente exo-

térmicas. Por esta razón, se lo utiliza en propulsantes sólidos para cohetes, fuegos artificiales y municiones (Eck 2015).

Una vía importante de entrada de los percloratos en el ambiente ocurre durante la fabricación y recarga de municiones y de motores sólidos para cohetes. Estas actividades han provocado la contaminación por perclorato de las aguas subterráneas en numerosas instalaciones militares y de fabricación de cohetes (Callahan *et al.* 1998; Sterner y Mattie 1998). Otras fuentes antropogénicas de perclorato incluyen los fuegos artificiales, bengalas de seguridad, explosivos, productos de cloro preparados electroquímicamente y los fertilizantes de nitrato chilenos. También se descubrió que el perclorato se forma naturalmente por la acción de las descargas eléctricas (rayos) sobre las especies de cloro presentes en la atmósfera (Eck 2015).

La persistencia del anión perclorato en el suelo, el agua y en muchos productos que consumen los humanos está ampliamente documentada (Dasgupta *et al.* 2008; Calderón *et al.* 2017; Fang y Naidu 2023; Sahu 2024). La retención del perclorato en el suelo se ve afectada por el pH y la fuerza iónica. Es insignificante en suelos arenosos en la mayoría de las condiciones, incluido a un pH casi neutro. Sin embargo, se ha observado que el perclorato se adsorbe ligeramente en suelos con carga variable en entornos de pH bajo (Pichtel 2012). El anión perclorato pertenece a la clase de contaminantes emergentes que impactarán el ambiente en un futuro cada vez más cercano. Los contaminantes emergentes se definen como aquellas sustancias presentes en fuentes de agua que pueden causar diversos impactos ambientales o en la salud humana (Arman *et al.* 2021). Fuerte oxidante por naturaleza, el perclorato ha sido objeto de preocupación debido a su presencia, naturaleza reactiva y persistencia en diversos entornos, como aguas superficiales y subterráneas, suelos y alimentos. La exposición al perclorato ocurre al ingerirlo, desde el agua o los alimentos. En los animales superiores, la ingestión de perclorato afecta la absorción de yodo en la tiroides, lo que provoca una disminución en la síntesis de la hormona tiroidea, un componente crítico para el metabolismo, el desarrollo neuronal y otras funciones fisiológicas del organismo. Altera el funcionamiento del transportador de sodio-yoduro, impidiendo así el transporte de yodo desde la circulación hacia las células foliculares tiroideas. Esto produce una inhibición competitiva de la captación de yoduro, lo que afecta a la producción de hormona tiroidea. La tiroides es el órgano blanco de toxicidad más importante para la exposición al perclorato, que actuaría como un disruptor endocrino.

En los invertebrados, la función de las hormonas tiroideas (similares a las hormonas tiroideas de los vertebrados) juega un papel equivalente por su relevancia, aunque con algunas diferencias clave en la regulación

y el mecanismo de acción. En invertebrados, las hormonas tiroideas desempeñan un papel en el desarrollo, la metamorfosis (en algunos casos), la regulación del metabolismo y otros procesos fisiológicos.

Distintas publicaciones han informado sobre la acumulación de perclorato en aguas superficiales, subterráneas y suelo, lo que representa una amenaza para la vegetación y, en última instancia, para el ambiente. La vegetación absorbe perclorato debido al aumento de su concentración en aguas superficiales y subterráneas. La capacidad de una planta para absorber perclorato depende de diversos factores, como su concentración y las de nutrientes (nitratos y cloruros) en el agua y el suelo, la especie, su etapa de desarrollo y sus procesos fisiológicos. Al penetrar en la planta, el perclorato afecta a todas sus partes, pero se acumula principalmente en las hojas, presentando necrosis, clorosis y quemaduras en las puntas, que podrían deberse a la destrucción de los cloroplastos por su acción oxidante. Esto provocaría una disminución del rendimiento de los cultivos y fitotoxicidad (Sahu y Kumari 2024).

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

La evaluación del impacto tóxico causado por la contaminación del ambiente derivada de las actividades de producción y uso de propulsores sólidos es un tema complejo, no solo por la variedad de sustancias que pueden estar involucradas, sino también y fundamentalmente, por las interacciones con variables ambientales que pueden modificar drásticamente el destino y la persistencia y, en consecuencia, la toxicidad para diferentes organismos y en el ecosistema. Como se describió más arriba, las formulaciones de propulsores sólidos más comunes en uso hoy en día son poco estables en el tiempo y por eso requieren de aditivos estabilizantes. Desde un punto de vista toxicológico, esto implica no solamente la toxicidad de estos componentes si no (y fundamentalmente) la formación de cantidades variables de otros compuestos tóxicos que luego pueden pasar al ambiente. En general estamos hablando de sustancias que no son refractarias a la degradación, ya sea por vías abióticas o por transformaciones mediadas por organismos vivos. Sin embargo, esto no debe interpretarse como una ventaja (en comparación con otras sustancias más persistentes), ya que algunas de sus vías de transformación química conducen a compuestos con una toxicidad apreciable. Esta característica significa que, incluso cuando la permanencia de la estructura química original en un ambiente no sea extensa, el impacto a largo plazo del contaminante en el ambiente, además de su conversión a especies más tóxicas, conduce a un escenario de riesgo ambiental persistente y de complejidad cambiante. Además, al-

gunas de estas sustancias pueden resultar muy tóxicas para organismos de suelos o sedimentos que podrían degradar a otras, con lo cual la respuesta que puede esperarse en determinado escenario contaminado varíe con su historia. Es de esperar entonces que la toxicidad y los biomarcadores que la revelan también varíen según el caso (Castro 2024).

En este contexto, el biomonitoreo se enfrenta a dos retos. En primer lugar, es necesario detectar de forma específica y sensible la presencia de sustancias derivadas de la degradación ambiental de los propulsores en diferentes muestras ambientales, ya que esto determina el tipo y la cantidad de productos que pueden formarse. En segundo lugar, será necesario identificar bioindicadores y biomarcadores de efectos tóxicos adecuados a cada situación, mediante el desarrollo de modelos biológicos para la evaluación del impacto tóxico *in situ* o, al menos, en el laboratorio con muestras (por ejemplo, agua, suelo, sedimentos) de sitios contaminados. Respecto a este punto es importante señalar que los modelos y protocolos para la evaluación del impacto tóxico deben tener como objetivo ser aptos para fines regulatorios (ej. Gold Standard, ya que de otro modo no serán reconocidos para la toma de decisiones y para establecer valores de referencia (Bozo *et al.* 2007; Quiroga Martínez 2009). En este sentido el aporte de un laboratorio de investigación es generar la información básica (por ejemplo, identificar las especies químicas presentes y los tejidos u órganos diana en los organismos seleccionados o disponibles en cada contexto). Eventualmente estos hallazgos podrán escalar con un propósito regulatorio (Gómez *et al.* 2020; Gold Standard for the Global Goals). Por lo tanto, los problemas para establecer los riesgos ambientales y los objetivos de remediación de sitios contaminados generalmente se deben al conocimiento incompleto del destino ambiental y de los efectos de los propulsores y explosivos en los ecosistemas (Fernández-López *et al.* 2022; Castro 2024). En la evaluación de la toxicidad crónica del suelo, es necesario incluir respuestas subletales que pueden tener implicancias directas en la supervivencia, la reproducción y el comportamiento de las especies y, por lo tanto, ser de importancia ecológica. Los efectos subletales en los organismos estarían relacionados con dosis más bajas y exposiciones a largo plazo. En este sentido, los biomarcadores bioquímicos se consideran señales de alerta temprana de consecuencias ecológicas adicionales (Solé 2020; Dahiya *et al.* 2022; Dhiman y Pant 2022).

El Laboratorio de Toxicología Experimental del CITE-DEF está desarrollando la capacidad para evaluar el impacto tóxico derivado de la contaminación ambiental con explosivos, propulsores y sus productos de degradación. Para ello, es importante realizar un biomonitoreo que pueda revelar el impacto en el ecosistema y predecir las posibles consecuencias para éste y la población

cercana (D'Alessandro *et al.* 2024). En nuestro laboratorio estamos desarrollando metodologías analíticas sensibles y específicas para la identificación y cuantificación de estos tóxicos y sus productos de transformación a bajas concentraciones en suelos, así como también, estudiando modelos biológicos para la evaluación del impacto tóxico *in situ* o en el laboratorio con muestras provenientes de sitios contaminados. En estos ensayos, se realizan exposiciones para evaluar la toxicidad subletal y la absorción de explosivos o propulsores envejecidos de estos suelos por los organismos (plantas o invertebrados). Un enfoque posible para la evaluación de pasivos ambientales (desde una perspectiva toxicológica) incluiría el estudio de los efectos de los explosivos o propulsores y subproductos de su envejecimiento presentes en el suelo sobre organismos diana que representan, por ejemplo, dos niveles tróficos (por ejemplo, una especie vegetal local o modelo y algún invertebrado del suelo). Estos datos pueden utilizarse para definir criterios o valores de referencia para la gestión ambiental y para llevar a cabo evaluaciones de riesgos específicas. Por supuesto, es claro que, eventualmente, estos datos serán tenidos en cuenta con fines regulatorios o para establecer valores guía, solamente si se aplicaron modelos o protocolos Gold Standard o test de referencias o nuevos métodos comparables a los métodos estándar. Por otra parte, los datos con fines regulatorios o para establecer valores guía pueden utilizarse si son el resultado de estudios de monitoreo periódicos que se mantienen en el sitio y en el tiempo (Quiroga Martínez 2009; Gómez *et al.* 2020; Gold Standard for the Global Goals; Zare Jeddi *et al.* 2023). Algo que seguramente escapa a las posibilidades y logística de nuestro laboratorio, pero para lo cual esperamos contribuir con información básica, hasta ahora en gran parte desconocida.

Las lombrices de tierra son organismos esenciales para el ecosistema del suelo y se utilizan ampliamente para monitorear los sistemas terrestres, ya que se comportan como indicadores sensibles de la calidad del suelo frente a un amplio espectro de xenobióticos. En nuestro laboratorio, las lombrices de tierra fueron expuestas a explosivos para evaluar la toxicidad subletal (Castro 2024). Estos organismos se evalúan mediante diversas medidas, como la histología, la histoquímica y las determinaciones bioquímicas relacionadas con el estrés oxidativo o el daño genético, así como la identificación y cuantificación de las especies químicas presentes en sus tejidos, y también en muestras de agua y suelo. Los experimentos ya realizados reflejan las diferencias esperadas entre los compuestos explosivos ensayados en su acción tóxica sobre este organismo, en relación con su liposolubilidad y reactividad química (Fuchs *et al.* 2023; Castro 2024; Formosa Lemoine *et al.* 2024).

La comprensión de los mecanismos subyacentes de la toxicidad constituye una herramienta poderosa para re-

conocer una intoxicación en curso, así como para anticipar un riesgo durante el desarrollo o el uso de un producto químico. Los problemas que aparecen al estudiar el mecanismo de acción tóxica de una sustancia radica en que el sitio objetivo del daño no siempre está definido o es único, y que, entre las alteraciones evidentes en la bioquímica celular, no todas tienen una relación directa con las consecuencias (Castro 2013; Castro 2023). En otras palabras, la ocurrencia de fenómenos medibles en el entorno celular no significa necesariamente que tengan la misma relevancia en relación con la lesión tóxica (Castro 2023). Comprender un proceso tóxico en un entorno donde varias especies se ven afectadas es mucho más difícil, y es entonces cuando se hace evidente la necesidad de un biomonitoreo específico pero exhaustivo para caracterizar el caso (Arenal y Sample 2015; Eck 2015; Quinn 2015; Sample y Arenal 2015; Williams *et al.* 2015; Solé 2020; Dahiya *et al.* 2022; Dhiman y Pant 2022). La toxicidad ambiental de las formulaciones propulsores cumple con esta premisa, ya que plantea objetivos dirigidos a comprender el impacto tóxico desde diferentes enfoques, utilizando organismos centinelas aceptados como indicadores de la contaminación del suelo o aguas. En primer lugar, existen medidas que permiten localizar el daño dentro de esos organismos y distinguir su tipo, como la histología o la histoquímica (Fuchs *et al.* 2023; Castro 2024; Formosa Lemoine *et al.* 2024). Otras medidas buscarían revelar la relación entre lo observado microscópicamente y la naturaleza de las especies químicas derivadas de las sustancias tóxicas en ese ambiente. Aquí es donde entran en juego el análisis químico instrumental y la bioquímica enzimática. Finalmente, cabe mencionar las pruebas en campo, que, además de relacionar la realidad con lo estudiado en el laboratorio, permiten demostrar la relevancia de variables que no se pueden reproducir fácilmente en un contexto "de mesada" pero que pueden cambiar la comprensión del problema. La toxicología experimental y el biomonitoreo pueden contribuir al esclarecimiento de estas cuestiones, y los temas analizados en este trabajo no son la excepción (Castro 2013; Castro 2023; Navarro *et al.* 2023; Adomako-Bonsu *et al.* 2024). El impacto tóxico ambiental presenta varias situaciones conocidas y bien estudiadas, donde la contaminación puede afectar gravemente la salud ambiental y la calidad de la vida humana, y este caso es uno de ellos. En otras palabras, con el biomonitoreo se trata de contribuir a identificar los problemas, medirlos y encontrar soluciones.

## AGRADECIMIENTOS

Proyecto de Investigación PDTS 2024-2025 (FIE-UNDEF). Al soporte de financiación de CITEDEF (OT 03 NAC 049/23) y UNIDEF (MINDEF-CONICET).

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no poseen conflictos de intereses o relaciones personales que hayan podido influir sobre lo enunciado en este trabajo.

## REFERENCIAS

- Adomako-Bonsu AG, Jacobsen J, Maser E. 2024. Metabolic activation of 2,4,6-trinitrotoluene; a case for ROS-induced cell damage. *Redox Biology*. 72: 103082.
- Ahmed AR. 2024. Diphenylamine. En: Wexler P. editor. *Encyclopedia of Toxicology (Fourth Edition)* Vol. 3. Amsterdam: Elsevier. p. 863-868.
- Arenal CA, Sample BE. 2015. Wildlife Toxicity Assessment for Diphenylamine. En: Williams MA, Reddy G, Quinn Jr MJ, Johnson MS, editors. *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern*. Amsterdam: Elsevier. p. 439-464.
- Arman NZ, Salmiati S, Aris A, Salim MR, Nazifa TH, Muhamad MS, Marpongahtun M. 2021. A review on emerging pollutants in the water environment: existences, health effects and treatment processes. *Water*. 13(22): 3258.
- [ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1995. Toxicological profile for Otto fuels II. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services.
- [ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2017. Toxicological Profile for N-Nitrosodiphenylamine.
- Becker NM. 1995. Fate of selected high explosives in the environment: A literature review. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory.
- Bentley R, Leblanc G, Hollister T, Sleight III BH. 1977. Laboratory Evaluation of the Toxicity of Nitrocellulose to Aquatic Organisms. Washington DC: U.S. Army Medical Research and Development Command, 40 pp.
- Best EPH, Sprecher SL, Larson SL, Fredrickson HL, Bader DF. 1999. Environmental behavior of explosives in groundwater from the Milan army ammunition plant in aquatic and wetland plant treatments. Removal, mass balances and fate in groundwater of TNT and RDX. *Chemosphere*. 38(14): 3383-3396.
- Bordeleau G, Martel R, Ampleman G, Thiboutot S, Poulin I. 2012. The fate and transport of nitroglycerin in the unsaturated zone at active and legacy anti-tank firing positions. *Journal of Contaminant Hydrology*. 142-143: 11-21.
- Bozo L, Fernández M, López M, Reyes R, Suárez P. 2007. Biomarcadores de contaminación química en comunidades microbianas. *Interciencia*. 32(1): 8-13.
- Brannon JM, Myers TE. 1997. Review of fate and transport processes of explosives, Tech. Rep. IRRP-97-2. Vicksburg, Miss: U.S Army Engineer Waterways Experiment Station.
- Calderón R, Godoy F, Escudey M, Palma P. 2017. A review of perchlorate (ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>) occurrence in fruits and vegetables. *Environmental Monitoring and Assessment*. 189: 82.
- Callahan C, Sprenger M, Long GC, Porter R. 1998. Perchlorate ecological risk studies – a report on literature reviews and studies conducted by the Ecological Impact/Transport and Transformation Subcommittee of the Interagency Perchlorate Steering Committee. Brooks Air Force Base (TX): US Air Force Institute for Environment Safety, and Occupational Health Risk Analysis, Risk Analysis Directorate, Risk Assessment Division. IERA-RS-BR-TR-2001-0004.
- Castro GD. 2013. Dependencia de la dosis en los mecanismos de toxicidad y la evaluación de riesgo en toxicología. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 47: 561-585.
- Castro GD. 2023. El aporte de la toxicología experimental a la evaluación de riesgo tóxico y el desarrollo de tratamientos para las intoxicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 57: 107-120.
- Castro GD. 2024. Soil contamination with explosives and their degradation products. Biomonitoring to assess sublethal toxicity in soil sentinel organisms. *Current Topics in Toxicology*. 20: 19-30.
- Cerilliant. 2012. Material Safety Data Sheet, Ethyl Centralite. Disponible en: <https://www.cerilliant.com/shoponline/MSDS.aspx?itemno=a211e767-96da-4b2d-892d-0111f70285cc>
- Clarkson J, Sager S, Locey B, Yu L, Silberhorn E. 2006. Perchlorate: Ecological and human health effects. En: Arapis G, Goncharova N, Baveye P, editors. *Ecotoxicology, Ecological Risk Assessment and Multiple Stressors*. NATO Security Through Science Series, Vol 6. Dordrecht: Springer. p. 73-93.

- Curtis NJ. (1987). Syntheses and characterizations of derivatives of ethyl centralite. Technical Report WSRL-0563-TR (ADA198333). Adelaide, Australia: Weapon Systems Research Lab.
- D'Alessandro PG, Costantini MH, Castro GD. 2024. El impacto tóxico en la contaminación del ambiente con explosivos y sus productos de degradación. TEC1000: Estudios de Vigilancia y Prospectiva Tecnológica en el Área de Defensa y Seguridad 2023/2024: 219-229.
- Dahiya UR, Das J, Bano S. 2022. Biological indicators of soil health and biomonitoring. En: Malik JA, editor. *Advances in Biorremediation and Phytoremediation for Sustainable Soil Management*. Heidelberg: Springer Nature. p. 327-348.
- Dasgupta PK, Kirk AB, Dyke JV, Ohira S. 2008. Intake of iodine and perchlorate and excretion in human milk. *Environmental Science and Technology*. 42(21): 8115-8121.
- Dave G, Nillson E, Wernersson AS. 2000. Sediment and water phase toxicity and UV-activation of six chemicals used in military explosives. *Aquatic Ecosystem Health and Management*. 3: 291-299.
- [DCPH-A] Defense Centers for Public Health – Aberdeen. 2023. Technical Guide (TG) 254, Standard Practice for Wildlife Toxicity Reference Values. Report No. HEF-0120190001. Aberdeen Proving Ground, Maryland. Disponible en: <https://ph.health.mil/PHC%20Resource%20Library/tox-standard-practice-for-wildlife-toxicity-reference-values-techguide.pdf>
- Department of the Army, U.S. Army Chemical Materials Activity. 2023. Response to Notice of Deficiency (NOD) Class 2 PCAPP Permit Modification Request B071, PCAPP Closure, submittal.
- Dhiman B, Pant D. 2022. Bioindication and biomarker responses of earthworms: A tool for soil pollution assessment. En: Malik JA, editor. *Advances in Biorremediation and Phytoremediation for Sustainable Soil Management*. Heidelberg: Springer Nature. p. 365-378.
- Drzyzga O. 2003. Diphenylamine and derivatives in the environment: a review. *Chemosphere*. 53(8): 809-818.
- East Harbour Group. 2022. Material Safety Data Sheet, Ethyl Centralite. Disponible en: <https://www.eastharbourgroup.com/storage/download-files/ethyl-centralite/Ethyl-Centralite-MSDS-226-V2.pdf>
- Eck WS. 2015. Wildlife Toxicity Assessment for Perchlorate. En: Williams MA, Reddy G, Quinn Jr MJ, Johnson MS, editors. *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern*. Amsterdam: Elsevier. p. 499-553.
- Edebali Ö, Krupčková S, Goellner A, Vrana B, Muz M, Melymuk L. 2024. Tracking aromatic amines from sources to surface waters. *Environmental Science & Technology Letters*. 11(5): 397-409.
- Eriksson J, Frankki S, Shchukarev A, Skyllberg U. 2004. Binding of 2,4,6-trinitrotoluene, aniline, and nitrobenzene to dissolved and particulate soil organic matter. *Environmental Science and Technology*. 38(11): 3074-3080.
- Evan AP, Hong SK, Gardner K, Park YS, Itagaki R. 1978. Evolution of the collecting tubular lesion in diphenylamine-induced renal disease. *Laboratory Investigation*. 38(3): 244-252.
- Fang C, Naidu R. 2023. A review of perchlorate contamination: Analysis and remediation strategies, *Chemosphere*. 338:139562.
- Fernández-López C, Posada-Baquero R, Ortega-Calvo JJ. 2022. Nature-based approaches to reducing the environmental risk of organic contaminants resulting from military activities. *Science of the Total Environment*. 843: 157007.
- Ferreira C, Ribeiro J, Almada S, Freire F. 2017. Environmental assessment of ammunition: the importance of a life-cycle approach. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 42(1): 44-53.
- Formosa Lemoine F, Fuchs JS, Ross PG, Castro GD. 2024. Alteraciones histológicas en la lombriz de tierra inducidas por la exposición al explosivo RDX (1,3,5-trinitro-1,3,5-triazaciclohexano). *Acta Toxicológica Argentina*. 32(Supl.): 55-56.
- Fort DJ, Rogers RL, Copley HF, Bruning LA, Stover EL, Helgen JC, *et al.* 1999. Progress toward identifying causes of maldevelopment induced in *Xenopus* by pond water and sediment extracts from Minnesota, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18: 2316-2324.
- Fuchs JS, Formosa Lemoine F, Castro GD. 2023. Cambios histológicos y morfométricos en la lombriz de tierra inducidos por la exposición al explosivo TNT (2,4,6-trinitrotolueno). *Acta Toxicológica Argentina*. 31(Supl.): 102.

Galante E, Temple T, Ladyman M, Gill PP. 2017. The UK Ministry of Defence Project Orientated Environmental Management System (POEMS). Propellants, Explosives, Pyrotechnics. 42(1): 36-43.

Gold Standard for the Global Goals. Procedure for development, revision, and clarification of methodologies and methodological tools. The Gold Standard Foundation International Environment, Geneva. Disponible en: <https://globalgoals.goldstandard.org/>. Consulta: 12 de noviembre de 2024.

Gómez N, Domínguez E, Rodrigues Capítulo A, Fernández HR. 2020. Los indicadores biológicos. En: Domínguez E, Giorgi A, Gómez N, editores. La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: bases para el análisis de la integridad ecológica. Buenos Aires: EUDEBA. p. 58-71.

Haberman J. 1986. High performance liquid chromatography of propellants, part I: Analysis of M1, M6, and M10 propellants. Technical Report ARAED-TR-86017 (ADA168206). Dover, NJ: U.S. Army Armament Research and Development Center.

Hains S, Martel R, Lefebvre R, Gélinas P, Deslisle S, Amplemant G, Thiboutot S. 2001. Natural attenuation of nitroaromatic compounds in soils and groundwater at a production plant. En: Proceedings of the 54th Canadian Geotechnical Conference: an Earth Odyssey. September 2001. Calgary, Canada. p. 16-19.

Hartley WR, Glennon J, Gordon L, Normandy J. 1992. Nitrocellulose (NC). En: Roberts WC, Hartley WR, editors. Drinking water health advisory: munitions. Boca Raton (FL): Lewis Publishers, p. 181-199.

[IARC] International Agency for Research on Cancer. 1982. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Some Aromatic Amines, Anthroquinones and Nitroso Compounds, and Inorganic Fluorides Used in Drinking Water and Dental Preparations. Lyon (France): WHO, IARC, Vol. 27. p. 213-225.

[IPCS] International Program on Chemical Safety. 1998. Diphenylamine. Addendum to the Joint Meeting of the FAO/WHO Expert Group on Pesticide Residues. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v098pr07.htm>

Juhasz AL, Naidu R. 2007. Explosives: fate, dynamics, and ecological impact in terrestrial and marine environments. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 191: 163-215.

Kalderis D, Juhasz AL, Boopathy R, Comfort S. 2011. Soils contaminated with explosives: environmental fate and evaluation of state-of-the-art remediation processes (IUPAC technical report). Pure and Applied Chemistry. 83(7): 1407-1484.

Kitchens JF, Harward III WE, Lauter DM, Wentzel RS, Valentine RS. 1978. Preliminary problem definition study of 48 munitions-related chemicals, vol. II. Propellant-related chemicals, ADA066308. Alexandria, VA: Atlantic Research Corp.

Krumlinde P, Ek S, Tunestål E, Hafstrand A. 2017. Synthesis and characterization of novel stabilizers for nitrocellulose-based propellants. Propellants, Explosives, Pyrotechnics. 42(1): 78-83.

Kumar KS, Kavitha S, Parameswari K, Sakunthala A, Sathishkumar P. 2023. Environmental occurrence, toxicity and remediation of perchlorate – A review. Chemosphere. 311(2): 137017.

Lee S-B, Seo J-W, Choi K-S, Kim S-B. 2015. The shelf-life prediction of single-base propellants by applying the kinetic model of n-th order. Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society. 16(5): 3633-3642.

Lindblom T. 2004. Reactions in the system nitrocellulose/diphenylamine with special reference to the formation of a stabilizing product bonded to nitrocellulose. [Dissertation]. [Uppsala]: Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 935. 70 pp.

Liu R, Li Y, Lin Y, Ruan T, Jiang G. 2019. Emerging aromatic secondary amine contaminants and related derivatives in various dust matrices in China. Ecotoxicology and Environmental Safety. 170: 657-663.

Martel R, Mailloux M, Gabriel U, Lefebvre R, Thiboutot S, Ampleman G. 2009. Behavior of energetic materials in ground water at an anti-tank range. Journal of Environmental Quality. 38(1): 75-92.

Martel R, Robertson TJ, Doan MQ, Thiboutot S, Ampleman G, Provatas A, Jenkins T. 2008. 2,4,6-Trinitrotoluene in soil and groundwater under a waste lagoon at the former Explosives Factory Maribyrnong (EFM), Victoria, Australia. Environmental Geology. 53(6):1249-1259.

Meunier M, Yammine A, Bettaieb A, Plenchette E. 2023. Nitroglycerin: a comprehensive review in cancer therapy. Cell Death Disease. 14(5): 323.

- Mirecki JE, Porter B, Weiss Jr. CA. 2006. Environmental transport and fate process descriptors for propellant compounds. Environmental Quality and Technology Program. ERDC/EL TR-06-7. Washington, DC: U.S. Army Corps of Engineers.
- Monsanto, Incorporated. 1991. Material safety data sheet for 4-Nitrodiphenylamine. En: U.S. EPA, editor. Follow-up information: teratology study in rats with 4-nitrodiphenylamine (Final report) with attachments and cover letter dated 042391. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency; EPA/OTS: Doc #89-910000119.
- Navarro ÁR, Costantini MH, Castro GD. 2023. El impacto de la contaminación ambiental en la salud pública. En: Bidiña A, Blesa MA, Fernández Niello J, Gutti P, Jacovkis P, Semorile L, editores. ¿En qué conurbano queremos vivir?. Buenos Aires: Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias. p. 218-253.
- [NJDOH] New Jersey Department of Health. 2010. Hazardous Substance Fact Sheet - Nitrocellulose. Disponible en: <https://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1366.pdf>
- [OECD] Organisation for Economic Co-operation and Development. 1998. Screening Information Data Set (SIDS). Benzenamine, 4-nitro-N-phenyl. CAS No: 836-30-6. Paper presented at: SIDS Initial Assessment Meeting (SIAM) 8; 1998 Oct 28-30; Paris, France. Disponible en: [www.inchem.org/documents/sids/sids/836306.pdf](http://www.inchem.org/documents/sids/sids/836306.pdf)
- Padfield J, Ferran MD, Linmei AL. 2014. Chemical desensitization of explosives. Part 1. Effect of ethyl centralite on the properties of an RDX-based PBX. *Journal of Energetic Materials*. 32(2): 106-116.
- Pichtel J. 2012. Distribution and fate of military explosives and propellants in soil: A review. *Applied and Environmental Soil Science*. 2012(1): 1-33.
- Quinn MJ. 2015. Wildlife Toxicity Assessment for Nitrocellulose. En: Williams MA, Reddy G, Quinn Jr MJ, Johnson MS, editors. *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern*. Amsterdam: Elsevier. p. 217-226.
- Quiroga Martínez R. 2009. Guía metodológica para desarrollar indicadores ambientales y de desarrollo sostenible en países de América Latina y el Caribe. Serie Manuales, 61. Santiago de Chile: Naciones Unidas - CEPAL.
- Ribeiro EN, Da Silva FT, De Paiva TC. 2013. Ecotoxicological evaluation of waste water from nitrocellulose production. *Journal of environmental science and health. Part A, Environmental science and engineering & toxic and hazardous substance control*. 48(2):197-204.
- Rocheleau S, Kuperman RG, Dodard SG, Sarrazin M, Savard K, Paquet L, Hawari J, Checkai RT, Thiboutot S, Ampleman G, Sunahara GI. 2011. Phytotoxicity and uptake of nitroglycerin in a natural sandy loam soil. *Science of the Total Environment*. 409(24): 5284-5291.
- Ross PG, Castro GD. 2024. Biomonitoring para evaluar impacto tóxico por contaminación ambiental con explosivos. Primer Congreso de Ciencia, Tecnología e Innovación para la Defensa. 2 y 3 de octubre de 2024. Disponible en: <https://www.ctid.ar/papers/>
- Ryon MG. 1986. Water quality criteria for nitrocellulose. Final report. Oak Ridge National Lab., TN (USA). DOE Contract Number: AC05-84OR21400. OSTI ID: 5683896. Report Numbers: ORNL-79; ON: DE86012039.
- Sahu N, Kumari A. 2024. Perchlorate stress in plants: insights into growth and physiological consequences. En: Kumari A, Rajput VD, Mandzhieva SS, Minkina T, Van Hullebusch E, editors. *Emerging Contaminants*. Woodhead Publishing. p. 291-305.
- Sahu P. 2024. Source and Fate of Perchlorate in the Environment: A Grave Concern for World. En: Kumar M, Snow D, Honda R, Mukherjee S, editors. *Contaminants in Drinking and Wastewater Sources*. Springer Transactions in Civil and Environmental Engineering. Singapore: Springer. p.137-157.
- Sample BE, Arenal CA. 2015. Wildlife Toxicity Assessment for 2-Nitrodiphenylamine and 4-Nitrodiphenylamine. En: Williams, M.A., Reddy, G., Quinn Jr, M.J., Johnson, M.S., editors. *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern*. Amsterdam: Elsevier. p. 257-269.
- Shin KA, Spain JC. 2009. Pathway and evolutionary implications of diphenylamine biodegradation by *Burkholderia* sp. strain JS667. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(9): 2694-2704.
- Smith JG. 1986. Water quality criteria for nitroglycerin: final report. Oak Ridge, TN: Oak Ridge National Laboratory.
- Smith PN. 2006. The Ecotoxicology of Perchlorate in the Environment. En: Gu B, Coates JD, editors. *Perchlorate: Environmental Occurrence, Interactions and Treatment*. Boston, MA: Springer. p. 153-168.

Solé M. 2020. Biomarkers in earthworms. En: Pérez Solsona S, Montemurro N, Chiron S, Barceló D, editors. Interaction and Fate of Pharmaceuticals in Soil-Crop Systems. The Impact of Reclaimed Wastewater. Heidelberg: Springer Nature. p. 311-337.

Spalding RF, Fulton JW. 1988. Groundwater munition residues and nitrate near Grand Island, Nebraska, U.S.A. *Journal of Contaminant Hydrology*. 2(2): 139-153.

Spiegel K, Headley JV, Peru KM, Haidar N, Gurprasad NP. 2005. Residues of explosives in groundwater leached from soils at a military site in Eastern German. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 36(1-3): 133-153.

Sterner TR, Mattie DR. 1998. Perchlorate literature review and summary: developmental effects, metabolism, receptor kinetics and pharmacological uses. Wright-Patterson Air Force Base (OH): US Air Force Armstrong Laboratory, AFRL-HE-WP-TR-1998-0106.

Sullivan JH, Putnam HD, Keirn MA, Pruitt BC, Nichols JC, McClave JT. 1979. A summary and evaluation of aquatic environmental data in relation to establishing water quality criteria for munitions unique compounds. Part II. Nitroglycerin. Final report. Contract No. DAMD 17-77-C-7027. Preparado para: U.S. Army Medical Research and Development Command, Fort Detrick, Frederick, MD.

Sullivan JH, Putnam HD, Keirn MA, Pruitt BC, Nichols JC. 1987. A summary and evaluation of aquatic environmental data in relation to establishing water quality criteria for munitions unique compounds. Part I. Nitrocellulose. Final report. Contract No. DAMD 17-77-C-7027. Preparado para: U.S. Army Medical Research and Development Command, Fort Detrick, Frederick, MD.

Trache D, Tarchoun AF. 2018. Stabilizers for nitrate ester-based energetic materials and their mechanism of action: a state-of-the-art review. *Journal of Material Sciences*. 53:100-123.

[U.S. AARDC] U.S. Army Armament Research and Development Command. 1983. Encyclopedia of explosives and related items. Fedoroff BT, Dunkel CG, Walter H, McLean DC, editors. Dover, NJ: Picatinny Arsenal.

[U.S. AEC] U.S. Army Environmental Center. Composting of nitrocellulose fines [Internet]. Aberdeen Proving Ground (MD): U.S. Army Environmental Center [cited 2002]. Disponible en: [www.dtic.mil/cgi-](http://www.dtic.mil/cgi-bin/GetTRDoc?AD1/4ADA427022)

[bin/GetTRDoc?AD1/4ADA427022](http://www.dtic.mil/cgi-bin/GetTRDoc?AD1/4ADA427022)

U.S. Army Environmental Hygiene Agency. 1977. Preliminary assessment of relative toxicity of ethyl centralite (N,N'-diethyl carbanilide). Study No. 51-0923-77. ADA 041736. Aberdeen Proving Ground, MD: U.S. Army Environmental Hygiene Agency.

[U.S. EPA] Environmental Protection Agency. 2009. Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Nitrocellulose (CASRN 9004-70-0). EPA/690/R-09/039F Final 9-08-2009. Cincinnati, OH: Superfund Health Risk Technical Support Center, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency.

[U.S. EPA] U.S. Environmental Protection Agency). 1987. Integrated Risk Information System, Diphenylamine; CASRN 122-39-4. Cincinnati (OH): U.S. Environmental Protection Agency, National Center for Environmental Assessment. Disponible en: [https://iris.epa.gov/static/pdfs/0048\\_summary.pdf](https://iris.epa.gov/static/pdfs/0048_summary.pdf)

[U.S. EPA] U.S. Environmental Protection Agency. 1992. Drinking water toxicity profiles (nitrosodiphenylamine). PB93-122406. Washington, DC: Human Risk Assessment Branch.

[U.S. EPA] United States Environmental Protection Agency. 1998. Reregistration Eligibility Decision. Diphenylamine. List B. Case 2210. EPA738-R-97-010. Washington DC: Prevention, Pesticides And Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency.

[U.S. EPA] United States Environmental Protection Agency. 2015. Combined Problem Formulation, Environmental Fate, Ecological Preliminary Risk Assessment and Endangered Species Assessment for the Registration Review of Diphenylamine. Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs Environmental Fate and Effects Division (EFED).

Wentsel RS, Jones III WE, Fitzpatrick WH, Kitchens JF. 1979a. Problem definition study on TAX (1-acetylhexahydro-3,5-dinitro-1,3,5-triazine), SEX (1-acetyloctahydro-3,5,7-trinitro-1,3,5,7-tetrazine), lead salicylate and lead beta-resorcyate, 2-nitrodiphenylamine and ethyl centralite. Final Report (ADA099749). Alexandria, VA: Atlantic Research Corporation.

Wentsel RS, Jones III WE, Fitzpatrick WH, Kitchens JF. 1979b. Problem definition study: ethyl centralite. Final Report (ADA955469). Alexandria, VA: Atlantic Research Corporation.

Williams MA, Sample BE, Leach GJ. 2015. Wildlife Toxicity Assessment for Nitroglycerin. En: Williams MA, Reddy G, Quinn Jr MJ, Johnson MS, editors. *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern*. Amsterdam: Elsevier. p. 239-255.

Zare Jeddi M, Galea KS, Viegas S, Fantke P, Louro H, Theunis J, Govarts E, Denys S, Fillol C, Rambaud L,..., Hopf NB. 2023. FAIR environmental and health registry (FAIREHR)- supporting the science to policy interface and life science research, development and innovation. *Frontiers in Toxicology*. 5: 1116707.

## Intoxicaciones por Paracetamol: un desafío regional

### Acetaminophen Poisoning: A regional challenge

Venegas Calderón, Judith<sup>1</sup> \*; Zelada Perez, Banny Carolina<sup>2</sup>; Pava Garzón, Diana Marcela<sup>3</sup>; Ramos Rodríguez, Viviana<sup>4</sup>; Cuellar, Marta Isabel<sup>5</sup>; Amaya, María Luz<sup>5</sup>; Madurga Sanz, Mariano<sup>6</sup>; Guzmán-Quilo, Carolina<sup>7</sup>; Hernández, Magda<sup>7</sup>; González-Alvarez, María Estefanía<sup>7</sup>; Cruz, Wendy Lizeth<sup>8</sup>; Tortorella, María Noel<sup>9</sup>; Altamirano Villalva, Adrián<sup>1</sup>; Moreno Rodríguez, Yulisa<sup>1</sup>; Cruz Caballero, Yuri Andrea<sup>3</sup>; Zeledón Solano, Ana Guiselle<sup>4</sup>; Montero Carvajal, Earvin Eduardo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Información de Medicamentos y Tóxicos, CIMET, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Francisco Viteri s/n y Gato Sobral, Ciudadela Universitaria. Apartado postal: 17-03-1369; Quito, Ecuador. <sup>2</sup>Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico, CIATOX, Departamento de Emergencia, Hospital Japonés de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. Tercer Anillo Externo Av. Guapa y Av. Paragua. Casilla Postal: 4907. <sup>3</sup>Centro de Información de Seguridad de Productos Químicos CISPROQUIM-Consejo Colombiano de Seguridad - Bogotá. Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico, Cra. 20 No. 39-52, Bogotá, Colombia. <sup>4</sup>Centro Nacional de Control de Intoxicaciones, CNCI, Hospital Nacional de Niños Doctor Carlos Sáenz Herrera, Caja Costarricense del Seguro Social, Calle 20 Avenida 0 Contiguo al Hospital San Juan de Dios, Paseo Colon, San José. Apartado postal 1654-1000, Costa Rica. <sup>5</sup>Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico de El Salvador, CIATOX, Hospital Nacional Zacamil, Calle la Ermita y Avenida Castro Moran, Urbanización José Simeón Cañas, Colonia Zacamil, Mejicanos, código postal 01120, San Salvador, C.A., El Salvador. <sup>6</sup>Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Campus Científico-Tecnológico, Universidad de Alcalá de Henares, 28805, Madrid, España. <sup>7</sup>Centro de Información y Asesoría Toxicológica CIAT, Departamento de Toxicología, Escuela de Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. 3º calle 6-47 zona 1, 01001, Ciudad de Guatemala, Guatemala. <sup>8</sup>Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico, CENTOX, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Boulevard Suyapa, Tegucigalpa, Municipio del Distrito Central, Honduras. <sup>9</sup>Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico, CIAT, Departamento de Toxicología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Avenida Italia s/n CP 11600, Montevideo, Uruguay.

\* [gjvenegas@uce.edu.ec](mailto:gjvenegas@uce.edu.ec)

Recibido: 29 de mayo de 2024

Aceptado: 5 de diciembre de 2024

Editor: Ricardo Antonio Fernández

**Resumen:** El paracetamol, un analgésico y antipirético de uso común y venta libre (OTC), presenta un riesgo significativo de toxicidad en caso de sobredosis. Los Centros de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) de Hispanoamérica y España reportan numerosas intoxicaciones anualmente. Este estudio evalúa el impacto de estas intoxicaciones, considerando su accesibilidad, amplia disponibilidad, bajo costo y diversas presentaciones y dosificaciones. Se llevó a cabo un estudio observacional descriptivo y retrospectivo sobre las intoxicaciones por paracetamol en 8 países de Hispanoamérica y España. Uruguay presentó la mayor proporción de intoxicaciones por medicamentos en general, con un 62%. Para el paracetamol, las frecuencias más altas se observaron en Bolivia (19%), Colombia (17%) y Guatemala (15%). En España, el 31% de las intoxicaciones corresponde a medicamentos del grupo "sistema nervioso central", siendo el paracetamol y las benzodiazepinas los más comunes. El estudio también compila la casuística y los marcos regulatorios locales para obtener evidencias que ayuden a reducir los daños y costos asociados a estas intoxicaciones. Se destaca el preocupante problema de las intoxicaciones por paracetamol en Hispanoamérica, exacerbado por su fácil accesibilidad como medicamento de venta libre, y se proponen medidas para mitigar el riesgo de exposición.

**Palabras clave:** Paracetamol; CIAT; Intoxicación; Hispanoamérica; Medicamentos de venta libre; Epidemiología.

**Abstract:** Acetaminophen, a commonly used over-the-counter (OTC) analgesic and antipyretic, poses a significant risk of toxicity in the event of an overdose. The Poison Control Centers (CIAT) in Latin America and Spain report numerous cases of poisoning each year. This

study assesses the impact of these poisonings, taking into account their accessibility, wide availability, low cost, various presentations, and dosages. A descriptive and retrospective observational study was conducted on acetaminophen poisonings in eight countries in Latin America and Spain. Uruguay reported the highest proportion of drug poisoning cases overall, at 62%. For acetaminophen, the highest frequencies were observed in Bolivia (19%), Colombia (17%), and Guatemala (15%). In Spain, 31% of poisonings were attributed to medications from the "central nervous system" group, with acetaminophen and benzodiazepines being the most common. The study also compiles case data and local regulatory frameworks to gather evidence that can help reduce the harm and costs associated with these poisonings. It highlights the concerning issue of acetaminophen poisonings in Latin America, exacerbated by its easy accessibility as an over-the-counter medication, and proposes measures to mitigate the risk of exposure.

**Keywords:** Acetaminophen; Poison Control Centers; Poisoning; Hispanic countries; Over-the-Counter-Drugs; Epidemiology.

## INTRODUCCIÓN

El paracetamol, según Denominación Común Internacional (DCI/INN), de la Organización Mundial de la Salud (OMS) también conocido en algunos países como acetaminofén ( $C_8H_9NO_2$ ; CAS n.º 103-90-2) es un derivado p-aminofenol ampliamente utilizado por su actividad analgésica y antipirética, fue sintetizado por primera vez en 1878 e introducido en el mercado farmacéutico en los años 1950 (Jóźwiak-Bebenista y Nowak 2014; McCrae *et al.* 2018). El paracetamol que puede ser de venta libre (OTC) es uno de los fármacos más utilizados; tiene un historial bastante conocido de seguridad y eficacia cuando se consume en dosis terapéuticas, pero pueden presentarse efectos tóxicos dependientes de la dosis (FDA 2019). La toxicidad se atribuye a que, después de la ingesta de grandes cantidades de paracetamol, se forma un metabolito n-acetil-p-benzoquinona-imina (NAPQI) responsable del agotamiento de las reservas hepáticas de glutatión impidiendo su metabolismo y eliminación (Vermeulen *et al.* 1992; Mencías y Mayero 2000; Zamora *et al.* 2018).

Por otro lado, los datos sobre intoxicaciones por paracetamol a nivel mundial presentan una situación diversa y compleja. La alta incidencia de estas intoxicaciones en varios países resalta la gravedad de este problema de salud pública. Sin embargo, la calidad y cantidad de la información varían notablemente entre regiones (Brito *et al.* 1998).

Por ejemplo, Estados Unidos posee sistemas de vigilancia epidemiológica sólidos que permiten un análisis exhaustivo de los casos, mientras que en gran parte de Hispanoamérica, la información disponible es limitada y fragmentaria. Esta disparidad en la recopilación de datos complica la comparación global y la identificación de patrones comunes en un medicamento de uso general y al alcance de las personas en nuestra región.

En Estados Unidos, el Sistema Nacional de Datos sobre Envenenamientos (NPDS) de la Asociación Estadounidense proporciona información detallada

y accesible sobre casos de intoxicación, incluyendo aquellos por paracetamol. Esta transparencia facilita la comprensión de la magnitud del problema y apoya la implementación de estrategias preventivas y de respuesta adecuadas (Mowry *et al.* 2016).

Sin embargo, la información sobre intoxicaciones por paracetamol en Hispanoamérica es limitada. La falta de sistemas de vigilancia epidemiológica estandarizados y la escasa inversión en investigación en salud pública dificultan la obtención de datos precisos y comparables (Díaz *et al.* 2021).

Además, la situación se agrava con el uso de paracetamol en circunstancia intencional suicida. Se han documentado numerosos casos, lo que subraya la necesidad de abordar esta crisis desde múltiples enfoques, incluyendo la prevención, la educación y la mejora de los sistemas de salud.

La limitada información disponible a nivel local y regional sobre las consecuencias de las intoxicaciones por paracetamol, especialmente dada la facilidad de acceso, amplia distribución, bajo costo, variedad de presentaciones y dosificación, exige una investigación exhaustiva. Este estudio compila y analiza tanto la casuística como los marcos regulatorios locales, con el objetivo de generar datos concretos que permitan diseñar estrategias efectivas para mitigar los daños y los costos asociados a estas intoxicaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó el método de estudio observacional descriptivo, longitudinal y retrospectivo de intoxicaciones por paracetamol del periodo 2017-2021. Se procedió al análisis del total de casos anuales de intoxicaciones por paracetamol registrados por los Centros de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) de Bolivia, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, España, Guatemala, Honduras, y Uruguay.

Los casos fueron obtenidos por medio de consultas a los CIAT por vía telefónica, mensajes a través de aplicaciones de mensajería electrónica para teléfonos inte-

ligentes y medios digitales o asistencia directa del paciente en puerta de emergencia. Los datos recopilados de los casos y las solicitudes fueron almacenados en diferentes sistemas de procesamiento de información. Esta información se obtuvo desde los diferentes sistemas de registro de los CIAT que participaron en este estudio, así como de sus sistemas de vigilancia epidemiológica locales donde los hubo y documentos oficiales entre otros.

Por otro lado, se llevó a cabo una revisión de la normativa legal vigente relacionada específicamente con el paracetamol, así como la presentación de diversas medidas destinadas a reducir los riesgos asociados con su uso.

## RESULTADOS

### 1 Incidencia de intoxicaciones por paracetamol

El siguiente conjunto de datos muestra información sobre intoxicaciones generales y su relación con el consumo de medicamentos registrados por los Centros Toxicológicos de los siguientes países: Bolivia, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, España, Guatemala, Honduras, y Uruguay, en el período de 2017 a 2021. La *Tabla 1* proporciona una visión valiosa sobre el panorama de intoxicaciones y su vinculación con el consumo de medicamentos y principalmente por paracetamol en la mayoría de los países mencionados anteriormente excepto Honduras al que se hará referencia posteriormente.

**Tabla 1.** Intoxicaciones generales por medicamentos y paracetamol en algunos países de Hispanoamérica y España en el periodo 2017-2021.

País	Total de Intoxicaciones	Intoxicaciones por Medicamentos	% de Intoxicaciones por Medicamentos	Intoxicaciones por Paracetamol	% de Intoxicaciones por Paracetamol
Bolivia	3 830	504	13%	98	19%
Colombia	45 606	17 908	39%	3 054	17%
Costa Rica	63 300	29 709	47%	2 075	7%
Ecuador	28 394	6 034	21%	756	13%
El Salvador	9 236	1 749	19%	106	6%
España	339 758	173 551	51%	53 801	31%*
Guatemala	719	276	38%	41	15%
Uruguay	55 681	34 473	62%	759	2%

**Fuente:** Elaboración propia. (\*) el 31% corresponde a medicamentos del grupo "sistema nervioso central", mayoritariamente con paracetamol y benzodiazepinas.

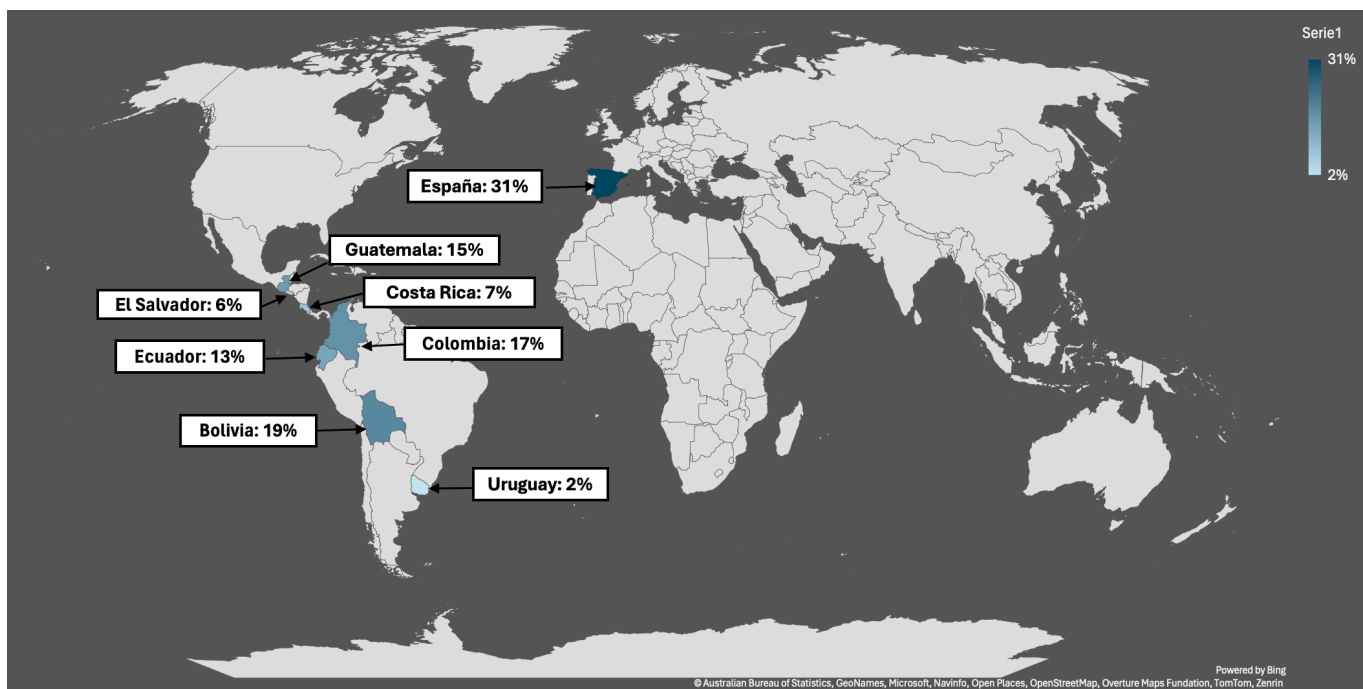
Los datos sobre intoxicaciones generales en varios países de América Latina y España entre 2017 y 2021 revelan tendencias significativas en el uso de medicamentos, especialmente el paracetamol.

Como se puede comprobar, los datos estadísticos relativos a los incidentes de intoxicación aportados por los CIAT, que han sido considerados en el alcance de este estudio, han evidenciado patrones estadísticamente notorios. Estos datos presentan implicaciones sustanciales en términos de la salud pública y la seguridad de la población. En cuanto a las intoxicaciones por paracetamol, las cifras más elevadas se registraron en Bolivia (19%), Colombia (17%) y Guatemala (15%). En España, el 31% de las intoxicaciones está relacionado con medicamentos del grupo "sistema nervioso central", destacándose el paracetamol y las benzodiazepinas como los más frecuentes (*Figura 1*).

### 2 Marco Regulatorio en Hispanoamérica y España

Los países analizados en este estudio no han establecido un marco regulatorio específico para el uso y comercialización del paracetamol. Esta ausencia de regulación puede tener importantes implicaciones para la salud pública, dado que el paracetamol es uno de los medicamentos más utilizados en la región, tanto para el tratamiento de dolores leves como para la fiebre.

Bolivia, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras y Uruguay carecen de regulaciones específicas que limiten la disponibilidad y el uso de paracetamol. Esto significa que, en estos países, el paracetamol se puede adquirir sin receta médica, lo que podría contribuir al riesgo de sobredosis y a un uso inadecuado, especialmente entre poblaciones vulnerables como niños y adolescentes.



**Figura 1.** Intoxicaciones por paracetamol en Hispanoamérica y España.  
**Fuente:** Elaboración propia

En contraste, España ha implementado un marco regulatorio que establece ciertas restricciones sobre la venta de paracetamol. Esto incluye la necesidad de proporcionar información clara sobre las dosis adecuadas y los riesgos de sobredosis, lo que ayuda a prevenir intoxicaciones accidentales y el uso indebido del medicamento.

### 2.1 Marco regulatorio de España

En España existen medicamentos con paracetamol que requieren prescripción o receta médica y otros que no la necesitan. Todos los medicamentos se dispensan solo en farmacias. Desde 2017, por decisión de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), los medicamentos con paracetamol para tener la categoría de sin prescripción médica (OTC) (Unión Europea 2001), se estableció lo siguiente:

- Paracetamol hasta 650 mg por unidad de dosis (comprimido o 5 ml de soluciones líquidas orales) en combinaciones anticatarrales.
- Paracetamol 500 mg por comprimidos, en combinación con difenhidramina 25 mg para el dolor nocturno.
- Paracetamol 650 mg o 1 g por comprimido como monocomponente, sólo como analgésico-antipirético en el “Tratamiento sintomático del dolor de intensidad moderada y estados febriles, en adultos y adolescentes mayores de 16 años”. Con dosis máxima de 3 g en 24 horas/día.

Además, estos podrán hacer publicidad en prensa, radio, TV, cuando cumplan lo establecido en normativa vigente (control administrativo de la información difundida) (Unión Europea 2001).

También, la AEMPS autoriza medicamentos con paracetamol que requieren prescripción o receta médica, como monocomponente con 650 mg o 1 g de paracetamol por comprimido, o en combinaciones fijas con tramadol, codeína, etc. En estos casos sus indicaciones terapéuticas son distintas: “Tratamiento sintomático del dolor de cualquier etiología de intensidad moderada como dolores postoperatorios, dolores postparto, dolores reumáticos (artrosis o artritis reumatoide), lumbago, tortícolis, ciáticas, neuralgias, dolores musculares, dismenorrea, cefaleas y odontalgias. Estados febriles. Para uso en adultos y adolescentes a partir de los 16 años” (Unión Europea 2011).

### 3 Medidas para reducir el riesgo asociado al uso del paracetamol

Se distinguirán propuestas a distintos niveles. En el ámbito regulatorio, le compete a la autoridad reguladora nacional (ARN) de cada país, lo relativo a autorización de registro de medicamentos, también sobre el tipo de dispensación (receta, restringida, etc.) y sobre farmacovigilancia y control del mercado. También el propio ministerio de salud pública debe intervenir en lo relativo a venta de medicamentos (en farmacias, dro-

guerías, ambulante, etc.). Incluso otros organismos relacionados con la Salud Pública o el Sector Salud deben tomar parte en las medidas de prevención y tratamiento de las intoxicaciones potenciales con paracetamol (Unión Europea 2011).

### **A) Autoridad reguladora nacional (ARN):**

#### A.1. Autorización y registro de los medicamentos que contengan paracetamol.

1. En el registro de medicamentos se recomienda el uso de la denominación “**paracetamol**” según la DCI/INN de la OMS. Incluir este nombre en la ficha técnica, prospecto, en todo el etiquetado (“*labeling*”) que se expone en los envases y en la receta médica para asegurar que no hay doble ingesta de paracetamol cuando en otros medicamentos se describa como “acetaminofén”.
2. En el prospecto con la información para el paciente (PIP) y la ficha técnica (FT) para los profesionales de la salud se detallarán la composición según forma farmacéutica, la dosis para niños y adultos, y se debe establecer la dosis máxima oral de 3 gramos al día de paracetamol en adultos y mayores de 16 años. Especificar la dosis tóxica y en caso de intoxicación, el tratamiento con una descripción de todos los signos y síntomas y el modo de tratamiento, junto con el número telefónico del centro toxicológico del país (CIAT) que tenga servicio 24 horas/7 días para solicitar asistencia toxicológica.
3. Los envases contendrán la **cantidad máxima** de 6,5 g de paracetamol (p.ej., 10 comprimidos de 650 mg, o 12 comprimidos de 500 mg, o 6 comprimidos de 1g), excepto si son comprimidos o sobres efervescentes. Los frascos con soluciones líquidas deberán llevar tapones con cierre de seguridad a prueba de niños.

A.2. Dispensación: se debe de distinguir la dispensación en farmacias comunitarias con prescripción o **receta médica** para medicamentos con paracetamol con cantidad de 1 g por cada unidad de dosificación (UD) como comprimidos, cápsulas, sobres, comprimidos efervescentes; tanto en los medicamentos con paracetamol solo, como en los medicamentos con **combinaciones a dosis fijas** con otros como tramadol, codeína o AINE. Solo se admitirá su uso **sin receta médica** (OTC) en medicamentos con cantidad de paracetamol **máxima de 650 mg por UD**. Cada tipo de estos medicamentos llevarán adjunta a la autorización la información de la FT y el PIP adecuado a su dispensación. En estos medicamentos sin receta médica se indicarán solo para “*Alivio sintomático del dolor ocasional leve o moderado. Estados febriles.*”

A.3. Sistemas de farmacovigilancia: la ARN será la responsable de actualizar la regulación relativa de farmacovigilancia (FV) en 2 aspectos: en la definición de reacción adversa a medicamentos (RAM) se

incluirá los casos de sobredosis o intoxicación por paracetamol, como de otros medicamentos, y se establecerá que los sistemas nacionales de farmacovigilancia (SNFV) deben mantener colaboración estrecha con la red de CIAT para intercambiar información en ambos sentidos.

**B) Ministerio de Salud Pública (MINSA):** debe normatizar y controlar que: a) no se realice venta ambulante en mercadillos de medicamentos OTC ya que solo deberán venderse en farmacias y droguerías; b) no se vendan envases manipulados, ya abiertos, y no se vendan los medicamentos al menudeo o troceados, por ej. blísteres sueltos.

**C) Establecimientos sanitarios:** en hospitales, clínicas, centros de salud se promocionará la información del medicamento paracetamol, en forma de fichas de información farmacoterapéutica, con énfasis en el manejo de las posibles intoxicaciones por sobredosis y su tratamiento, en línea con lo descrito en su FT (ver A.1.1).

**D) Centros de Información Toxicológica (CIAT):** se promoverá el trabajo en red dentro y fuera del país (p.ej., RETOXLAC) para intercambiar información, que favorezca el trabajo de protección de la Salud Pública principalmente estableciendo protocolos de tratamiento en las intoxicaciones agudas. Para ello, se difundirá el servicio de CIAT y los números de teléfono 24 horas/7 días en las FT y PIP, así como en toda la cadena: laboratorios titulares, almacenes, farmacias, hospitales; se elaborarán protocolos de atención clínica de intoxicados, en colaboración con departamentos universitarios para su aplicación en unidades de toxicología clínica.

**E) Colaboración entre instituciones:** es fundamental el trabajo en red en colaboración de las diversas instituciones. Las **ARNs establecerán** apoyo y colaboración con las redes de CIAT para: a) establecer protocolos únicos de tratamiento de casos de intoxicación, que serán actualizados y difundidos a todas las instituciones que los requieran; b) almacenar, mediante bases de datos, la información armonizada que se recolecta en cada caso para su ágil intercambio y estudio entre CIAT, las ARNs y el MINSA; c) autorizar el registro y aseguramiento del suministro, del antídoto necesario (N-Acetilcisteína 200 mg/ml para perfusión) para el tratamiento de las intoxicaciones agudas; d) ofrecer a los CIAT la información farmacoterapéutica de los registros de los medicamentos, y otros productos de los que tengan datos, así como de datos de farmacovigilancia, para el adecuado manejo de las intoxicaciones agudas. Adicionalmente, los CIAT establecerán redes dentro del país, y colaborarán con organismos internacionales como OPS-OMS y otras ARNs, mediante intercambio mutuo de información relativa.

## DISCUSIÓN

La situación de las intoxicaciones por paracetamol en diferentes regiones del mundo es alarmante, evidenciando la gravedad de este problema de salud pública. A lo largo del tiempo, se ha observado un aumento en los casos de intoxicación, tanto intencionados como accidentales, lo que plantea un serio desafío para los sistemas de salud a nivel global. Esta situación, detallada en la *Tabla 1*, subraya la imperiosa necesidad de desarrollar y poner en práctica estrategias efectivas de prevención y atención. El análisis de datos recopilados en diversos estudios revela tendencias preocupantes y casos trágicos que destacan la vulnerabilidad de ciertos grupos, especialmente en la población pediátrica. Así, se hace evidente que una intervención adecuada y oportuna es crucial para mitigar los riesgos asociados con el uso indebido de paracetamol y garantizar la seguridad de los pacientes.

En Australia, se han registrado 95 668 admisiones por intoxicaciones con paracetamol entre 2007-2008 y 2016-2017 (Cairns *et al.* 2019). A pesar de contar con un sistema de salud robusto, estos números ponen de manifiesto la frecuencia de este tipo de incidentes. En Brasil, la situación es aún más alarmante, con 492 muertes y más de 17 000 casos de intoxicación entre 1999 y 2020 (Okuyama *et al.* 2022). La estadística de que los medicamentos constituyen entre el 44,3% y 47,1% de las intoxicaciones notificadas subraya la necesidad de mejorar la vigilancia y regulación sobre su uso (Magalhães y Caldas 2019).

En Canadá, entre 1995 y 2004, se registraron 1 680 admisiones por sobredosis de paracetamol (Myers *et al.* 2007). Un caso particularmente preocupante incluyó un neonato de 22 días que requirió atención de emergencia por una sobredosis aguda (Ogilvie *et al.* 2012), lo que indica la vulnerabilidad de ciertos grupos ante los efectos adversos del medicamento.

Recientes datos revelan que, de 27 123 casos de intoxicación, el 13,7% (3 721 casos) se relacionaron con acetaminofén (Kaur *et al.* 2020), lo que enfatiza la necesidad de educación sobre su uso seguro.

En Chile, se registraron 12 975 casos de intoxicación entre 2016 y 2020, de los cuales 662 estuvieron relacionados con paracetamol (Schulz-Bañares *et al.* 2023). Adicionalmente, el Centro de Información Toxicológica (CITUC) registró 959 consultas por intoxicaciones agudas en 2009 (Bravo *et al.* 2012).

La problemática de las intoxicaciones por paracetamol en Estados Unidos es alarmante y ha evolucionado a lo largo de las décadas, evidenciando la gravedad del uso indebido de este medicamento comúnmente recetado. Se reportó el caso de una niña epiléptica de 13 años que sufrió una sobredosis de paracetamol y fenobarbital, desarrollando encefalopatía hepática y falleciendo ocho días después (Wilson *et al.* 1978).

En 1984, se examinó y trató a 417 niños pequeños que habían ingerido una cantidad potencialmente grave de paracetamol (Rumack 1984). Posteriormente, en 1988, se notificaron 11 195 casos de presunta sobredosis de paracetamol (Smilkstein *et al.* 1988). En un estudio realizado en 2000, se identificaron 322 pacientes intoxicados con acetaminofén, de los cuales 208 eran niñas y 114 niños, cuyas edades oscilaban entre 1 y 17 años (Alander *et al.* 2000).

Para el 2003, la Asociación Americana de Centros de Control de Intoxicaciones reportó aproximadamente 127 000 intoxicaciones por acetaminofén, de las cuales 38 989 ocurrieron en niños menores de seis años (Watson *et al.* 2004). Esto subraya una preocupación continua por la vulnerabilidad de la población pediátrica. Además, se estimó que hubo 78 414 visitas anuales a urgencias por sobredosis no relacionadas con el abuso de productos que contenían paracetamol (Budnitz *et al.* 2011), lo cual impone una carga considerable sobre los servicios de salud.

Entre los años 2006 y 2010, de 625,2 millones de visitas a urgencias, 411 811 fueron por toxicidad relacionada con acetaminofén (Altyar *et al.* 2015). En 2016, se registraron 49 450 casos de intoxicación en adultos y 35 489 en pediátricos, junto con 22 180 casos de intoxicación en combinación con otros fármacos, resultando en 110 muertes atribuibles a este medicamento (Mowry *et al.* 2016). Recientemente, Long *et al.* (2022) identificaron a 140 pacientes hospitalizados por toxicidad de acetaminofén, lo que refuerza la necesidad de atención médica continua y la implementación de medidas de prevención.

Por otra parte, Groenlandia y Suiza también reflejan preocupaciones similares, con 74 casos de suicidio por medicamentos en Groenlandia, de los cuales 43 involucraron paracetamol (Bloch *et al.* 2013), y 15 790 llamadas sobre intoxicaciones en Suiza (Martínez-De La Torre *et al.* 2020). Esto sugiere que, independientemente de la región, las intoxicaciones por paracetamol, especialmente con intenciones suicidas, son un problema crítico que necesita atención urgente.

En Bolivia, el Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIATOX), ubicado en el Hospital Japonés en Santa Cruz de la Sierra, reportó un total de 3 830 intoxicaciones. De estas, el 13% fueron atribuibles a medicamentos, y dentro de ese grupo, el 19% correspondió específicamente al paracetamol. Aunque la notificación de casos no es obligatoria, los datos destacan una preocupación significativa por las intoxicaciones relacionadas con el paracetamol.

En Colombia, las intoxicaciones por medicamentos representan un problema de salud pública significativo, evidenciado por datos recientes que revelan una tendencia preocupante. Estudios han identificado casos de ingesta tóxica relacionada con comportamientos

suicidas, con 64 casos reportados (Charria *et al.* 2022; Vásquez *et al.* 2023). Adicionalmente, entre 2008 y 2020, se registraron 99 361 casos de intoxicación por medicamentos (Díaz *et al.* 2021). Entre 2017 y 2021, el Centro de Información de Seguridad sobre Productos Químicos (CISPROQUIM) documentó un total de 45 606 incidentes de intoxicación. Al analizar estos datos, el 39% involucró medicamentos. Dentro de este grupo, el paracetamol destacó como el principal agente tóxico, siendo responsable del 17% de todas las intoxicaciones registradas.

El Centro Nacional de Intoxicaciones (CNCI) en Costa Rica, atendió 63 300 intoxicaciones, con un 47% vinculadas a medicamentos. Sin embargo, solo un 7% de éstas se relacionaron específicamente con el paracetamol. En Ecuador, el uso indebido de medicamentos plantea un reto importante para la salud pública. Datos recientes del Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIATOX), correspondientes al periodo 2017-2021, revelan un total de 28 394 casos registrados (CIATOX 2023). De estos, un 21% se atribuyen a medicamentos, y un 13% específicamente al paracetamol. Esta tendencia, que se mantiene consistente con informes anteriores como el de Brito *et al.* (1998), subraya la necesidad de fortalecer y desarrollar estrategias de prevención y manejo más efectivas para abordar este problema de salud pública en el país.

El Centro de Información y Asesoría Toxicológica (CIATOX) en El Salvador reportaron 9 236 intoxicaciones, de las cuales el 19% fueron atribuibles a medicamentos. Sin embargo, solo un 6% correspondió específicamente al paracetamol.

Por otro lado, el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses (INTCF) de España registró un total alarmante de 339 758 intoxicaciones, de las cuales un considerable 51% estuvo relacionado con medicamentos. Entre éstos, el paracetamol fue responsable del 31% de los casos, junto con las benzodiazepinas (INTCF 2023).

Además, el Centro de Información y Asesoría Toxicológica (CIAT) en Guatemala ha documentado 719 intoxicaciones, de las cuales el 38% fueron debidas a medicamentos, y el paracetamol representó el 15%.

En Honduras, la Secretaría de Salud (SESAL) reportó 9 883 casos de intoxicación por diversas sustancias entre 2014 y 2019. De estos, un 11,7% se atribuyeron a medicamentos. Sin embargo, la falta de un registro detallado impide conocer el porcentaje específico de intoxicaciones por paracetamol. Reconociendo esta limitación, la SESAL está implementando un sistema de registro innovador para fortalecer la vigilancia epidemiológica y desarrollar estrategias efectivas de prevención (Cruz 2024). En Uruguay, tanto los estudios recientes como los datos del Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) del Hospital de Clínicas de la Universi-

dad de la República, convergen en señalar la relevancia de las intoxicaciones por medicamentos como un problema de salud pública significativo. Estudios recientes (Herrera *et al.* 2023; Mena *et al.* 2024) revelan una preocupante tendencia de intoxicaciones por paracetamol entre adolescentes, con un alto porcentaje de casos intencionales y una clara asociación con intentos de suicidio, lo que subraya la necesidad de intervenciones de salud mental dirigidas a este grupo vulnerable. De manera similar, los datos del CIAT reportan un total de 55 681 intoxicaciones, de las cuales el 62% fueron por medicamentos, lo que confirma la alta prevalencia de intoxicaciones por medicamentos en el país.

El panorama global de las intoxicaciones por paracetamol, evidenciado por datos de diversos países y regiones como se aprecia en la *Tabla 2*, revela una problemática de salud pública alarmante y multifacética. Desde Australia hasta Uruguay, los informes subrayan la frecuencia y gravedad de estos incidentes, afectando a todas las edades, pero con un impacto devastador en niños y adolescentes. La variabilidad en la incidencia entre países, especialmente en Hispanoamérica, resalta la necesidad de estrategias adaptadas a cada contexto. Los casos presentados, desde admisiones masivas hasta muertes trágicas, ilustran la facilidad con la que un medicamento común puede convertirse en un agente letal. La alta proporción de intoxicaciones por medicamentos en España y la frecuencia de intentos de suicidio en Groenlandia y Uruguay, donde el paracetamol juega un papel preponderante, son llamadas de atención ineludibles.

Es imperativo que los sistemas de salud a nivel global implementen medidas de prevención robustas, incluyendo educación sobre el uso seguro del paracetamol, regulación de su venta y mejora en la atención de emergencias toxicológicas. La vulnerabilidad de niños y adolescentes exige intervenciones focalizadas.

Este estudio, enfocado en Hispanoamérica, evidencia la problemática de las intoxicaciones por paracetamol, resaltando la necesidad de mayor regulación debido a su amplia disponibilidad y bajo costo. Los datos de los centros toxicológicos, pilares en la vigilancia y respuesta ante estas intoxicaciones medicamentosas, revelan una prevalencia preocupante en la región. Por otra parte, España se presenta como un ejemplo a seguir, ya que ha implementado medidas significativas para abordar este desafío. Desde 1987, es obligatorio que todos los medicamentos incluyan en sus prospectos el número de teléfono del Servicio de Información Toxicológica (SIT), en el apartado relacionado con sobredosis o ingestión accidental y su tratamiento. Este enfoque proactivo demuestra el compromiso de España con la educación y prevención, lo que resulta fundamental para proteger a la población, especialmente a los más vulnerables.

La ausencia de una normativa de notificación obliga-

**Tabla 2.** Intoxicaciones por paracetamol.

<b>País</b>	<b>Reporte</b>	<b>Fuente</b>
Australia	El Instituto Australiano de Salud y Bienestar reportó 95 668 admisiones por intoxicación por paracetamol entre 2007-08 y 2016-17.	(Cairns <i>et al.</i> 2019)
Brasil	Entre 1999 y 2020, registraron 492 muertes, 5 666 ingresos hospitalarios y 17 031 casos de intoxicación por paracetamol.	(Okuyama <i>et al.</i> 2022)
Brasil	Se notificaron 3 622 casos de intoxicación al Centro de Información Toxicológica-DF y 5 702 al Sistema de Información de Enfermedades de Notificación-DF. Los fármacos fueron el principal agente, representando el 44,3-47,1% de los casos, siendo clonazepam y paracetamol los más comunes.	(Magalhães y Caldas 2019)
Canadá	Entre 1995 y 2004, se registraron 1 680 admisiones por sobredosis de paracetamol.	(Myers <i>et al.</i> 2007)
Canadá	Un neonato masculino de 22 días fue derivado a emergencias tras una sobredosis aguda de paracetamol en un hospital comunitario.	(Ogilvie <i>et al.</i> 2012)
Canadá	Se reportaron 27 123 casos de intoxicación, de los cuales 3 721 (13,7%) estaban relacionados con el acetaminofén.	(Kaur <i>et al.</i> 2020)
Chile	Entre 2016 y 2020, se identificaron 12 975 intoxicaciones, de las cuales 662 fueron por paracetamol.	(Schulz-Bañares <i>et al.</i> 2023)
Chile	En 2009, el Centro de Información Toxicológica y de Medicamentos, recibió 959 consultas por ingestión aguda de paracetamol.	(Bravo <i>et al.</i> 2012)
Colombia	63 individuos ingirieron dosis tóxicas de acetaminofén como parte de un comportamiento suicida.	(Vásquez <i>et al.</i> 2023)
Colombia	Entre 2008 y 2020 se reportaron 348 302 casos de intoxicación por sustancias químicas, de los cuales 99 631 estaban relacionados con medicamentos.	(Díaz Herrera <i>et al.</i> 2021)
Colombia	Paciente femenina de 28 años, referida desde Florida (Valle del Cauca, Colombia), con diagnóstico de intento suicida por intoxicación con paracetamol.	(Charria <i>et al.</i> 2022)
Ecuador	La intoxicación por medicamentos fue la principal causa, con 211 casos. Las sustancias más comunes en estas intoxicaciones fueron las benzodiazepinas, el acetaminofén y la aspirina.	(Brito <i>et al.</i> 1998)
Estados Unidos	Se registraron 49 450 casos de intoxicación por acetaminofén en adultos, 35 489 en pediátricos y 22 180 en combinación con otros fármacos. Hubo 110 muertes por intoxicación con paracetamol, solo o combinado.	(Mowry <i>et al.</i> 2016)
Estados Unidos	En el año 2003, en Estados Unidos las estadísticas reportadas por la Asociación Americana de Centros de Control de Intoxicaciones presentan una cifra de aproximadamente 127 000 intoxicaciones por acetaminofén o productos que lo contienen, de las cuales 38 989 ocurrieron en niños menores de seis años.	(Watson <i>et al.</i> 2004)
Estados Unidos	Se estima que hubo 78 414 visitas anuales a urgencias por sobredosis no relacionadas con el abuso de productos que contenían paracetamol.	(Budnitz <i>et al.</i> 2011)
Estados Unidos	De 625,2 millones de visitas a urgencias en EE. UU. entre 2006 y 2010, 411 811 fueron por toxicidad relacionada con acetaminofén.	(Altyar <i>et al.</i> 2015)
Estados Unidos	Se notificaron 11 195 casos de presunta sobredosis de paracetamol.	(Smilkstein <i>et al.</i> 1988)
Estados Unidos	Se examinó y trató a 417 niños pequeños que habían ingerido una cantidad potencialmente grave de paracetamol.	(Rumack 1984)
Estados Unidos	322 pacientes (208 niñas y 114 niños, de 1 a 17 años) intoxicados con acetaminofén.	(Alander <i>et al.</i> 2000)
Estados Unidos	Niña epiléptica de 13 años con sobredosis de paracetamol (Tylenol) y fenobarbital. Se desarrolló encefalopatía hepática y la paciente murió ocho días después.	(Wilson <i>et al.</i> 1978)
Estados Unidos	Se identificaron 140 pacientes hospitalizados por toxicidad de acetaminofén.	(Long <i>et al.</i> 2022)
Groenlandia	Se incluyeron 74 casos de intentos de suicidio con medicamentos (60 mujeres y 14 hombres), de los cuales 43 utilizaron paracetamol solo o en combinación con otros fármacos.	(Bloch <i>et al.</i> 2013)
Suiza	Este estudio transversal utilizó un análisis cuasiexperimental de series de tiempo interrumpido de 15 790 llamadas por intoxicación relacionadas con el paracetamol.	(Martínez-De La Torre <i>et al.</i> 2020)
Uruguay	10 adolescentes ingresaron por intoxicación aguda por paracetamol solo o en combinación con otros medicamentos como prednisona, desloratadina, loratadina, alprazolam y sertralina.	(Mena <i>et al.</i> 2024)
Uruguay	En el año 2020 se registraron 1 844 consultas por intoxicaciones en adolescentes entre 12 y 19 años; 23 casos correspondieron a intoxicaciones por paracetamol, todas con intención suicida.	(Herrera <i>et al.</i> 2023)
Uruguay	En el 2021 el Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) registró 226 llamadas por sospecha de intoxicación con paracetamol, el principal motivo de intoxicación fue el suicida, principalmente en mujeres jóvenes, afectando mayormente a los adolescentes.	(Basino <i>et al.</i> 2023)

toria y la heterogeneidad de las regulaciones dificultan la implementación de estrategias efectivas. Se propone fortalecer la vigilancia epidemiológica y establecer estándares regionales para garantizar la seguridad del paciente, incluyendo la regulación de la venta, la publicidad y la información en los envases.

Es fundamental implementar estrategias integrales que incluyan campañas educativas, un fortalecimiento de la vigilancia. El objetivo es abordar de manera efectiva la carga asociada a esta problemática de salud pública, promoviendo un enfoque que no solo informe y eduque a la población, sino que también optimice la supervisión. De este modo, se busca mitigar los riesgos y mejorar la salud de la comunidad en su conjunto.

## CONCLUSIÓN

El estudio pone de manifiesto un grave problema de salud pública en Hispanoamérica: el riesgo de intoxicación por paracetamol, exacerbado por la limitada información disponible a nivel regional y local sobre este medicamento. Los datos recopilados por los Centros de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) revelan un número alarmante de casos, lo que subraya la necesidad urgente de implementar medidas preventivas para proteger a la población.

La fácil accesibilidad a este medicamento, que a menudo es percibido como seguro debido a su bajo costo, amplia distribución y variedad de presentaciones, ha contribuido de manera significativamente al incremento de las intoxicaciones, especialmente entre los grupos más vulnerables. Por lo tanto, es fundamental llevar a cabo campañas educativas que informen a la ciudadanía sobre el uso seguro del paracetamol y los riesgos asociados a su ingesta inadecuada.

Además, el impacto de estas intoxicaciones hace evidente la necesidad de fortalecer la notificación obligatoria a los CIAT mediante sistemas de farmacovigilancia y toxicovigilancia más robustos y estandarizados. Si bien Bolivia (19%), Colombia (17%) y Guatemala (15%) son quienes reportan el mayor número de casos, todos los países participantes han registrado incidencias, lo que demuestra la urgente necesidad de revisar y optimizar los marcos regulatorios para abordar esta problemática de salud pública de manera efectiva.

Además, el estudio ha identificado la ausencia de marcos regulatorios específicos para el uso y comercialización de paracetamol en muchos países de Hispanoamérica. En contraste, España ha implementado un marco regulatorio que establece ciertas restricciones sobre la venta de este medicamento. Esta falta de regulación en otros países pone de manifiesto una debilidad en sus sistemas de salud, ya que la ausencia de normativa obligatoria dificulta la adopción de estrategias

efectivas para prevenir intoxicaciones y salvaguardar la salud de la población.

## AGRADECIMIENTOS

Al equipo profesional que integran los CIAT de los países hispanoamericanos participantes en este estudio y al personal de salud que ha atendido a los pacientes intoxicados. Además, agradecemos al personal del Centro de Información de Sustancias Químicas CIS-PROQUIM, Jorge Olivares Manjón CIATOX-Bolivia, Javier Pinto Quintero-Ecuador y Claudia Lizeth Caballero CENTOX-Honduras.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de interés para la publicación.

## REFERENCIAS

- Alander SW, Dowd MD, Bratton SL, Kearns GL. 2000. Pediatric acetaminophen overdose: risk factors associated with hepatocellular injury. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 154(4): 346–350. <https://doi.org/10.1001/ARCHPEDI.154.4.346>
- Altyar A, Kordi L, Skrepnek G. 2015. Clinical and economic characteristics of emergency department visits due to acetaminophen toxicity in the USA. *BMJ Open*, 5(9). <https://doi.org/10.1136/BMJOPEN-2014-007368>
- Basino G, Droganetti E, Ojeda P, Peña V, Rodríguez V, Ruz I, Tortorella N. 2023. Caracterización de intoxicaciones por paracetamol. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/46602/1/G43-2023%20.pdf>
- Bloch LH, Drachmann GH, Pedersen ML. 2013. High prevalence of medicine-induced attempted suicides among females in Nuuk, Greenland, 2008-2009. *International Journal of Circumpolar Health*. 72(SUPPL.1). <https://doi.org/10.3402/ijch.v72i0.21687>
- Bravo V, Román M, Bettini M, Cerda P, Mieres JJ, Paris E, Ríos JC. 2012. Caracterización de la ingestión por sobredosis de paracetamol: Reporte de un centro de información toxicológica chileno. *Revista Médica de Chile*. 140(3): 313–318. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872012000300005>
- Brito MA, Reyes R, Arguello J Spiller H. 1998. Principal causes of poisoning in Quito, Ecuador: a retrospective epidemiology study. *Vet Hum Toxicol*. 40(1): 40-42.

- Budnitz DS, Lovegrove MC, Crosby AE. 2011. Emergency department visits for overdoses of acetaminophen-containing products. *American Journal of Preventive Medicine*. 40(6): 585–592. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2011.02.026>
- Cairns R, Brown JA, Wylie CE, Dawson AH, Isbister GK, Buckley NA. 2019. Paracetamol poisoning-related hospital admissions and deaths in Australia, 2004–2017. *The Medical Journal of Australia*. 211(5): 218–223. <https://doi.org/10.5694/MJA2.50296>
- CIATOX (Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico). 2023. Informe estadístico de intoxicaciones por medicamentos de venta libre (OTC) en el periodo 2017 al 2022. Ministerio de Salud Pública. Ecuador.
- Cruz W. 2024. Comunicación personal. Disponible en: [https://drive.google.com/file/d/119TY1HWPTT\\_H3AWKvxHFizFrL7ryz5Gqe/view](https://drive.google.com/file/d/119TY1HWPTT_H3AWKvxHFizFrL7ryz5Gqe/view)
- Charria L, Correa D, Osorio L, Sandoval D, Saldaña-Campos J. 2022. Paracetamol poisoning in an adult patient: Case report and review of literature. <https://revistas.javerianacali.edu.co/index.php/salutemscientiaspiritus/article/view/651/554>
- Díaz Herrera JM, Castellanos Avendaño LP, Rodríguez Buitrago JR. 2021. Intoxicación aguda por acetaminofén en atención primaria. *Revista Med*, 29(2): 79–92. <https://doi.org/10.18359/RMED.5770>
- [FDA] U.S. Food and Drug Administration. 2019. Safe Use Initiative – Current Projects – Acetaminophen. [Internet] [citado 23 marzo 2023]. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/safe-use-initiative/safe-use-initiative-current-projects#acetaminophen>
- Herrera S, Notejane M, Valdez M, Juanena C, García L, Prego J. 2023. Intoxicación intencional por paracetamol en adolescentes. Un problema de salud creciente. A propósito de un caso. *Archivos de Pediatría Del Uruguay*. 94(2): e309. <https://doi.org/10.31134/AP.94.2.15>
- [INCTF] Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. 2023. Ministerio de Justicia de España. [Internet]. [citado 9 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.mjusticia.gob.es/es/institucional/organismos/instituto-nacional/intcf>
- Jóźwiak-Bebenista M, Nowak JZ. 2014. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Pol Pharm*. 71(1): 11-23. PMID: 24779190
- Kaur J, McFaul SR, Bang F. 2020. Trends in emergency department visits for acetaminophen-related poisonings: 2011–2019. *Health Promotion and Chronic Disease Prevention in Canada: Research, Policy and Practice*. 40(4): 130–133. <https://doi.org/10.24095/HPCDP.40.4.05>
- Long A, Magrath M, Mihalopoulos M, Rule JA, Agrawal D, Haley R, Kleinschmidt K, Lee WM. 2022. Changes in Epidemiology of Acetaminophen Overdoses in an Urban County Hospital After 20 Years. *The American Journal of Gastroenterology*. 117(8): 1324. <https://doi.org/10.14309/AJG.0000000000001826>
- Magalhães AFA, Caldas ED. 2019. Two health information systems to characterize poisoning in Brazil—a descriptive study. *Journal of Public Health*. 41(1): 203–211. <https://doi.org/10.1093/PUBMED/FDY008>
- Martínez-De La Torre A, Weiler S, Bräm DS, Allemann SS, Kupferschmidt H, Burden AM. 2020. National Poison Center Calls Before vs After Availability of High-Dose Acetaminophen (Paracetamol) Tablets in Switzerland. *JAMA Network Open*. 3(10): e2022897. <https://doi.org/10.1001/JAMANETWORKOPEN.2020.22897>
- McCrae JC, Morrison EE, MacIntyre IM, Dear JW, Webb DJ. 2018. Long-term adverse effects of paracetamol - a review. *Br J Clin Pharmacol*. 84(10): 2218–2230.
- Mena Y, Casuriaga AL, Notejane M, Giachetto G. 2024. Intoxicación por paracetamol en adolescentes. Reporte de una serie de casos. *Revista Médica Del Uruguay*. 40(2): e701. <https://doi.org/10.29193/rmu.40.2.4>
- Mencías Rodríguez E, Mayero Franco LM. 2000. Manual de Toxicología Básica. Intoxicaciones medicamentosas. Cap 4. Ediciones Díaz de Santos S.A. España. p 45–46.
- Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE, Zimmerman A, Schauben JL. 2016. 2015 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 33rd Annual Report. *Clinical Toxicology*. 54(10): 924–1109. <https://doi.org/10.1080/15563650.2016.1245421>
- Myers RP, Li B, Fong A, Shaheen AAM, Quan H. 2007. Hospitalizations for acetaminophen overdose: a Canadian population-based study from 1995 to 2004. *BMC Public Health*. 7: 143. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-143>

- Okuyama JHH, Galvao TF, Silva MT. 2022. Estimates of Paracetamol Poisoning in Brazil: Analysis of Official Records From 1990s to 2020. *Frontiers in Pharmacology*. 13. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2022.829547>
- Ogilvie JD, Rieder MJ, Lim R. 2012. Acetaminophen overdose in children. *Canadian Medical Association Journal*. 184(13): 1492. <https://doi.org/10.1503/CMAJ.111338>
- Rumack BH. 1984. Acetaminophen overdose in young children. Treatment and effects of alcohol and other additional ingestants in 417 cases. *American Journal of Diseases of Children*. 138(5): 428–433. <https://doi.org/10.1001/ARCHPEDI.1984.02140430006003>
- Schulz-Bañares B, González-Norambuena C, Müller-Ramírez C. 2023. Drug-Related Poisonings among Chilean Adult Population. *Iranian Journal of Public Health*. 52(5): 978–985. <https://doi.org/10.18502/IJPH.V52I5.12714>
- Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig KW, Rumack BH. 1988. Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985). *The New England Journal of Medicine*. 319(24): 1557–1562. <https://doi.org/10.1056/NEJM198812153192401U>
- Unión Europea. 2001. Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano. *Diario Oficial de la Unión Europea*. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/HTML/?uri=CELEX:02001L0083-20190726>
- Unión Europea. 2011. Directiva 2011/62/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 8 de junio de 2011 que modifica la Directiva 2001/83/CE. *Diario Oficial de la Unión Europea*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/HTML/?uri=CELEX:32011L0062>
- Vásquez, D, Ahunca, LF, Duque, M, Ramírez, LM, Toro LG, Restrepo D. 2023. Sobredosis de acetaminofén y comportamientos relacionados con suicidio. *Medicina UPB*. 42(1): 30–36. <https://doi.org/10.18566/ME-DUPB.V42N1.A05>
- Vermeulen NPE, Bessems JGM, Van De Straat R. 1992. Molecular Aspects of Paracetamol-Induced Hepatotoxicity and its Mechanism-Based Prevention. *Drug Metabolism Reviews*. 24(3): 367-407.
- Watson WA, Litovitz TL, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Youniss J, Reid N, Rouse WG, Rembert RS, Borys D. 2004. 2003 annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *American Journal of Emergency Medicine*. 22(5): 335–404. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2004.06.001>
- Wilson JT, Kasantikul V, Harbison R, Martin D. 1978. Death in an adolescent following an overdose of acetaminophen and phenobarbital. *American Journal of Diseases of Children*. 132(5): 466–473. <https://doi.org/10.1001/ARCHPEDI.1978.02120300026004>
- Zamora A, Gómez-Aroca AM, Charry JD. 2018. Acetaminofen In: Zamora A, Editor. *Urgencias Toxicológicas*. Cap. 14. Uninavarra Ed. Bogotá. p 267-270.

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

---

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

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

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

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

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

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

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

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

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

El objetivo de la Sección Imágenes en Toxicología es la publicación de imágenes originales (1-2 figuras de alta calidad) o clásicas interesantes o hallazgos inusuales que faciliten el diagnóstico clínico, de laboratorio o eco-epidemiológico de causas con origen toxicológico.

Las imágenes pueden no ser excepcionales, pero sí

ilustrativas.

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

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

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

Se aceptará un máximo de 3 autores por imagen.

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

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

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

### Envío de manuscritos

El envío de manuscritos se realizará a través de la sección de *Acta Toxicológica Argentina* en la página web de la Asociación Toxicológica Argentina (<https://toxicologia.org.ar/formulario-acta/>).

### Gratuidad de las publicaciones

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

### Derechos de autor

*Acta Toxicológica Argentina* es una publicación de ac-

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

### Derechos de publicación

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

### Aspectos generales en la preparación del manuscrito para artículo original

Los manuscritos deberán redactarse con procesador de texto (Microsoft Word versión 2003 o superior), a doble espacio (incluso los resúmenes, referencias y tablas) con un tamaño mínimo de letra Arial en 12 puntos. Las páginas deberán numerarse desde la portada. Las letras en negrita o itálica se usarán sólo cuando corresponda. En la primera página se indicará: título del trabajo, apellido, nombre de autor 1; apellido, nombre de autor 2; apellido, nombre de autor 3; etc.; lugar de trabajo (nombre de la institución y dirección postal); de haber autores con distintos lugares de trabajo se colocarán superíndices numéricos -no encerrados entre paréntesis- junto a los nombres, de manera de identificar a cada autor con su respectivo lugar de trabajo; fax y/o correo electrónico del autor responsable de la correspondencia (que se indicará con un asterisco en posición de superíndice ubicado junto al nombre).

En la segunda página se incluirá el título en inglés y el resumen en el idioma del artículo y en inglés, seguido cada uno de ellos de una lista de tres a seis palabras clave, en el idioma correspondiente. Si el trabajo estuviese escrito en inglés, deberá tener un resumen en español.

Las palabras clave iniciarán con mayúscula e irán separadas por punto y coma.

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

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

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

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

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

Las **tablas** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos, con las leyendas y/o aclaraciones que correspondan al pie. Las llamadas para las aclaraciones al pie se harán empleando números arábigos entre paréntesis y superíndice. Sólo los bordes externos de la primera y la última fila y la separación entre los títulos de las columnas y los datos se marcarán con línea continua. No se marcarán los bordes de las columnas. Asegúrese que cada tabla sea citada en el texto. Las **figuras** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos. Los dibujos deberán estar en condiciones que aseguren una adecuada reproducción. Los gráficos de barras, tortas o estadísticas deberán tener formato GIF. Los números, letras y signos tendrán dimensiones adecuadas para ser legibles cuando se hagan las reducciones necesarias. Las referencias de los símbolos utilizados en las figuras deberán ser incluidas en el texto de la leyenda. Las **fotografías** deberán ser realizadas en blanco y negro, con buen contraste, en papel brillante y con una calidad suficiente (mínimo 300 dpi) para asegurar una buena reproducción. Los dibujos originales o las fotografías tendrán al dorso los nombres de los autores y el número de orden escritos con lápiz.

Las fotos para la versión electrónica deberán ser realizadas en el formato JPEG o GIF, con alta resolución. Tanto las figuras como las fotografías deberán ser legi-

bles. El tamaño mínimo será media carta, es decir, 21 x 15 cm, a 300 dpi. En todos los casos se deberá indicar la magnificación utilizada (barra o aumento).

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

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

**Unidades de medida.** Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se deberán expresar en unidades métricas (metro, kilogramo, litro). En los manuscritos en español los números decimales deben indicarse con coma, y los miles con punto. En los manuscritos en inglés, los decimales deben indicarse con punto y los miles, con coma.

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

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

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

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

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

## Bibliografía

### Parte 1: citas en texto

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

Este reclamo fue refutado más tarde (Jones 2008).

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

Jones (2008) luego refutó esta afirmación.

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

En 2008, Jones refutó esta afirmación.

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

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

### Más de un autor

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

... (Andrews y Gray 1995).

... (Gómez et al. 2003).

### Múltiples obras de diferentes autores.

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

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

### Múltiples obras del mismo autor publicadas en el mismo año.

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

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

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

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

### Citando una fuente secundaria o indirecta

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

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

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

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

## Organizaciones como autores

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

... (FAO 2006).

## Parte 2: lista de referencias

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

## Componentes de referencias en la lista de referencias.

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

### Libros y otras monografías.

Autor (es) o Editor (es)

Año de publicación

Título

Contenido o designador medio

Edición

Autor (es) secundario (s)

Lugar de publicación

Editor

Paginación

Serie

### Artículos de revistas y periódicos.

Autor (es)

Año de publicación

Título del artículo

Contenido o designador medio

Título de revista o periódico

Volumen

Número

Paginación

### Autor (es) o Editor (es)

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

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

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

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

*Macdonald MB, Kaufman LG, editores.*

## Más de diez autores.

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

## Autor (es) secundario (s)

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

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

## Organizaciones como autores

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

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

## Título

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

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

## Designador de contenido

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

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

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

### Designador medio

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

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

### Lugar de publicación y editorial

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

### Paginación

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

### Serie

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

### Parte 3: ejemplos (impresos) Artículo de revista

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

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

### Libro

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

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

### Capítulo en un libro

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

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

### Libro editado

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

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

### Capítulo o artículo en un libro editado

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

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

### Artículo en un diccionario o enciclopedia.

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

### Libro en serie

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

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

### Tesis o disertación

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

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

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

### Documentos de conferencia o actas

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

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

### Parte 4: ejemplos (electrónicos)

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

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

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

### Artículo electrónico en formato PDF.

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

### Artículo electrónico en formato HTML o

### de texto.

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

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

### Libro electrónico

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

Watson RR, Preedy VR, editors. 2010. Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables [Internet]. Amsterdam: Academic Press; [citado el 22 de abril de 2010]. Disponible en: [www.sciencedirect.com/science/book/9780123746283](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 longitude, tamanho, peso e volume deverão ser expressas em unidades métricas (metro, quilograma, litro) ou seus múltiplos decimais. As temperaturas serão expressas em graus Celsius e as pressões arteriais em milímetros de mercúrio. Todos os valores de parâmetros hematológicos e bioquímicos deverão ser apresentados em unidades do sistema métrico decimal, de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI). Não obstante, os editores poderão solicitar que, antes de publicar o artigo, os autores agreguem unidades alternativas ou diferentes das do SI.

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

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

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

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

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

## Bibliografia

### Parte 1: citações no texto

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

Esta afirmação foi posteriormente refutada (Jones 2008).

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

ção entre parênteses:

Jones (2008) posteriormente refutou essa afirmação.

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

Em 2008, Jones refutou essa afirmação.

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

"Esses resultados contradizem claramente o publicado

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

### Mais de um autor

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

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

... (Andrews e Gray 1995).

... (Gómez et al. 2003).

### Múltiplas obras de diferentes autores.

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

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

### Vários trabalhos publicados pelo mesmo autor no mesmo ano.

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

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

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

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

### Citando uma fonte secundária ou indireta

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

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

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

## Organizações como autores

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

... (FAO 2006).

## Parte 2: lista de referências

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

## Componentes de referências na lista de referências.

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

### Livros e outras monografias.

Autor (es) ou Editor (es)  
Ano de publicação  
Título  
Conteúdo ou designador médio  
Edição  
Autor (es) Secundário (s)  
Local de publicação  
Editor  
Paginação  
Série

### Artigos de revistas e periódicos/jornais.

Autor (es)  
Ano de publicação  
Título do artigo  
Conteúdo ou designador médio  
Título de revista ou jornal  
Volume  
Número  
Paginação

### Autor (es) ou Editor (es)

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

um com uma vírgula.

Mary-Beth Macdonald e Laurence G. Kaufman se 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>