

Acta Toxicológica Argentina



Vol. 33, N°2
Año 2025



Asociación
Toxicológica
Argentina

Publicación de la
Asociación Toxicológica Argentina
Buenos Aires, Argentina

FOTO DE LA PORTADA:

Ing.-Lic. Daniel Mendez, Hazmat Argentina S.A.

Técnicos recibiendo por una manguera amoniaco anhidro (gas tóxico y corrosivo alcalino) en el interior de un recipiente que contiene una solución ácida refrigerada que lo solubiliza y neutraliza (formando cloruro de amonio). Los técnicos utilizan nivel B de protección química ante el riesgo de salpicaduras y de escapes de gas tóxico.

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)

Trabajos Originales

Correlación entre accidentes ofídicos y variables socioeconómicas en Argentina en el periodo 2019-2023

Dozoretz, Daniel; Lazovski, Jaime; Casas, Natalia; Damín, Carlos; de Roodt, Adolfo Rafael 41

Evaluación ecotoxicológica del bioproducto IHPLUS® en *Physella acuta*

Marrero, Osmany; Rojas, Amanda; Águila, Edisleidy; Castañedo, Zoe; Meneses, Alfredo; Fonte, Leidy 47

Comunicaciones Breves

Aumento de la expresión de la enzima glutatión sulfur transferasa en *Caenorhabditis elegans* en respuesta a paraquat: estrategia antioxidante con N-acetilcisteína

Gonzales-Moreno, Candelaria; González-Araujo, Lara; Ferreyra, Melisa Rut; Moran, Yanina Soledad; Martínez, Samanta Andrea; Fernández-Hubeid, Lucía; Virgolini, Miriam Beatriz 53

Instrucciones para los autores 57

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

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

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

Se encuentra indexada en SciELO, Malena (CAICYT-CONICET) y pertenece al Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas.

TRABAJOS ORIGINALES

Correlación entre accidentes ofídicos y variables socioeconómicas en Argentina en el periodo 2019-2023

Correlation between snakebite accidents and socioeconomic variables in Argentina during the period 2019–2023

Dozoretz, Daniel^{1*}; Lazovski, Jaime²; Casas, Natalia³; Damín, Carlos¹; de Roodt, Adolfo Rafael^{1,4}

¹Primera Cátedra de Toxicología, Facultad de Medicina, U. B. A. Domicilio: Paraguay 2155, Piso 8vo. CABA, CP: C1121A6B, Teléfono (54-11) 5950-9500. ²Departamento de Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. M. T. de Alvear 2202. Teléfono (54-11) 5285-2640. ³Ministerio de Salud de la Nación: Av. 9 de Julio 1925 – CABA, CP: C1073ABA, Teléfono: (54-11) 4379-9000. ⁴Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud, Malbrán. Av. Vélez Sarsfield 563 – CABA, CP: C1282AFF, Teléfono: (54-11) 3751-8000.

*dozoretz@gmail.com

Recibido: 9 de julio de 2025

Aceptado: 31 de agosto de 2025

Editor: Aldo Sergio Saracco

Resumen: El ofidismo es un accidente que ocurre cuando una serpiente, al sentirse amenazada, muerde e inyecta veneno, generando daño local o sistémico. En Argentina, la notificación de accidentes ofídicos es obligatoria, pero hasta el momento no se ha analizado su relación con variables socioeconómicas. El objetivo de este trabajo fue comparar las tasas de ofidismo entre regiones y entre provincias argentinas y analizar por medio de regresión lineal simple la relación entre frecuencia de ofidismos y pobreza a partir de indicadores socioeconómicos a nivel provincial. Se realizó un estudio observacional y ecológico de los accidentes ofídicos notificados en Argentina durante el periodo 2019-2023 y su correlación con variables socioeconómicas medidas en 2022. De las 3 554 notificaciones analizadas, la mayoría ocurrió en las regiones del Noreste y Noroeste Argentino y fueron causadas principalmente por serpientes del género *Bothrops*. Se identificaron relaciones lineales directas estadísticamente significativas ($p < 0,05$), entre las tasas de accidentes ofídicos por provincia y las respectivas tasas de mortalidad infantil, proporciones de embarazos adolescentes, porcentajes de población no escolarizada y de viviendas muy humildes (definidas como “ranchos”). También se observaron relaciones lineales inversas, estadísticamente significativas ($p < 0,05$), entre las tasas de accidentes ofídicos por provincia y los respectivos porcentajes de población que habita en viviendas particulares con desagüe cloacal, con distribución interna de agua mediante cañerías y con pisos con revestimiento. Los resultados coinciden con hallazgos publicados por otros autores, en los que la mayor cantidad de notificaciones proceden de áreas de bajos recursos, lo que se ha asociado a dificultades en el acceso y otras falencias de los sistemas de salud, lo que se ha relacionado con una mayor probabilidad de secuelas psicológicas y físicas. En base a los resultados, se destaca la importancia de evaluar tanto la distribución adecuada de recursos, como del funcionamiento correcto del sistema de notificación, principalmente en las regiones del Noreste y Noroeste de Argentina.

Palabras claves: Envenenamiento por serpiente; Mordedura de serpiente; Pobreza; Poblaciones vulnerables.

Abstract. Snakebite envenomation is an accident that occurs when a snake, feeling threatened, bites and injects venom, causing local or systemic damage. In Argentina, notification of snakebite incidents is mandatory; however, their relationship with socioeconomic variables has not yet been analyzed. This study observational and ecological evaluates the relationship between snakebite rates and poverty across Argentine provinces, between 2019 and 2023, through simple linear regression, using provincial-level socioeconomic indicators and incidents reported. A total of 3,554 notifications were analyzed most of them occurred in the Argentine’s Northeast and Northwest regions, and mainly caused by snakes of the *Bothrops* genus. Statistically significant direct relationship ($p < 0.05$) were found between province snakebite rates and infant mortality rates, adolescent pregnancy rates, percentage of unschooled population, and percentage of households in extreme poverty (defined as “ranchos”). Statistically significant inverse relationship ($p < 0.05$) were

observed with the percentage of households having sewage systems, indoor plumbing, and finished flooring. These findings align with those of previous studies, which indicate a higher number of snakebite cases in low-resource areas, associated with limited healthcare access and systemic deficiencies, increasing the risk of psychological and physical sequelae. The results highlight the need to assess both the adequate distribution of resources and the proper functioning of the notification system, especially in Argentina's Northeast and Northwest regions.

Keywords: Snake envenoming; Snake bite; Poverty; Vulnerable population.

INTRODUCCIÓN

El ofidismo es un accidente por el cual un ofidio, al sentirse amenazado o agredido, responde mordiendo con inoculación de veneno al individuo, con el consecuente daño orgánico y funcional local y sistémico (Alperin *et al.* 2012). En Argentina la notificación de envenenamientos por mordedura de animales es obligatoria, con diferenciación desde 2007, entre ofidismo, araneismo y escorpionismo y la subclasificación por géneros de serpientes y arañas, desde 2014. Previo a esto solo se disponía de datos de mortalidad por estas causas en las estadísticas vitales y de la información del registro de uso de los sueros antivenenos (de Roodt y Casas 2014; Dolab *et al.* 2014).

Durante el periodo 1978-1998 se identificaron 8 083 casos de ofidismo en Argentina a partir de los registros de solicitud de antivenenos al Instituto "Dr. Carlos G. Malbrán", entre los cuales los accidentes causados por el género *Bothrops* fueron los más frecuentes (96,6%), seguidos por los causados por *Crotalus durissus terrificus* (2,8%) y por ejemplares del género *Micrurus* (0,6%). Los accidentes se registraron con predominio en las regiones del Noreste argentino (NEA) y Noroeste argentino (NOA), seguidos por los ocurridos en la región Centro (Dolab *et al.* 2014). Durante el periodo 2007-2018 y según la información publicada en el Boletín Epidemiológico Nacional, se han notificado 8 657 casos de ofidismo en Argentina, coincidiendo el predominio de accidentes en la región NEA (42,6%), seguidos por la región NOA (36,2%), las regiones Centro (16,7%), Cuyo (3,7%) y Sur (0,7%) (Ministerio de Salud 2012-2013 y 2015-2020).

A nivel global se ha descrito una mayor prevalencia de accidentes ofídicos en los países en desarrollo y de muertes por accidentes ofídicos en poblaciones de bajos recursos, planteándose la relación entre mortalidad por ofidismo y variables socioeconómicas (Harrison *et al.* 2009; Jaramillo *et al.* 2019).

En Argentina hasta el momento, no se han publicado informes en los que se haya analizado la relación de los accidentes ofídicos con variables socioeconómicas, información que es de gran utilidad para las políticas de prevención, distribución de recursos humanos, la pla-

nificación de la producción de antivenenos y garantizar el acceso a los mismos.

En este trabajo se compararon las tasas de ofidismo entre diferentes regiones y entre provincias argentinas, caracterizando los casos y analizando la correlación entre la frecuencia de casos de ofidismo y la pobreza a partir de indicadores socioeconómicos a nivel provincial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional y ecológico de los accidentes ofídicos notificados en Argentina durante el periodo 2019-2023 y su correlación con variables socioeconómicas medidas en 2022.

La información sobre los accidentes ofídicos se obtuvo de los datos publicados en el Boletín Epidemiológico Nacional, a partir de las notificaciones realizadas entre 2019 y 2023 al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS) dependiente del Ministerio de Salud de Argentina (Ministerio de Salud 2025), las proyecciones de población 2010-2040 publicadas por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC 2013) y las variables demográficas y socioeconómicas del Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2022 (INDEC 2023a; INDEC 2023b; INDEC 2024).

Respecto a los accidentes ofídicos se analizaron las siguientes variables: 1) género y/o especie del ofidio: dividido en *Bothrops* spp., *Micrurus* spp. y *Crotalus durissus terrificus*, 2) provincia donde ocurrió el accidente y 3) año en los que ocurrió el accidente.

Las condiciones sanitarias locales se evaluaron con las siguientes variables: 1) la tasa de mortalidad infantil cada 1 000 habitantes, correspondientes al año 2021 y, 2) la proporción de embarazos en menores de 20 años.

Las variables incluidas en el análisis socioeconómico fueron: 1) Población que nunca asistió a instituciones educativas. 2) Porcentaje de viviendas particulares que son "ranchos o casillas" (definidos como edificaciones precarias con salida directa al exterior y elaboradas con materiales de baja calidad, pudiendo ser de adobe, tierra, chapa o paja). 3) Porcentaje de población que habita en viviendas con desagües cloacales. 4) Porcentaje de

población que habita en viviendas con distribución interna de agua por medio de cañerías y 5) Porcentaje de población que habita en viviendas con pisos con revestimiento (cerámica, mármol, baldosas, alfombra, piso flotante, vinílico, cemento alisado o microcemento).

El análisis de relación entre la prevalencia (casos / total de la población x 100 000) de ofidismo por provincia y las variables socioeconómicas mencionadas se realizó con regresión lineal simple en escala logarítmica natural. La información se compiló en Microsoft Excel versión 2021. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Prism versión 10.1.

RESULTADOS

En el período 2019-2023, se notificaron 3 554 eventos de ofidismo en el territorio argentino. En la *Tabla 1* se observa la distribución de las notificaciones según provincia y región de ocurrencia, con su respectiva población y superficie, en la misma se puede identificar la

mayor prevalencia de notificaciones en las provincias de las regiones NEA, NOA y Centro (INDEC 2013; IGN 2022; Ministerio de Salud 2025).

Respecto a la distribución por género o especie, en el total de casos notificados *Bothrops* spp. representó el 92,8%, *Crotalus durissus terrificus* el 5,4% y *Micrurus* spp. el 1,8%.

Mediante la técnica de regresión lineal simple, se identificó una relación directa estadísticamente significativa ($p < 0,05$), entre las tasas de accidentes ofídicos por provincia y las respectivas tasas de mortalidad infantil, las proporciones de embarazos adolescentes (mujeres menores de 20 años), los porcentajes de población no escolarizada y los porcentajes de viviendas que son ranchos (*Figuras 1a y 1b*). Asimismo, se observó una relación inversa estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las tasas de accidentes ofídicos por provincia y los respectivos porcentajes de población que habita en viviendas particulares con desagüe cloacal, con distribución interna de agua mediante cañerías y con pisos con revestimiento (*Figuras 1b y 1c*).

Tabla 1. Prevalencia de accidentes ofídicos, superficie y población por provincia y región de Argentina, 2019-2023.

Regiones	Provincia	Prevalencia de accidentes notificados sobre el total (%)*		Superficie por provincia respecto al total del territorio continental (%)**		Población provincial respecto a la nacional (%)***	
		Por provincia	Por región	Por provincia	Por región	Por provincia	Por región
Región Centro	Buenos Aires	1,8	18,18	11	24,55	38,66	64,5
	CABA	0,23		0,01		6,72	
	Córdoba	5,26		5,93		8,29	
	Entre Ríos	5,57		2,82		3,05	
	Santa Fe	5,32		4,79		7,78	
Región Cuyo	San Luis	0,76	1,94	2,71	11,25	1,12	7,24
	San Juan	0,39		3,18		1,72	
	Mendoza	0,79		5,36		4,4	
Región NEA	Chaco	12,21	53,38	3,58	10,59	2,66	9,24
	Corrientes	7,6		3,21		2,47	
	Formosa	7,32		2,72		1,33	
	Misiones	26,25		1,08		2,78	
Región NOA	Catamarca	1,52	25,66	3,65	20,18	0,91	12,53
	Jujuy	1,24		1,92		1,7	
	La Rioja	0,7		3,29		0,87	
	Salta	4,98		5,58		3,15	
	Santiago del Estero	14,6		4,93		2,16	
Tucumán	2,62	0,81	3,74				
Región Sur	Chubut	0,28	0,84	8,07	33,43	1,37	6,49
	La Pampa	0,33		5,16		0,79	
	Neuquén	0,06		3,4		1,47	
	Río Negro	0,11		7,27		1,65	
	Santa Cruz	0,06		8,79		0,82	
	Tierra del Fuego	0		0,74		0,39	

*n=3 554 accidentes ofídicos. ** n= 2 780 085km² *** n= 45 808 747 habitantes

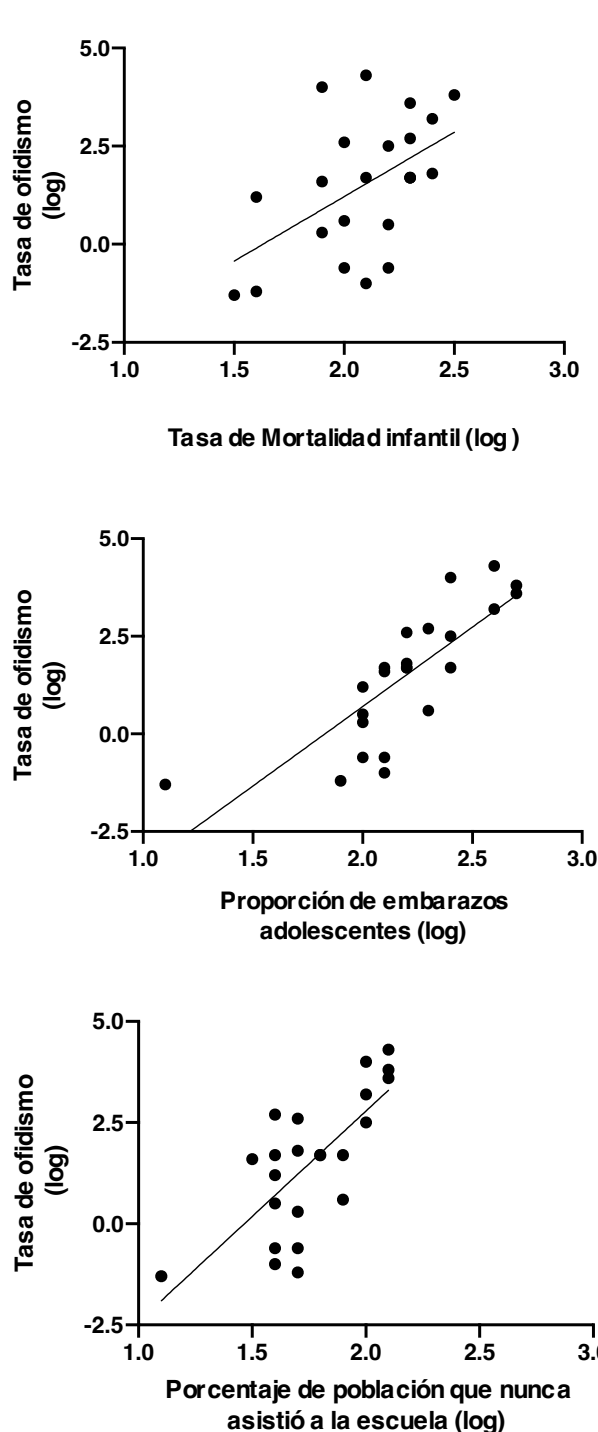


Figura 1a. Relaciones por regresión lineal simple entre las tasas de ofidismo de 2019-2023 y porcentaje de mortalidad infantil ($p < 0,0019$, $R^2 0,2654$), proporción de embarazos adolescentes ($p < 0,0001$, $R^2 0,6352$) y porcentaje de población que nunca asistió a la escuela ($p < 0,0001$, $R^2 0,5219$), de cada provincia. Fuente: elaboración propia (INDEC 2013; INDEC 2023b; INDEC 2024; Ministerio de Salud 2024, Ministerio de Salud 2025).

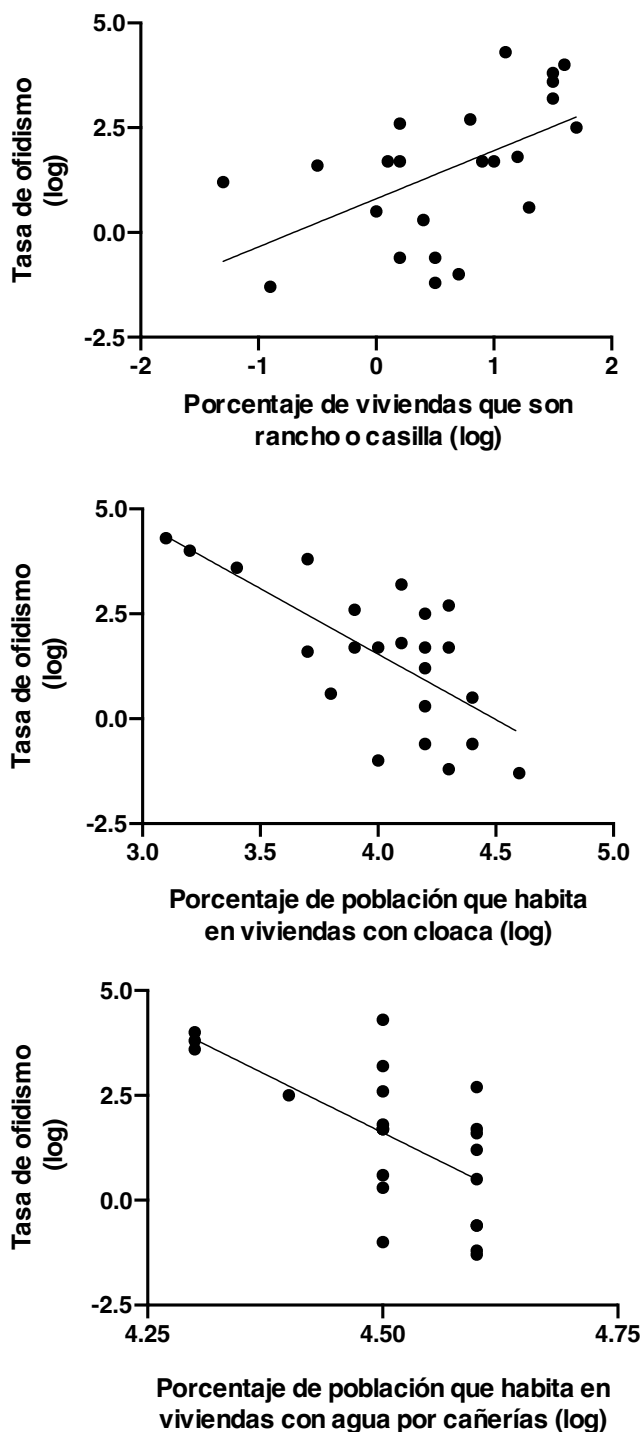


Figura 1b. Relaciones por regresión lineal simple entre tasas de ofidismo de 2019-2023 y el porcentaje de viviendas, de cada provincia, que son ranchos o casillas ($p < 0,0076$, $R^2 0,2930$), el porcentaje de población, de cada provincia que habita en viviendas con cloaca ($p < 0,0002$; $R^2 0,4887$) y con distribución de agua por cañerías ($p < 0,0008$; $R^2 0,4228$). Fuente: elaboración propia (INDEC 2013; INDEC 2023a; Ministerio de Salud 2024; Ministerio de Salud 2025).

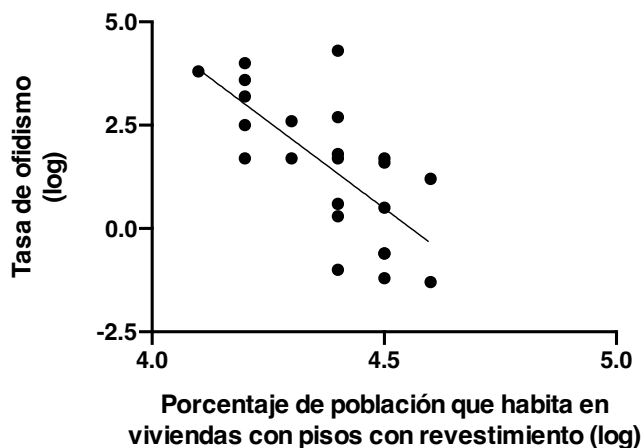


Figura 1c. Relaciones por regresión lineal simple entre las tasas de ofidismo de 2019-2023 y Porcentaje de población, de cada provincia, que habita en viviendas con pisos con revestimiento (p 0,0002; R^2 0,4844) (INDEC 2023a; Ministerio de Salud 2024; Ministerio de Salud 2025).

DISCUSIÓN

Acerca de la distribución geográfica, al igual que lo observado por Dolab *et al.* (2014) en las provincias del NEA, NOA y Centro se concentra la mayor parte de los accidentes por serpientes venenosas, remarcando que en la región NEA se concentra más de la mitad de los mismos, aunque esta región representa solo la décima parte de la superficie y la población del país. Comparando el número y localización de las notificaciones y la superficie de cada provincia, se observa que el 73,5% de las notificaciones se concentró en solo 6 provincias, éstas fueron Misiones, Chaco, Corrientes y Formosa, correspondientes a la región del NEA, la provincia de Entre Ríos correspondiente a la región Centro y la provincia de Santiago del Estero en la región del NOA.

La relación directa y estadísticamente significativa entre las tasas provinciales de ofidismo y los indicadores asociados a la escasez de recursos habitacionales, educativos, económicos y sanitarios, como la mortalidad infantil y el embarazo en mujeres menores de 20 años, también coinciden con hallazgos publicados por otros autores (Marmot 2005; Ortiz de D'Arterio *et al.* 2008; Olavarría y Molina 2012), en los que la mayor cantidad de notificaciones de lesiones por serpientes proceden de áreas con habitantes de bajos recursos, lo que a su vez se ha asociado a dificultades en el acceso y otras falencias de los sistemas de salud, situación que se ha relacionado con mayor probabilidad de secuelas psicológicas y físicas como cicatrices, deformaciones, amputaciones y fallas de diversos órganos, con distinto grado de discapacidad y secuelas estéticas.

Por último, según la Organización Mundial de la Salud (2019) y Waiddyanatha *et al.* (2019), la escasez de recursos habitacionales, educativos, económicos y sanitarios se han asociado con menor notificación de los accidentes ofídicos y subestimación del problema, lo que puede dar lugar a una distribución y uso inadecuados de los recursos sanitarios.

CONCLUSIONES

Se observó una mayor prevalencia en las regiones del NEA y NOA, cuyas condiciones económicas, habitacionales, educativas y sanitarias deficitarias han mostrado una relación directa, estadísticamente significativas, con las respectivas tasas de accidentes ofídicos.

A partir de estos hallazgos se destaca la importancia de evaluar tanto la distribución adecuada de recursos educativos, económicos, humanos y materiales, entre los que se incluye la provisión de antivenenos, como del funcionamiento correcto del sistema de notificación, principalmente en las regiones NEA y NOA de Argentina.

CONFLICTO DE INTERESES

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

REFERENCIAS

Alperin S, Barnes A, Leynaud G, López L, Reati G. 2012. Ofidismo en la provincia de Córdoba: Guía para profesionales de la salud. Córdoba: Encuentro Grupo Editor.

de Roodt AR; Casas N. 2014. Aspectos epidemiológicos del ofidismo en Argentina con énfasis en la región Nordeste. En: La problemática del ofidismo en la región Nordeste de Argentina. Una mirada integradora. Peichoto ME y Salomón DO, Editores. Ministerio de Salud de la Nación – Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMET). Páginas 122-156. ISBN 978-987-29115-2-2.

Dolab JA, de Roodt AR, de Titto EH, García SI, Funes R, Salomón OD, Chippaux JP. 2014. Epidemiology of snakebite and use of antivenom in Argentina. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 108:269–276.

Harrison RA, Hargreaves A, Wagstaff SC, Faragher B, Lalloo DG. 2009. Snake envenoming: a disease of poverty. *PLoS Negl Trop Dis.* 3(12):e569.

[IGN] Instituto Geográfico Nacional. 2022. Determinación de la superficie correspondiente al territorio continental, antártico e insular de la República Argentina. Contribución a la implementación del Marco Estadístico Geoespacial Global de las Naciones Unidas en la República Argentina. 82 p.

[INDEC] Instituto Nacional de Estadística y Censos. 2013. Proyecciones provinciales de población por sexo y grupo de edad 2010-2040. - 1a ed. ISBN 978-950-896-433- 5. Disponible en: https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/publicaciones/proyecciones_prov_2010_2040.pdf. Última revisión el 28 de septiembre de 2024.

[INDEC] Instituto Nacional de Estadística y Censos. 2023a. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2022: resultados provisionales: indicadores de las condiciones habitacionales de las viviendas particulares ocupadas. 1a ed. ISBN 978-950-896-653-7. Disponible en: https://censo.gob.ar/wp-content/uploads/2023/11/censo2022_condiciones_habitacionales.pdf. Última revisión el 28 de septiembre de 2024.

[INDEC] Instituto Nacional de Estadística y Censos. 2023b. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2022: educación. 1a ed. ISBN 978-950-896-658-2. Disponible en: https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/poblacion/censo2022_educacion.pdf. Última revisión el 28 de septiembre de 2024.

[INDEC] Instituto Nacional de Estadística y Censos. 2024. Anuario Estadístico de la República Argentina 2022. 1a ed. ISBN 978-950-896-669-8. Disponible en: https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/publicaciones/anuario_estadistico_2022.pdf. Última revisión el 28 de septiembre de 2024.

Jaramillo JD, Hakes NA, Tennakoon L, Spain D, Forrester JD. 2019. The “T’s” of snakebite injury in the USA: fact or fiction?. *Trauma Surgery & Acute Care Open*. 4:e000374.

Marmot M. 2005. Social determinants of health inequalities. *Lancet*. 365(9464):1099-104.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2012. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 106(SE04):49.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2013. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 156(SE04):62.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2015. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 244(SE04):70.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2016. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 296(SE05):64.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2017. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 346(SE05):56.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2018. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 398(SE06):57.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2019. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 439(SE06):61.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2020. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 481(SE02):61.

Ministerio de Salud de la República Argentina. 2024. Sistema de Información Integrado de salud argentina. Disponible en internet: <https://sisa.ms.gov.ar/sisa/>.

Ministerio de Salud de la República Argentina, Dirección de Epidemiología. 2025. Boletín Integrado de Vigilancia Epidemiológica. 760(SE23):70-98.

Olavarría Aranguren JO, Molina Gutiérrez R. 2012. Propuestas y Avances de Investigación. Embarazos en adolescentes, vulnerabilidades y políticas públicas. *Polis, Revista Latinoamericana*. 11(31):411-433.

Ortiz de D'Arterio JP, Longhi HF, Madariaga HL. 2008. Características de la pobreza en los hogares del norte grande argentino. Su relación con la mortalidad infantil. ALAP Editor, Sánchez EB, Diniz Alves JE. En: Pobreza y vulnerabilidad social enfoques y perspectivas. Primera Edición; (3):57-63. ISBN - 978-85-62016-02-8.

[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2019. Snake Bite Envenoming. A strategy for prevention and control. [Internet] Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515641>. Última revisión 28 de septiembre de 2024.

Waidyanatha S, Silva A, Siribaddana S, Isbister GK. 2019. Long-Term Effects of Snake Envenoming. *Toxins*. 11(4):193.

Evaluación ecotoxicológica del bioproducto IHPLUS® en *Physella acuta*

Ecotoxicological assessment of the bioproduct IHPLUS® in *Physella acuta*

Marrero, Osmany^{1*}; Rojas, Amanda¹; Águila, Edisleidy¹; Castañedo, Zoe¹; Meneses, Alfredo¹; Fonte Leidy²

¹Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central «Martha Abreu» de las Villas, CP 54830, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

²Estación Experimental de Pastos y Forrajes «Indio Hatuey», Universidad de Matanzas, CP 44280, Matanzas, Cuba.

*omarrero@uclv.edu.cu

Recibido: 19 de junio de 2025

Aceptado: 13 de noviembre de 2025

Editora: Natalia Guiñazú

Resumen: Los bioensayos son herramientas clave en ecotoxicología para evaluar el efecto de agentes tóxicos de origen antropogénico en ecosistemas acuáticos y terrestres. El bioproducto IHPLUS® es una mezcla de diferentes microorganismos tanto aerobios como anaerobios, utilizado para mejorar el rendimiento agrícola y como probiótico en la alimentación animal. En el proceso de elaboración, manipulación, envasado y utilización del IHPLUS® se liberan al medio ambiente volúmenes considerables, por lo que resulta indispensable evaluar sus efectos potenciales sobre organismos representativos, como los moluscos. Este estudio tuvo como objetivo determinar la toxicidad del IHPLUS® activado en *Physella acuta* e identificar los factores responsables de dichos efectos. Se realizaron bioensayos en régimen estático (96 horas) con una disolución del bioproducto al 6% (60 000 mg/L) y con una carga microbiana de 10⁶ UFC mL⁻¹. La mortalidad fue la variable principal evaluada. Además, se determinó la concentración letal media (CL₅₀) y se evaluó el efecto del pH sobre la toxicidad. Los resultados mostraron que el IHPLUS® produjo mortalidad total a partir de una concentración de 5,04% (50 400 mg/L) en *Physella acuta*, pero no fue tóxico a 10⁶ UFC mL⁻¹. La CL₅₀ fue de 3,78% (37 800 mg/L), lo que clasifica al bioproducto como no peligroso para organismos acuáticos. Se determinó que el pH ácido resulta el principal factor de toxicidad.

Palabras clave: Bioproducto; IHPLUS®; *Physella acuta*; Toxicidad; Ecotoxicología.

Abstract. Bioassays are widely used tools in ecotoxicology to evaluate the effects of toxic agents of anthropogenic origin on aquatic and terrestrial ecosystems. The bioproduct IHPLUS® is a mixture of different microorganisms, both aerobic and anaerobic, used to improve agricultural yield and as a probiotic in animal feed. During the manufacturing, handling, packaging, and use of IHPLUS®, considerable volumes are released into the environment, making it essential to assess its potential effects on representative organisms such as mollusks. This study aimed to determine the toxicity of activated IHPLUS® on *Physella acuta* and identify the factors responsible for these effects. Bioassays were conducted under static conditions (96 hours) with a 6% (60,000 mg/L) solution of the bioproduct and a microbial load of 10⁶ CFU mL⁻¹. Mortality was the main response variable measured. Additionally, the median lethal concentration (LC₅₀) was determined, and the effect of pH on toxicity was evaluated. Results showed that IHPLUS® caused total mortality at concentrations ≥ 5.04% (50,400 mg/L) in *Physella acuta*, but was non-toxic at 10⁶ CFU mL⁻¹. The LC₅₀ was 3.78% (37,800 mg/L), classifying the bioproduct as non-hazardous to aquatic organisms. The pH was identified as the primary factor responsible for toxicity.

Keywords: Bioproduct; IHPLUS®; *Physella acuta*; Toxicity; Ecotoxicology.

INTRODUCCIÓN

La ecotoxicología es una disciplina científica que estudia los efectos de los contaminantes en los ecosis-

temas, con un enfoque particular en los organismos vivos y sus interacciones con el medio ambiente (Sánchez-Bayo y Goka 2014). En las últimas décadas, el aumento de la actividad industrial y agrícola ha ge-

nerado una mayor liberación de sustancias químicas al medio ambiente, lo que ha llevado a la necesidad de evaluar su impacto en los ecosistemas acuáticos y terrestres (De Castro-Català *et al.* 2016). Los bioensayos, como herramientas experimentales, permiten cuantificar los efectos tóxicos de estas sustancias bajo condiciones controladas, utilizando organismos indicadores que representan la biodiversidad de los ecosistemas (Chapman 1996).

Los moluscos, y en particular los gasterópodos dulceacuícolas como *Physella acuta*, son ampliamente utilizados en estudios ecotoxicológicos debido a su sensibilidad a los cambios ambientales y su papel clave en las redes tróficas de los ecosistemas acuáticos (Iannacone *et al.* 2002). Además, su fácil cultivo en laboratorio y su respuesta rápida a los contaminantes los convierten en modelos ideales para evaluar la toxicidad de sustancias químicas (Nebeker y Schuytema 1998).

El IHPLUS® es un bioproducto cubano basado en microorganismos eficientes (ME), desarrollado para mejorar la productividad agrícola y la salud animal (Tellez y Orberá 2018). Aunque su uso ha demostrado beneficios en la germinación de semillas y el crecimiento de cultivos, su liberación al medio ambiente durante su producción y aplicación podría representar un riesgo para los ecosistemas acuáticos, especialmente si se considera su potencial impacto en organismos no objetivo, como los moluscos (Rodríguez *et al.* 2013). Por ello, este estudio tuvo como objetivo evaluar la toxicidad del IHPLUS® en *Physella acuta* D., determinar su concentración letal media (CL₅₀) e identificar los factores responsables de sus efectos tóxicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustancia de ensayo

El IHPLUS® es un producto obtenido mediante fermentación líquida anaerobia de microorganismos nativos, incluyendo bacterias aerobias y anaerobias, levaduras y hongos no modificados genéticamente. La sustancia de ensayo fue suministrada por la Estación Experimental de Pastos y Forrajes «Indio Hatuey». Para los bioensayos se prepararon diluciones del bioproducto en agua dechlorada, ajustando las concentraciones a 6% (60 000 mg/L), concentración recomendada para uso agrícola y 10⁶ UFC mL⁻¹, carga microbiana estándar. Además, se evaluó el bioproducto atenuado, el cual se preparó mediante autoclave a 121 °C y 103 kPa durante una hora.

Modelo experimental

Se utilizaron moluscos juveniles de *Physella acuta*, con menos de 72 horas de eclosionados, obtenidos

de una cría artificial en el Centro de Bioactivos Químicos. Los organismos se mantuvieron en vasos de polipropileno de 250 mL, con 100 mL de agua dechlorada y alimentación diaria con suspensión de pienso para peces. Condiciones ambientales: 23 ± 2 °C, fotoperiodo 12:12 horas luz:oscuridad.

Ensayo de toxicidad

Los bioensayos se realizaron mediante las directrices de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA 1996a; EPA 1996b). Se conformaron cuatro grupos experimentales:

- Control (sin tratamiento)
- Tratado con IHPLUS® al 6%
- Tratado con 10⁶ UFC mL⁻¹
- Bioproducto inactivado al 6%

Cada grupo constó de 40 moluscos (4 réplicas de 10 individuos). La exposición se realizó en régimen estático durante 96 horas, sin recambios de agua. La mortalidad se registró a las 4, 24, 48, 72 y 96 horas post-exposición. Además, se midieron parámetros físico-químicos del agua (pH, conductividad y oxígeno disuelto) al final del ensayo.

Determinación de la CL₅₀

Se realizó un bioensayo de toxicidad aguda de 96 horas para calcular la concentración letal media (CL₅₀) del IHPLUS®. Para ello, se preparó una serie de seis diluciones consecutivas del producto, con un factor de dilución de 1:1,19, abarcando un rango de concentraciones desde el 6% hasta el 2,5%. Cada concentración fue evaluada mediante su exposición a un grupo independiente de moluscos. La mortalidad se monitoreó periódicamente a lo largo del ensayo, y los datos obtenidos al final de las 96 horas se utilizaron para el cálculo estadístico de la CL₅₀. Con los resultados se confeccionó la curva dosis-respuesta y se calculó la CL₅₀ mediante ajuste no lineal a una curva Sigmoide utilizando el paquete estadístico Statística, v10.

Factores responsables de los efectos tóxicos en la toxicidad del IHPLUS®

Se formaron grupos con la misma cantidad de larvas y réplicas para evaluar los posibles factores o parámetros que pudieran determinar o influenciar en la mortalidad de los organismos de ensayo. Para ello se evaluó una concentración específica de IHPLUS® del 6%, bajo tres condiciones diferentes (Tabla 1).

La mortalidad se comparó entre todos los grupos para determinar la influencia del pH en los efectos tóxicos. La toxicidad del IHPLUS® se clasificó según el Sistema Globalmente Armonizado (SGA) de las

Tabla 1. Ensayos de toxicidad del IHPLUS® activado bajo diferentes condiciones.

Grupo	Concentración	Condición alterada	Influencia en la toxicidad
IHPLUS®		-	Toxicidad real
IHPLUS® inactivado	6%	Inactivación	Ausencia de microorganismos viables
IHPLUS® ajustado		pH ajustado a 7	pH
Control	-	-	-

Tabla 2. Sistema de clasificación de toxicidad acuática (SGA 2015)

Categoría de clasificación	CL ₅₀ (mg/L)	Clasificación
Categoría Aguda 1	≤ 1,00	Extremadamente tóxico
Categoría Aguda 2	1,00 < CL ₅₀ ≤ 10,0	Muy tóxico
Categoría Aguda 3	10,0 < CL ₅₀ ≤ 100	Tóxico

Naciones Unidas (2015), que establece las siguientes categorías para peligros a corto plazo (agudo) en organismos acuáticos (Tabla 2).

Consideraciones éticas

El estudio siguió lineamientos éticos para uso de invertebrados acuáticos (Castillo *et al.* 2004). No se requirió aprobación de comité de ética para organismos no protegidos.

Análisis estadístico

Se calculó el porcentaje de letalidad para cada grupo mediante la ecuación:

$$\text{Letalidad} = \frac{\text{Individuos muertos}}{\text{Total de individuos}} \times 100$$

Para comparar los niveles de mortalidad entre los tres grupos experimentales (IHPLUS, IHPLUS Inactivado e IHPLUS ajustado), se realizó una prueba de chi-cuadrado de homogeneidad. Las comparaciones post-hoc se realizaron mediante pruebas de chi-cuadrado por pares con corrección de Bonferroni. El nivel de significancia se estableció en $\alpha = 0,05$. Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico Statística, v10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indicaron que la toxicidad aguda del IHPLUS® para *Physella acuta* fue dependiente de la dosis cuando se administró el bioproducto completo. La exposición a altas concentraciones del producto ($\geq 5,04\%$) causó mortalidad total a las 24 horas. Por el contrario, la exposición exclusiva a una carga microbiana de 10^6 UFC mL⁻¹ no mostró una toxicidad significativa en comparación con el control después de 96 horas. Estos hallazgos sugieren que los componentes no microbianos del producto (como el medio de cultivo, metabolitos o excipientes), cuya concentración aumenta con la dosis del bioproducto, podrían ser responsables de la toxicidad observada a altas concentraciones. Sin embargo, no puede descartarse completamente la contribución de una carga microbiana sustancialmente mayor, inherente a la dosis alta del 5,04%.

Parámetros físico-químicos del agua

El pH altera gravemente la osmorregulación y el equilibrio iónico en moluscos (Wood *et al.* 2010; De Castro-Català *et al.* 2016). Durante las evaluaciones de los parámetros físico-químicos del agua se obtuvo pH ácido para los grupos de tratado al 6% e Inactivado 6% (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de los parámetros físico-químicos del agua.

Grupo	pH	Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Oxígeno disuelto (mg L^{-1})
Control	7,21 \pm 0,35	214,46 \pm 61,05	4,21 \pm 0,59
Tratado 6%	4,8 \pm 0,24	634,28 \pm 6,66	2,43 \pm 1,18
Tratado 10 ⁶ UFC mL ⁻¹	7,39 \pm 0,2	210,28 \pm 4,32	3,95 \pm 0,34
Inactivado 6%	3,89 \pm 0,5	660,67 \pm 21,93	3,26 \pm 1,56

Determinación de la CL₅₀

El valor de CL₅₀ obtenido para el IHPLUS® fue de 3,78% (37 800 mg L⁻¹). Dado que este valor es muy superior al límite establecido para la Categoría Aguda 3 (≤ 100 mg L⁻¹) según el SGA (2015), el bioproducto no se clasifica como peligroso para organismos acuáticos por toxicidad aguda. Sin embargo, esta clasificación basada únicamente en la CL₅₀ puede subestimar el riesgo ambiental en condiciones específicas. Los datos revelan que la aplicación en cuerpos de agua con pH naturalmente bajo o baja capacidad tampón (alcalinidad) podría exacerbar significativamente su toxicidad. Lo anterior resulta crítico en ecosistemas sensibles como ríos de cabecera o lagos oligotróficos, donde la acidificación puede desencadenar efectos cascada en la biodiversidad (Sánchez-Bayo y Goka, 2014; Mwai-

jengo *et al.* 2020). Estudios recientes enfatizan que la vulnerabilidad a la acidificación es particularmente alta en ecosistemas con suelos pobres en carbonatos o expuestos a deposición ácida.

Ensayos de toxicidad del IHPLUS® activado bajo diferentes condiciones

El análisis de mortalidad reveló diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (Tabla 4). Tanto el grupo IHPLUS como el IHPLUS Inactivado presentaron mortalidad del 100%, sin diferencias significativas entre ellos ($p > 0,05$). En contraste, el grupo IHPLUS ajustado mostró una mortalidad significativamente menor (20%), difiriendo estadísticamente de ambos grupos con mortalidad completa ($p < 0,0001$).

Tabla 4. Comparación de mortalidad entre grupos experimentales del IHPLUS®

Grupo	n	Mortalidad n (%)	χ^2	Valor p	Comparaciones post-hoc
IHPLUS	40	40 (100%)	87,27	<0,0001	a
IHPLUS Inactivado	40	40 (100%)			a
IHPLUS ajustado	40	8 (20%)			b

$\chi^2(2) = 87,27$, $p < 0,0001$. Los grupos que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas según pruebas de chi-cuadrado por pares con corrección de Bonferroni ($\alpha = 0,0167$).

El pH ácido del IHPLUS® fue identificado como el principal factor de toxicidad. La neutralización del pH redujo la mortalidad del 100% al 20%, lo que confirma que la acidez es responsable de los efectos tóxicos observados. Para gasterópodos, como *Physella acuta*, un pH $< 5,8$ compromete críticamente la formación y mantenimiento de la concha al interferir con la absorción de calcio y la deposición de carbonato de calcio (CaCO_3) (Pynnonen 1995; Gazeau *et al.* 2022). Este estrés fisiológico por acidificación se ha correlacionado con un aumento en la expresión de genes relacionados con la reparación de la concha y la respuesta al estrés en otros moluscos de agua dulce, lo que sugiere un alto costo energético para el or-

ganismo (Zheng *et al.* 2023). Esta bioerosión debida a la acidificación es una amenaza creciente para los organismos calcificadores en diversos ambientes acuáticos. La acidificación del agua puede afectar la disponibilidad de oxígeno disuelto, como se observó en este estudio, donde los grupos expuestos al IHPLUS® al 6% mostraron niveles reducidos de oxígeno disuelto (2,43 \pm 1,18 mg/L) en comparación con el grupo control (4,21 \pm 0,59 mg/L). Esto se debe a que la acidificación puede: a) reducir la solubilidad del oxígeno, b) dañar las branquias y estructuras respiratorias, dificultando el intercambio gaseoso, y c) aumentar la demanda bioquímica de oxígeno (De Castro-Català *et al.* 2016; Chen *et al.*

2021). La hipoxia resultante es un factor coadyuvante clave en la mortalidad observada. Es probable que se produzca un efecto sinérgico, donde el estrés por acidificación y la hipoxia deprimen colectivamente el metabolismo y la capacidad homeostática del organismo (Iwama *et al.* 2023). Además, la acidificación altera la especiación química, aumentando la biodisponibilidad y toxicidad de metales como el aluminio (Al^{3+}) y afectando la disponibilidad de nutrientes esenciales.

La sensibilidad de *Physella acuta* resalta la importancia de evaluar bioproductos en múltiples niveles tróficos y grupos taxonómicos, especialmente bioindicadores sensibles como los moluscos (Iannacone *et al.* 2002). Aunque los Microorganismos Eficaces (ME) se reportan como seguros para peces y crustáceos a dosis estándar (Hussain *et al.* 2019), nuestros hallazgos indican un riesgo potencial para gasterópodos en ambientes propensos a la acidificación o ante derrames. Lo anterior subraya que la «inocuidad» de un bioproducto es específica del organismo y del ambiente, coincidiendo con llamados recientes a una evaluación ecotoxicológica más integral de los bioinsumos (Mishra *et al.* 2024). Sin embargo, se necesitan más estudios para evaluar los efectos a largo plazo del IHPLUS® en diferentes especies y condiciones ambientales.

Considerando estos resultados se obtuvo que IHPLUS® activado induce mortalidad total en *Physella acuta* a concentraciones $\geq 5,04\%$ (50 400 mg/L), lo que sugiere un umbral de toxicidad aguda relacionado con el pH ácido. El bioproducto no es clasificado como peligroso para organismos acuáticos según el Sistema Globalmente Armonizado, con una CL_{50} de 3,78% (37 800 mg/L) y el bajo pH es el principal factor responsable de la toxicidad del IHPLUS® en *Physella acuta*, lo cual resalta la importancia de considerar las condiciones ambientales en su aplicación.

AGRADECIMIENTOS

A la Estación Experimental "Indio Hatuey", por proveer el bioproducto. Financiado por el Centro de Bioactivos Químicos (proyecto CBQ: 2022-03).

CONFLICTO DE INTERESES

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

REFERENCIAS

Castillo G, Díaz MC, Pica Y, Ronco A, Feola G, Forget G, Sánchez-Bain A. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. IDRC.

Chapman PM. 1996. Presentation and interpretation of sediment quality triad data. *Ecotoxicology*. 5(6):327-339.

Chen S, Wang J, Li J, Wang T. 2021. Combined effects of ocean acidification and hypoxia on the early development of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Pollution Bulletin*. 173 (Part A): 112-978. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112978>.

De Castro-Català N, Muñoz I, Riera JL, Ford AT. 2016. Evidence of low dose effects of the antidepressant fluoxetine and the fungicide prochloraz on the behavior of the keystone freshwater invertebrate *Gammarus pulex*. *Environmental Pollution*. 213:629-637.

[EPA] Environmental Protection Agency. 1996a. Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.1025. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPPT-2009-0154-0039>.

[EPA] Environmental Protection Agency. 1996b. Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.1045. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPPT-2009-0154-0037>.

Gazeau F, Alliouane S, Bock C, Bramanti L, López Correa M, Gentile M, *et al.* 2022. Impact of ocean acidification on marine organisms: unifying principles and new perspectives. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 278:108126.

Hussain S, Siddique T, Saleem M, Arshad M, Khalid A. 2019. Bioremediation and Phytoremediation of Pesticides: Recent Advances. In *Microbial Biodegradation of Xenobiotic Compounds Chapter 5*, pp. 87-115. Woodhead Publishing.

Iannacone J, Caballero C, Alvarino L. 2002. Empleo del caracol de agua dulce *Physa venustula* Gould como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgos ambientales por plaguicidas. *Agricultura Técnica*. 62(2):212-225.

Iwama AE, Todgham AE, Schulte PM. 2023. Interactive effects of acidification and hypoxia on the physiology of marine and freshwater organisms. *Journal of Experimental Biology*. 226(15):245-332. <https://doi.org/10.1242/jeb.245332>.

Mishra A, Kumar S, Singh J. 2024. Ecotoxicological profiling of microbial-based agricultural products: A need for the One Health approach. *Science of The Total Environment*. 907:167955. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167955>.

Mwaijengo GN, Vogt T, Dullo BW, Msigwa A. 2020. Where does local and international food production agglomerate? Ecological implications of food production assets. *Ecological Indicators*. 118:106-734. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106734>.

Naciones Unidas. 2015. Sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA) (7^a ed. rev.). Nueva York y Ginebra: Publicación de las Naciones Unidas. <https://unece.org/sites/default/files/202101/SGA%20S%C3%A9ptima%20edici%C3%B3n%20revisada%20esp.pdf>.

Nebeker AV, Schuytema GS. 1998. Chronic effects of the herbicide diuron on freshwater cladocerans, amphipods, midges, minnows, worms and snails. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 35(3):441-446.

Pynnonen K. 1995. Effect of pH, hardness and maternal pre-exposure on the toxicity of Cd, Cu and Zn to the glochidial larvae of a freshwater clam *Anodonta cygnea*. *Water Research*. 29(1):247-254.

Rodríguez H de la C, Barreto G, Bertot A, Vázquez R. 2013. Los microorganismos eficientes como promotores del crecimiento en los cerdos hasta el destete. *REDVET*. 14(9):1-7.

Sánchez-Bayo F, Goka K. 2014. Pesticide residues and bees a risk assessment. *PLoS ONE*. 9(4): 94-482.

Tellez T, Orberá T. 2018. Efecto estimulador del crecimiento de dos biopreparados biotecnológicos en cultivos de remolacha (*Beta vulgaris L.*). *Revista Cubana de Química*. 30(3):483-494.

Wood CM, Matsuo AYO, Wilson RW, Gonzalez RJ, Patrick ML, Playle RC, Val AL. 2010. Protection by natural blackwater against disturbances in ion fluxes caused by low pH exposure in freshwater stingray's endemic to the Rio Negro. *Physiological and Biochemical Zoology*. 83(5):724-734.

Zheng L, Li Y, Wang L, Gao X. 2023. Transcriptomic responses of the freshwater snail *Bellamyia aeruginosa* to acid stress: Implications for shell formation and energy metabolism. *Aquatic Toxicology*. 258:106-491. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106491>.

COMUNICACIONES BREVES

Aumento de la expresión de la enzima glutatión sulfur transferasa en *Caenorhabditis elegans* en respuesta a paraquat: estrategia antioxidante con N-acetilcisteína

Increased expression of the enzyme glutathione sulfur transferase in *Caenorhabditis elegans* in response to paraquat: An antioxidant strategy with N-acetylcysteine

Gonzales-Moreno, Candelaria^{1,2}; González-Araujo, Lara²; Ferreyra, Melisa Rut²; Moran, Yanina Soledad^{1,2}; Martínez, Samanta Andrea²; Fernández-Hubeid, Lucía²; Virgolini, Miriam Beatriz*^{1,2}

¹IFEC-CONICET. ²Departamento de Farmacología Otto Orsingher, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

*miriam.virgolini@unc.edu.ar

Recibido: 3 de abril de 2025

Aceptado: 16 de junio de 2025

Editor: Adolfo Rafael de Roodt

Resumen. A pesar de que el paraquat (PQ) es un herbicida ampliamente utilizado en agricultura y permitido en Argentina, su aplicación indiscriminada ha generado preocupación sobre los riesgos para el ser humano y el medio ambiente dentro del enfoque de “Una Sola Salud”. Su toxicidad se debe a la alteración del ciclo redox del glutatión (GSH) y la inducción de disfunción mitocondrial, lo que conduce a muerte celular. En este contexto, las enzimas antioxidantes y las detoxificantes de fase II como glutatión sulfur transferasas (GSTs) y el GSH actúan en concierto para mantener la homeostasis redox. Así, el presente trabajo propone la determinación de la expresión proteica de GST como un biomarcador de efecto a tóxicos como el PQ en el organismo modelo *Caenorhabditis (C.) elegans*. Más aún, se presentan aquí evidencias que aportan a datos ya existentes sobre el uso del antioxidante sintético N-acetilcisteína (NAC) como una estrategia terapéutica para mitigar o prevenir los efectos tóxicos del PQ. Los resultados demuestran que la exposición a PQ 5 mM durante 24 h aumenta la expresión de GST en todo el cuerpo del gusano y que la exposición a NAC 0,5 mM la restituye parcialmente respecto a los animales control. Estos resultados posicionan a *C. elegans* como una nueva aproximación metodológica (NAM) por su relevancia experimental en la valoración de la toxicidad de PQ y otras sustancias, así como su versatilidad para el desarrollo y validación de estrategias terapéuticas basadas en mecanismos de daño tóxico.

Palabras clave: Paraquat; Glutatión; *Caenorhabditis elegans*.

Abstract. Although paraquat (PQ) is a widely used herbicide in agriculture and is permitted in Argentina, its indiscriminate application has raised concerns about the risks to humans and the environment within the One Health approach. Its toxicity is due to the alteration of the glutathione (GSH) redox cycle and the induction of mitochondrial dysfunction, leading to cell death. In this context, antioxidant and phase II detoxifying enzymes such as glutathione sulfur transferases (GSTs) and GSH act in concert to maintain redox homeostasis. Thus, the present work proposes the determination of GST protein expression as a biomarker of effect to toxicants such as PQ in the model organism *Caenorhabditis (C.) elegans*. Furthermore, evidence is presented here that contributes to existing data on the use of the synthetic antioxidant N-acetylcysteine (NAC) as a therapeutic strategy to mitigate or prevent the toxic effects of PQ. The results demonstrate that exposure to 5 mM PQ for 24 h increases GST expression throughout the worm's body, and that exposure to 0.5 mM NAC partially restores it compared to control animals. These results place *C. elegans* as a new methodological approach (NAM) due to its experimental relevance in assessing the toxicity of PQ and other substances, as well as its versatility for the development and validation of therapeutic strategies based on mechanisms of toxic damage.

Keywords: Paraquat; Glutathione; *Caenorhabditis elegans*.

INTRODUCCIÓN

El paraquat (PQ) (dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo) es un herbicida no selectivo de contacto, desarrollado a principios de los años 60 por Syngenta. Su uso en la Argentina data de 1967 y cuenta hasta el presente con el permiso del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Senasa). En humanos la exposición aguda a PQ produce toxicidad pulmonar, mientras que su exposición crónica resulta en daño en los ganglios basales que se manifiesta como parkinsonismo asociado a la muerte de neuronas dopaminérgicas (Bastías-Candia *et al.* 2019). La toxicidad del PQ ha sido asociada a su capacidad de alterar el balance redox celular mediante la depleción de glutatión (GSH), el desarrollo de peroxidación lipídica y disfunción mitocondrial, lo que condiciona a la célula a contrarrestar este ambiente oxidante (Sharma y Mittal 2024). Además del sistema antioxidante enzimático, uno de los mecanismos detoxificantes con los que cuentan los seres vivos para proteger la integridad celular contra especies reactivas y xenobióticos está representado por las enzimas de biotransformación de fase II denominadas glutatión S-transferasas (GSTs) que median la conjugación del GSH con numerosos sustratos electrofílicos (Xiang *et al.* 2023). De este modo, la alteración en la actividad y/o expresión de estas enzimas detoxificantes podría representar un biomarcador de efecto medible y cuantificable para estimar el daño tóxico inducido por PQ. En base a estas consideraciones, el abordaje terapéutico con antioxidantes como N-acetilcisteína (NAC) ha sido propuesto como una alternativa válida para mitigar y/o prevenir las manifestaciones tóxicas inducidas por PQ (Yeh *et al.* 2006; Gawaramana y Buckley 2011; Tardiolo *et al.* 2018). El nematodo *C. elegans* representa una herramienta única entre los modelos animales por su simplicidad, alta homología con genes de animales superiores, disponibilidad de cepas transgénicas y la descripción completa de su genoma y conectoma (Meneely *et al.* 2019). A pesar de tratarse de un invertebrado y de carecer de algunos órganos como corazón, pulmones, hígado, las características mencionadas determinan su relevancia en la valoración experimental de la toxicidad de xenobióticos como PQ y de posibles intervenciones terapéuticas basadas en su mecanismo de daño tóxico (Hunt 2016). Con el fin de determinar cómo este herbicida afecta la expresión de la enzima detoxificante GST-4 en *C. elegans* y evaluar la eficacia antioxidante de NAC, en el presente estudio se empleó la cepa transgénica CL2166 (dvIs19 [(pAF15)gst-4p:GFP:NLS] III) adquirida en el *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC) (<https://cgc.umn.edu/>). La isoforma GST-4 se encuentra en la fibra muscular contráctil del gusano y se expresa en la pared corporal, la hipodermis, las células musculares y

la faringe (WormBase: <https://wormbase.org/search/gene/gst-4p>).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron entre 50-80 gusanos en el estadio larval L4 obtenidos por sincronización de la cepa CL2166, que fueron expuestos en medio líquido a PQ 5 mM o concomitantemente a PQ 5 mM + NAC 0,5 mM por 24 h en agitación a 20 °C. Las concentraciones empleadas se basan en resultados previos de curvas concentración-efecto tanto de PQ como de NAC (Gonzales-Moreno *et al.* 2023). Al finalizar la exposición, los gusanos fueron anestesiados con levamisol 5 mM sobre *pads* de agarosa a fin de estimar la distribución y expresión proteica de GST-4 mediante la observación de la intensidad de fluorescencia en un microscopio marca Leica - DMI 8 y posterior análisis de las imágenes por el programa Image J (NIH, EE.UU.).

RESULTADOS

Del análisis de los datos (ver *Figura 1*) se desprende que el ambiente prooxidante inducido por PQ produciría un aumento de la expresión de la enzima GST-4 probablemente como mecanismo compensatorio ante el estrés químico inducido por el herbicida, reforzando así el rol de esta enzima en el proceso de detoxificación de PQ asociado a la disponibilidad de GSH. Estos resultados son coincidentes con los reportados por Singhal *et al.* (2011) en los que ratones tratados con una dosis de 10 mg/kg de PQ muestran niveles cerebrales de GST incrementados. En este sentido, en otro estudio se evidenció un aumento en la actividad de GST en varios tejidos de rata expuestos a una dosis de 7,5 mg/kg de PQ (Ray *et al.* 2007). Por el contrario, en presencia de NAC se observó una menor intensidad de fluorescencia, lo que indicaría una reducción de la expresión de la enzima probablemente como consecuencia de la acción concomitante de PQ como un agente pro-oxidante y NAC como antioxidante en un intento del organismo de restablecer el balance redox celular resultante de la presencia de PQ. A este respecto, en resultados previos hemos demostrado que NAC 0,5 mM reduce la mortalidad de *C. elegans* luego de ser administrada en concomitancia con PQ 10-100 mM (Gonzales-Moreno *et al.* 2023). Este efecto podría deberse a la capacidad de NAC de actuar como un antioxidante celular en respuesta a estresores ambientales (Oh *et al.* 2015). Así, dado el rol preponderante de las defensas antioxidantes del organismo, los resultados mostrados en este artículo están siendo complementados con la determinación de la actividad y expresión proteica de

enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, así como de los niveles de GSH, a fin de presentar un perfil completo de las

defensas enzimáticas y no enzimáticas para el mantenimiento de la homeostasis celular en el organismo modelo *C. elegans*.

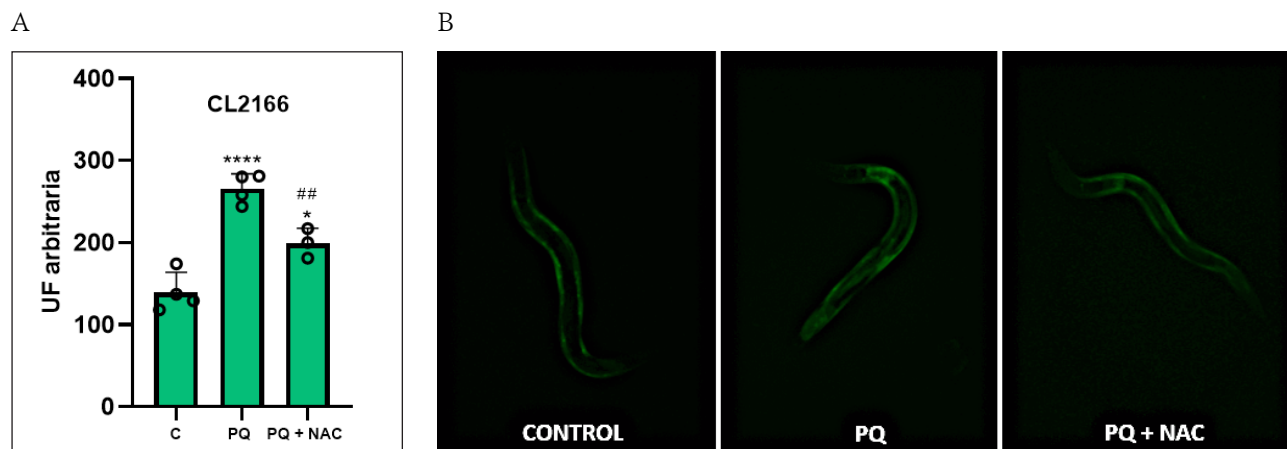


Figura 1. A) Expresión proteica de GST-4 indicada como unidades de fluorescencia arbitrarias en animales control, expuestos a PQ y co-expuestos a PQ + NAC. El ANOVA de una vía demostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en la semicuantificación de la expresión proteica entre los tres grupos estudiados ($n=3-4$ por grupo). *Denota diferencias significativas con respecto al grupo control a $p < 0,001$; #denota diferencias significativas respecto al grupo PQ a $p < 0,05$ (test de Tukey).

B) Imágenes representativas de cada grupo experimental. Escala: 50 μm; magnificación: 60x.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos proveen evidencias del posicionamiento del nematodo *C. elegans* como una herramienta única entre los modelos animales, constituyendo una nueva aproximación metodológica (NAM) alternativa al empleo de roedores en estudios de toxicidad (Hunt 2016). Además, demuestran el rol de GST-4 en el mecanismo molecular del daño tóxico inducido por PQ y aportan evidencias en *C. elegans* de una posible estrategia terapéutica con el antioxidante NAC orientada a mitigar los efectos tóxicos de este herbicida a nivel de esta enzima detoxificante. En vista de las escasas evidencias en *C. elegans* (y en otras especies), experimentos futuros deberían orientarse a determinar la actividad de GST y los niveles de GSH y enzimas antioxidantes del organismo en respuesta al microambiente oxidante inducido por PQ, en particular en el contexto de la teoría que propone un componente ambiental en la etiología de la enfermedad de Parkinson.

CONFLICTO DE INTERESES

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

REFERENCIAS

- Bastías-Candia S, Zolezzi JM, Inestrosa NC. 2019. Revisiting the Paraquat-Induced Sporadic Parkinson's Disease-Like Model. *Mol Neurobiol*. 56(2):1044-1055.
- Gawarammana IB, Buckley NA. 2011. Medical management of paraquat ingestion. *Br J Clin Pharmacol*. 72(5):745-57. doi: 10.1007/s12035-018-1148-z. doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04026.x.
- Gonzales-Moreno C, Fernandez-Hubeid LE, Holgado A, Virgolini MB. 2023. Low-dose N-acetyl cysteine prevents paraquat-induced mortality in *Caenorhabditis elegans*. *MicroPubl Biol Mar* 23. doi: 10.17912/micropub.biology.000815.
- Hunt PR. 2016. The *C. elegans* model in toxicity testing. *J Appl Toxicol*. 37(1):50-59.
- Meneely PM, Dahlberg CL, Rose JK. 2019. Working with worms: *Caenorhabditis elegans* as a model organism. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*. 19: e35. doi: 10.1002/cpet.35.
- Oh SI, Park JK, Park SK. 2015. Lifespan extension and increased resistance to environmental stressors

by N-acetyl-L-cysteine in *Caenorhabditis elegans*. *Clinics (Sao Paulo)*. 70(5):380-6. doi: 10.6061/clinics/2015(05)13.

Ray S, Sengupta A, Ray A. 2007. Effects of paraquat on anti-oxidant system in rats. *Indian J Exp Biol*. 45(5):432-8.

Sharma P, Mittal P. 2024. Paraquat (herbicide) as a cause of Parkinson's Disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 119:105932. doi: 10.1016/j.parkreldis.2023.105932.

Singhal NK, Srivastava G, Patel DK, Jain SK, Singh MP. 2011. Melatonin or silymarin reduces maneb- and paraquat-induced Parkinson's disease phenotype in the mouse. *J Pineal Res*. 50(2):97-109. doi: 10.1111/j.1600-079X.2010.00819.x.

Tardiolo G, Bramanti P, Mazzon E. 2018. Overview on the Effects of N-Acetylcysteine in Neurodegenerative Diseases. *Molecules*. 23(12):3305. doi: 10.3390/molecules23123305.

Xiang X, Wang H, Zhou W, Wang C, Guan P, Xu G, Zhao Q, He L, Yin Y, Li T. 2022. Glutathione Protects against Paraquat-Induced Oxidative Stress by Regulating Intestinal Barrier, Antioxidant Capacity, and CAR Signaling Pathway in Weaned Piglets. *Nutrients*. 30;15(1):198. doi: 10.3390/nu15010198.

Yeh ST, Guo HR, Su YS, Lin HJ, Hou CC, Chen HM, Chang MC, Wang YJ. 2006. Protective effects of N-acetylcysteine treatment post acute paraquat intoxication in rats and in human lung epithelial cells. *Toxicology*. 15;223(3):181-90. doi: 10.1016/j.tox.2006.03.019

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 acceso abierto y posee una Licencia Pública de Creative

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

Derechos de publicación

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

Aspectos generales en la preparación del manuscrito para artículo original

Los manuscritos deberán redactarse con 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 sepa-

radas por punto y coma.

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

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

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

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

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

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

Las fotos para la versión electrónica deberán ser realizadas en el formato JPEG o GIF, con alta resolución. Tanto las figuras como las fotografías deberán ser legibles. El tamaño mínimo será media carta, es decir, 21 x

15 cm, a 300 dpi. En todos los casos se deberá indicar la magnificación utilizada (barra o aumento).

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

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

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

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

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

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

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

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

Bibliografía

Parte 1: citas en texto

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

Este reclamo fue refutado más tarde (Jones 2008).

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

Jones (2008) luego refutó esta afirmación.

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

En 2008, Jones refutó esta afirmación.

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

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

Más de un autor

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

... (Andrews y Gray 1995).

... (Gómez et al. 2003).

Múltiples obras de diferentes autores.

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

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

Múltiples obras del mismo autor publicadas en el mismo año.

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

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

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

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

Citando una fuente secundaria o indirecta

Si desea citar una fuente que se cita en otro documento, siempre es mejor consultar y luego citar la fuente original. Sin embargo, si no puede localizar y verificar el do-

cumento 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 revis-

ta [designador medio]. [fecha actualizada; fecha de cita]; Volumen (Edición): páginas (si están disponibles). Disponible en: URL o DOI

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

Libro electrónico

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

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

Artículo en un diccionario electrónico o enciclopedia.

Cita como lo harías con un artículo en un libro electrónico

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

Sitio web

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

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

Documento en línea

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

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

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Such images should be not necessarily exceptional, but illustrative.

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

toxicology, a brief description of the context should be included in the text.

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

Maximum word guidance: abstract 100 words, text 1000 words. The number of references should not be over 12. No more than three authors may be listed.

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

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

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

Submission of manuscripts

Submission of manuscripts will be made through *Acta Toxicológica Argentina* section in the website of the Argentine Toxicological Association (<https://toxicologia.org.ar/formulario-acta/>).

Free publishing costs

The submission, reviewing, editing and publishing of any kind of scientific or technical material or of any disclosure material accepted by *Acta Toxicológica Argentina* is totally free for authors, not having to pay any cost for its publication or for any of the previous stages.

Copyright

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

Publishing rights

Acta Toxicológica Argentina is a open access journal and has a Creative Commons Public License (CC-BY-NC). Authors retain the license of their article and the publication rights on their work; nevertheless, they guarantee the journal the right to be the first in its publication. Authors retain the license and rights to their work under the guidelines of the license CC BY-NC, Creative Commons Public License <http://creativecommons.org/licenses/bync/2.5/ar/>". They can freely share their work (recognizing its initial publication in this journal) with the sole exception of reproduction of the work published for commercial purposes, according to this kind of CC license.

General guidelines in the preparation of manuscripts for original articles

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

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

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

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

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

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

Statistical analysis. The statistical tests employed should be properly explained and justified to allow

verification by other researchers. If statistical software was used to process data, it should be mentioned.

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

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

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

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

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

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

Unit measures. Length, size, weight and volume measures should be expressed according to the metric system (meter, kilogram, liter or their decimal multiples). Temperatures will be provided in degrees Celsius; blood pressure in millimeters of mercury. 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 International System of Units (SI). However, editors could require that alternate units be provided before publication.

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

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

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
Page numbers
Series

Journal and newspaper articles

Author(s)
Year of publication
Article title
Content or medium designator
Journal or newspaper title
Volume
Issue
Page numbers

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.

Page numbers

If using only part of a published work (ie. a journal article, or a book chapter), indicate the page numbers of the section you are referring to. Page numbers are 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

Article in an electronic dictionary or encyclopedia

Cite as you would an article in an electronic book

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

Website

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

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

Online document

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

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

INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) é o órgão oficial de difusão científica da Associação Toxicológica Argentina. Integra desde o ano de 2007 o Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas, tem acesso a artigos e textos completos através da SciELO Argentina. *Acta Toxicológica Argentina* tem como objetivo a publicação de trabalhos relacionados com diferentes áreas da Toxicologia, em formato de artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, atualizações ou revisões, artigos de divulgação, imagens, resumos da tese, notas técnicas, cartas ao editor e notícias.

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

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

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

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

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

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

As imagens em Toxicologia podem corresponder a imagens relacionadas à toxicologia, dos aspectos artísticos aos biológicos: plantas tóxicas, cogumelos tóxicos, animais venenosos, animais venenosos animais venenosos, 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, bibliografias 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 homólogas 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, Joseph 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>

[nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html](http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html)

Livro eletrônico

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

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

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

Artigo em um dicionário eletrônico ou enciclopédia.

Cite como faria com um artigo de livro Eletrônico

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

Site web

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

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

Documento online

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

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