

Trabajo de Revisión

Toxicología Analítica

Procedimientos analíticos toxicológicos para laboratorios forenses de baja complejidad

Carlos H. Colangelo

Ex Perito Químico Oficial- Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires. Vice Presidente del Consejo Profesional de Química de la Provincia de Buenos Aires.

Profesor Titular de la Cátedra de Toxicología de Fármacos- Facultad Ciencias Exactas, Químicas y Naturales - Universidad de Morón.

Profesor Invitado en la Especialidad en Derecho Penal – Asignatura: La Ciencia y su aporte a la Criminalística. Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales - Universidad Nacional de La Plata.

Correspondencia a: Calle 7 N ° 514 – La Plata (1900)- Buenos Aires – Argentina

e-mail: ccolangelo@unimoron.edu.ar

Resumen

Se describe en este artículo, las consideraciones generales del funcionamiento de un Laboratorio Forense de Baja Complejidad, para quienes no se desempeñan en esa área de la Toxicología, y que puedan entender la problemática, y saber cuáles son las limitaciones de los potenciales análisis a realizar por un laboratorio de esas características. Muchas veces resolviendo un análisis a través del hallazgo de sustancias que con un temprano accionar puede salvar la vida de una persona, y en otros casos esclarecer el motivo de una muerte sospechosa.

Se mencionan algunos tipos de análisis que pueden ser llevados a cabo, señalándola importancia de la formación de recursos humanos que luego podrán migrar hacia otras áreas de la Toxicología, contando quizás con mayores recursos materiales y de estudio, donde podrán tener mejores oportunidades en el análisis e interpretación de los resultados obtenidos por su previa formación en los Laboratorios Forenses de Baja Complejidad.

Palabras claves: *Toxicología, Toxicología Forense, Laboratorios de Baja Complejidad, Análisis Químicos Toxicológicos, Sistemática Analítica Toxicológica.*

Abstract

Toxicological analytical procedures for forensic low complexity laboratories

This article describes the general considerations of the functioning of a Low Complexity Forensic Laboratory, for those who do not work in this area of Toxicology, and who can understand the problem, and know what are the limitations of the potential analyzes to be performed for a laboratory of those characteristics. Many times solving an analysis through the discovery of substances that with an early action can save the life of a person, and in other cases clarify the reason for a suspicious death.

Some types of analysis that can be carried out are mentioned, pointing out the importance of the formation of human resources that will later be able to migrate to other areas of Toxicology, counting perhaps with greater material and study resources, where they will be able to have better opportunities in the analysis and interpretation of the results obtained by their previous training in the Low Complexity Forensic Laboratories.

Key words: *Toxicology, Forensic Toxicology, Low Complexity Laboratories, Toxicological Chemical Analysis, Toxicological Analytical Systematics*

Introducción

La Toxicología es una ciencia multidisciplinaria, acorde a lo mencionado por el Dr. Manuel Repetto¹, frase a la que todos los toxicólogos adherimos.

El trabajo en un laboratorio de Toxicología Forense² (Garrido-Lestache,1983) ha de dar respuesta a los requerimientos judiciales en el análisis de sustancias tóxicas o potencialmente tóxicas en las muestras forenses, como medicamentos, drogas de abuso, metales, plaguicidas, alcohol y otros tóxicos volátiles, etc.

El análisis químico toxicológico puede realizarse con un equipamiento mínimo, y del que muchos profesionales piensan que debe ser de última tecnología. Hoy día un Laboratorio de Toxicología de Baja Complejidad puede trabajar y dar con alto grado de confiabilidad muchos de sus resultados, cubriendo un amplio espectro de sustancias químicas a identificar, entrelazando el éxito y el desarrollo de los procedimientos con el aporte de otras ciencias que se complementan como lo son química orgánica, química inorgánica, química analítica, estadística, entre otras, confirmando una vez más ese carácter multidisciplinario de la Ciencia Toxicológica.

Por lo expuesto no es factible considerar a la Toxicología Forense (Abad,2007:4-24) sin hablar de la Toxicología Analítica³(Álvarez Pérez, 2000:36-40), esta última posee las herramientas que proporciona la Química Analítica en la determinación cuali y cuantitativa de sustancias de interés toxicológico ⁴presentes en diferentes tipos de matrices.

Respecto al trabajo a desarrollar en los laboratorios de Toxicología Forense, la Sociedad de Toxicólogos Forenses y la Academia Americana de Ciencias Forenses (SOFT/AAFS) (Sánchez de la Torre, 2005), publicaron en 1991 unas directrices a seguir en dos áreas fundamentales (con varias actualizaciones):

¹Doctor en Ciencias Químicas y Medicina. Universidad de Sevilla. Ex -Director del Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla (1967-2002).

² Relativo a los Tribunales de Justicia.

³ Que procede por vía de análisis.

⁴Se investigan sustancias que pueden provocar la muerte o bien producir alteraciones de la salud.

la **Toxicología Forense Post-Mortem**, en la que se determina la ausencia o presencia de sustancias potencialmente tóxicas que hayan podido contribuir a la muerte de un individuo, y la denominada "**Human Performance Toxicology**", que determina la ausencia o presencia de alcohol, drogas o sustancias psicoactivas que puedan afectar a la capacidad cognitiva humana (influencia del alcohol y de las drogas en la conducción y en el medio laboral), tendiendo a la Toxicología Preventiva (Repetto,1995:47-55).

La Toxicología Forense en la actualidad se ha abierto a otros campos de trabajo acordes con los problemas legales que se plantean en nuestra sociedad, como la contaminación medioambiental, el análisis de drogas procedentes del mercado ilícito y el estudio del consumo reciente y del consumo crónico de estas sustancias.

Nos preguntamos: ¿Que puede hacer entonces un Laboratorio Forense de Baja Complejidad con los recursos de la Toxicología Analítica y que tipos de profesionales se necesitan?

La presente comunicación tiene el sentido de poner a disposición de los profesionales de diversas formaciones que desarrollan sus actividades en laboratorios de análisis de muestras biológicas, un conjunto de técnicas simples, sencillas y en general económicas, que puedan llevarse a cabo en laboratorios de rutina, para identificar y cuantificar aquellos compuestos que están más frecuentemente relacionados a episodios de intoxicaciones agudas contribuyendo a dilucidar resultados de una manera rápida, ágil y accesible. Estas son comentadas en forma resumida, siendo necesario contar con referencias de neta aplicación práctica (Restrepo, 2013).

Se pretende contribuir a resolver las dificultades en el acceso al análisis toxicológico, con fines diagnósticos, como así también básicamente minimizar los problemas relacionados al déficit de equipamiento.

Vemos en la figura 1, la relación de la Toxicología Analítica Forense con los diferentes ámbitos de aplicación.

Las diferentes muestras que llegan al Laboratorio, pueden brindar información acerca de la presencia de algún xenobiótico⁵concreto o de sus metabolitos en el organismo (en caso de muestras biológicas), en las que se debe considerar los tiempos de vida media de eliminación⁶, la afinidad del tóxico por los distintos tejidos, etc. La sangre, el suero o el plasma, son las muestras de elección en general para las investigaciones toxicológicas, ya que la sangre por su función se encarga de distribuir las sustancias por todo el organismo. Esto no quiere decir que sea la muestra que brinde más información, ya que muchas sustancias desaparecen pronto de ella por acción enzimática. De esta consideración surge entonces el conocimiento y la aplicación de biotransformación de xenobióticos (OPS,2015), la aplicación de técnicas de extracción, y de screening⁷, es decir campos de conocimiento de la fisiología, la química orgánica entre otros.

Las muestras de interés forense (Locani, 2012:127-135) son de naturaleza muy amplia, lo que incidirá directamente en los métodos analíticos de tratamiento y extracción, que se establecerán acordes con cada tipo de muestra, a las que podemos categorizar en:

a- Biológicas, de origen humano (o animal):

- Fluidos: Sangre, suero o plasma, orina, contenido gástrico, humor vítreo, bilis, líquidos pleural, nasal, etc., etc.
- Fragmentos de vísceras: Hígado, riñón, cerebro, bazo, intestino, etc.
- Cabellos, etc.

b- Otras muestras incautadas:

- Sustancias sólidas o líquidas desconocidas, etc.
- Medicamentos.
- Alimentos

⁵ La palabra xenobiótico deriva del griego *xeno* ('extraño') y *bio* ('vida'). Se aplica a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el ser humano en el laboratorio.

⁶ La vida media plasmática o [vida media de eliminación](#) es una constante que indica el tiempo necesario para eliminar el 50% del fármaco del organismo, o bien el tiempo que tarda la concentración plasmática del fármaco en reducirse a la mitad de sus niveles máximos.

– Plantas

– Objetos: utensilios, telas, etc., etc., siendo esta lista muy amplia.

El auxilio de técnicas como la cromatografía en placa delgada brinda una herramienta de gran interés en el Laboratorio Forense pudiendo extenderse a la identificación cuali y semicuantitativa de muchos compuestos de interés toxicológico. Puede sumarse un espectrofotómetro UV- Visible que con el desarrollo y procedimientos de la química analítica permitirá su aplicación a la Toxicología Forense (Gonzalez,2014:30-38) para una cantidad importante de sustancias. También pensemos en la aplicación de técnicas inmunológicas.

En las habilidades requeridas como el pretratamiento de las muestras: homogeneización, desproteización, hidrólisis de conjugados, la extracción y la purificación: extracción líquido-líquido (LLE), en fase sólida (SPE), en el espacio en cabeza (HSE), microextracción en fase sólida (SPME), etc, no deberían en lo posible estar ausentes. Ineludiblemente el Laboratorio deberá contar en su infraestructura, con heladeras y freezers para mantener las muestras biológicas debidamente conservadas y evitar el deterioro de las mismas (Xifro,2013:32-36). Deben también arbitrarse las medidas para el control de la cadena de custodia⁸(Palencia, 2008: 52-56) de las muestras allí remitidas. (Ver Figura 1)

En esta contribución se harán otras consideraciones atinentes a la importancia de la conjunción de diversas ciencias para el logro de los resultados de los procedimientos analíticos toxicológicos en un Laboratorio Forense de Baja Complejidad.

Cada tipo de muestra biológica puede aportar información acerca de la presencia de algún xenobiótico concreto o de sus metabolitos en el organismo, teniendo en cuenta los

⁷Screening toxicológico: análisis toxicológico realizado sobre una muestra para rastrear diferentes tipos de tóxicos aplicando una sistemática toxicológica acorde al tipo de Laboratorio que la efectúe.

⁸ Es el procedimiento de control que se aplica al indicio material relacionado con el delito, desde su localización por parte de una autoridad, hasta que ha sido valorado por los órganos de administrar justicia y deja de ser útil al proceso, y que tiene como fin no viciar el manejo que de él se haga para evitar alteraciones, daños, sustitución, contaminación, destrucción, o cualquier acción que varíe su significado original. La cadena de custodia se expresa materialmente en un formulario de registro de información que se inicia con quien levanta la muestra desde el lugar de los hechos.

tiempos de vida media de eliminación, el volumen de distribución, la afinidad del tóxico por los distintos tejidos, etc.

La sangre y el suero, son las muestras de llegada cotidiana a un Laboratorio Forense.

En casos de intoxicaciones o muertes por envenenamiento, la muestra de contenido gástrico puede ser de gran utilidad, ya que a veces contiene restos de comprimidos o líquidos de pH inusual que orientan la investigación químico toxicológica.

También es de gran utilidad la remisión de recipientes o envases que hayan podido ser usados por el individuo como jeringuillas, cánulas o tubos para inhalar gases, medicamentos, líquidos o polvos que se encuentren en las proximidades, incluso aunque estén contenidos en envases etiquetados con determinada sustancia.

En casos de muertes súbitas de recién nacidos, el contenido intestinal o meconio, posee la ventaja de aportar información de las sustancias que se han absorbido en los últimos meses de gestación.

En muestras procedentes de autopsias, órganos como el hígado, riñón o la bilis pueden ser muy informativos, pues se encuentran altas concentraciones de algunos tóxicos.

El humor vítreo, muestra bien preservada en el interior del globo ocular, es sobre todo útil en casos de muertes de diferente origen y permite estimar la data de muerte (Alcolea, 2009), realizando la determinación de potasio por fotometría de llama.

El tejido cerebral es útil para la detección de sustancias psicoactivas (Mora, 2008:42-47) que actúen sobre el Sistema Nervioso Central.

En casos de investigación del consumo reciente de drogas en individuos vivos, la muestra de orina es muy importante, al excretarse en ella los principios activos y/o sus metabolitos (González Gutierrez,1993).

Para investigación del consumo crónico, la muestra de cabello (Barrera, 2011: 59-66) es la única capaz de aportar esta información, ya que las drogas de abuso se mantienen en el pelo y no sufren metabolismo. Es además una muestra difícil de adulterar, aunque existe riesgo de contaminación externa por lo cual la tarea de la descontaminación externa es fundamental.

Respecto al personal de los laboratorios de Toxicología Forense, las directrices de la SOFT/AAFS definen las labores a realizar por el Director del laboratorio y del resto del personal.

El Director o Jefe del Laboratorio debe ser una persona cualificada con formación académica y experiencia reconocidos para asumir las responsabilidades de carácter organizativo, formativo, de investigación, de control y administrativo. Supervisará la formación del personal y el programa de garantía de calidad (Gotelli, 1993) que respalde los resultados de los informes emitidos por el Laboratorio.

El personal científico - técnico debe ser capaz de realizar una gran variedad de procedimientos analíticos para las drogas de abuso, el alcohol y otras sustancias de interés toxicológico. Las profesiones que pueden intervenir para dar respuesta al análisis químico toxicológico son: Químico, Farmacéutico, Bioquímico, Médico, etc.

RECURSOS INSTRUMENTALES: SISTEMÁTICA ANALÍTICA TOXICOLÓGICA

La envergadura que debe tener un laboratorio de toxicología, fue discutida en la reunión conjunta de la OMS y la Federación Mundial de Asociaciones de Centros Clínico-Toxicológicos y de Centros de Control de Tóxicos, en Ginebra en 1981(Sánchez de la Torre,2005). En ella se establecieron diferentes niveles de laboratorios acorde con su grado de equipamiento, según la siguiente categorización:

- Laboratorios de nivel superior: Correspondiente a un verdadero centro de Toxicología, con instrumentación científica potente, como la espectrometría de masas, y capacitados para realizar sistemáticas analíticas toxicológicas generales y actuar como centros de referencia de los de nivel más bajo.
- Laboratorios de nivel intermedio: Ubicados en cátedras universitarias, centros de medicina del trabajo, etc, y disponen de espectrofotómetros de UV, de espectrofotómetro de absorción atómica y cromatógrafos capaces de realizar análisis cuantitativos con una cierta especialización.

- Laboratorio de nivel primario: Instalados en los centros sanitarios, con equipamiento y personal mínimos, capaces de desarrollar técnicas analíticas cualitativas (inmunoensayo, colorimétricas, cromatográficas, etc, etc.) para las sustancias que con mayor frecuencia produzcan intoxicaciones en la localidad.

Pueden originarse problemas al emplear métodos rápidos de análisis, que no aislen al tóxico de la matriz de la muestra, causando interferencias y reacciones cruzadas en los inmunoensayos.

Una Sistemática Analítica Toxicológica (SAT) (Repetto,1983:255-258) puede definirse como el conjunto de procedimientos analíticos, concisos, bien planeados, encaminados a poner de manifiesto la presencia o ausencia de sustancias de relevancia toxicológica, en una muestra determinada.

La misma comprende varias etapas:

- 1- Pretratamiento de las muestras: homogeneización, desproteínización, hidrólisis de conjugados, etc., con el fin de liberar los xenobióticos y/o metabolitos de las matrices biológicas, y así poder aislar la /s sustancia/s a investigar.
- 2- Extracción/Purificación: extracción líquido-líquido (LLE), en fase sólida (SPE), en el espacio en cabeza (HSE), microextracción en fase sólida (SPME), etc, a los efectos que los extractos obtenidos se purifiquen para evitar interferencias.
- 3- Análisis Instrumental: Es deseable que la sistemática sea compatible con un elevado número de sustancias potencialmente tóxicas, aunque lo usual en un laboratorio de nivel superior es que para abordar el análisis de sustancias de muy diversa naturaleza como medicamentos, drogas de abuso, metales, plaguicidas, alcoholes, etc, se realicen más de una SAT, pues existen muchas sustancias no detectables mediante un único procedimiento.

Los tóxicos más numerosos son compuestos orgánicos que pueden poseer carácter ácido, básico o ambos a la vez, o ser sustancias neutras. Los tóxicos más volátiles (alcohol etílico, metílico, etilenglicol, hidrocarburos derivados del petróleo y monóxido

de carbono) requieren unos procedimientos analíticos especiales y distintos también de la SAT para los tóxicos inorgánicos (metales y aniones).

Los recursos instrumentales en todo laboratorio de Toxicología Forense deben cubrir las siguientes áreas:

- Técnicas de screening
- Técnicas analíticas confirmatorias

Las técnicas analíticas de screening preliminar son análisis rápidos, no específicos, para poner de manifiesto la presencia o ausencia de un grupo de analitos.

Son orientativas, por lo que siempre habrá que confirmar el resultado por una segunda técnica más específica. Se aplican habitualmente a muestras de orina, dado su alto contenido en agua y la baja concentración de sustancias endógenas, por lo que es una muestra de fácil manejo y con menos interferencias.

La mayoría de los xenobióticos se excretan en la orina, tanto en forma tal cual fue incorporada como metabolizada, siendo por tanto útil para la detección de los mismos durante un intervalo de tiempo más amplio que en sangre

Las técnicas que se utilizan fundamentalmente son los inmunoensayos y la cromatografía en capa fina.

Los primeros van tomando más relevancia al estar automatizados y no requerir usualmente tratamiento previo de la muestra

Las técnicas confirmatorias como su nombre lo indica permite identificar un compuesto por procedimientos que no ponen en duda su identidad, por ejemplo, cromatografía gaseosa acoplado a espectrometría de masas para sustancias químicas orgánicas, etc.

MARCHA TOXICOLÓGICA DE URGENCIA (Cattaneo,2007)

Daremos un lineamiento general para descartar o confirmar determinados xenobióticos.

Puede ampliarse la información respecto de los signos y síntomas más importantes de diferentes xenobióticos, a los efectos de orientar la búsqueda, según lo publicado por Ministerio de Salud de la República Argentina (MSN, 2002)

Necesitamos tener la máxima información previa al análisis:

Médica, social, historial laboral, tratamiento, análisis preliminares, etc. Tiempo entre la exposición y la remisión de la muestra.

Muestras tipo: sangre – orina- contenido gástrico.-

El plasma o suero se reserva normalmente para ensayos cuantitativos, pero en casos particulares de algunos xenobióticos, como el monóxido de carbono, alcoholes (etanol y metanol) y cianuro, se utiliza sangre entera para diagnosticar y continuar con la evolución del paciente en una intoxicación aguda. Este material es un medio de gran utilidad para análisis de tipo enzimático.

Las muestras en las que se investigarán sustancias volátiles se deben evitar las cámaras de aire por lo cual se recomienda llenar completamente el recipiente, para evitar su pérdida en la apertura del recipiente que los contiene.

La orina es una muestra fácil de obtener en volúmenes grandes y normalmente contiene los productos finales o intermedios del metabolismo de los tóxicos. En caso de intoxicaciones agudas podemos encontrar, inclusive, al tóxico como tal.

Las elevadas concentraciones de algunas drogas o metabolitos pueden impartir colores característicos a la orina, como por ejemplo:

Marrón o negro -Nitrobenceno, fenoles

Amarillo o Anaranjado -Fluoresceína, fenolftaleína, nitrofurantoína

Rojo vino - Fenotiazinas, fenitoína, fenolftaleína, quinina, warfarina, hematuria, anilinas

Azul o verde - fenol, amitriptilina, hierro, cobre

Otras muestras que el laboratorio puede recibir son: vómito, aspirado gástrico, lavados estomacales y residuos que quedan en la escena. Es importante obtener la primera

muestra de los lavados, ya que las posteriores pueden estar muy diluidas lo que dificulta la investigación del tóxico.

Contenido estomacal y residuos de la escena

Algunos olores característicos en el contenido estomacal están asociados a sustancias particulares como se señaló para la orina y su asociación con los colores. (Ver Figura 2)

En el caso de los residuos de la escena es importante que todas las botellas u otros recipientes y materiales sospechosos encontrados cerca del intoxicado o fallecido sean rescatados y conservados para el análisis, ya que ellos pueden estar relacionados con el episodio de intoxicación.

Siempre existe la posibilidad que el contenido original de los envases se haya desechado y/o reemplazado por material inocuo o con ingredientes más nocivos como ácidos, blanqueadores o plaguicidas, entre otras posibilidades.

Unos pocos miligramos de residuos de la escena serán normalmente suficientes para realizar los análisis, considerando que tendremos el analito concentrado.

Las reacciones de color cubren un número importante de drogas y otros tóxicos. Estas técnicas son rápidas, económicas y sencillas. Se llevan a cabo en placa de toque⁹ o tubos con sangre u orina y son particularmente aptas para el ámbito de una guardia aunque su sensibilidad y especificidad no sea muchas veces las adecuadas como es el caso de los métodos instrumentales. Estas pruebas están descritas en las monografías respectivas, junto con detalles de fuentes comunes de interferencias y límites de detección.

A continuación mencionamos algunos ejemplos:

Reactivo de Dragendorff¹⁰ (Arango Acosta,2002:6)

⁹Es un equipo simple de laboratorio construido normalmente de porcelana, comúnmente blanca, que contiene cavidades donde se realizan reacciones químicas a la gota, tanto en ensayos didácticos como analíticos o de investigación.

¹⁰ El reactivo de Dragendorff: se prepara mezclando 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 ml de ácido nítrico al 30% con una solución de 27.2 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Se deja en reposo por 24 horas, se decanta y se afora a 100 ml.

Reactivo de Aminas aromáticas primarias y secundarias, aminas terciarias y cuaternarias y alcaloides.

Resultado: Origina precipitados de color naranja- rojo con los alcaloides.

Reactivo de Parry-Koppanyi¹¹ (Miranda Gonzalez, 2003:97)

Reactivo parabarbíturicos, los que dan un compuesto rojo-violeta, existiendo una enorme variedad de ensayos de color. (Ver figura 3. Placa de Toque ¹²)

TÓXICOS VOLÁTILES

Mencionaremos unos pocos ejemplos de este tipo de compuestos:

- Alcohol etílico

Ensayos de orientación, con dicromato de potasio en medio ácido

Podemos cuantificar por medio de Cámara de Conway por medio de Colorimetría (dicromato de potasio - reacción inespecífica)

Muestras aplicables a la técnica: sangre - contenido estomacal

- Alcohol metílico

Podemos cuantificar por medio de Cámara de Conway por medio de Colorimetría (ácido cromotrópico- reacción específica)

Muestras: sangre - contenido estomacal

En ambos casos expuestos, se emplea la técnica de microdifusión.

La microdifusión (Eleizalde, 1962:24-28) es un método de aislamiento del o los analitos.

Se basa en la liberación de un compuesto volátil (por ejemplo cianuro de hidrógeno a partir de sales de cianuro) de una muestra mediante un reactivo liberador colocado en el compartimiento exterior de la cámara de Conway (Coloccia, 1969:96-110)

¹¹El reactivo de Parry-Koppanyi está constituido por una solución de nitrato cobaltoso al 1% en metanol. Pesar 0.1 g de nitrato cobaltoso en una balanza analítica y disolver con 10 mL de agua destilada, agitando constantemente. Solución de isopropilamina al 5% en metanol. Pesar 0.5 g de isopropilamina en una balanza analítica y disolver con 10 mL de metanol, agitando constantemente

Este método permite identificar los tóxicos volátiles y ofrece algunas ventajas sobre la destilación. El principal beneficio es que se requiere poca cantidad de muestra y no necesita purificación previa de la muestra ni otros tratamientos especiales (Ver figura 4)

El compuesto volátil que se libera es atrapado por el reactivo fijador (por ejemplo solución del hidróxido de sodio en el caso de cianuro de hidrógeno) colocado en el compartimiento interno.

La cámara tapada se deja un tiempo a temperatura adecuada (1-5 horas a temperatura ambiente o menor tiempo a 37 °C) para que se complete la difusión del analito a investigar desde el compartimiento externo al interno.

La concentración del compuesto se calcula, en la mayoría de los casos por espectrofotometría, mediante comparación de la absorbancia con las curvas de calibración previamente preparadas con estándares de concentración conocida.

La cámara de Conway puede ser de vidrio, de porcelana o de plástico, aunque para el caso de los fluoruros debe usarse policarbonato ya que los fluoruros corroen el vidrio. La tapa y el borde de la cámara se untan con vaselina o vaselina siliconada para asegurar un cierre hermético y se cierra.

- Monóxido de carbono

Ensayos de orientación: Se emplea el ensayo de dilución de Haldane. en este caso se preparan dos soluciones diluidas de sangre, una de sangre normal, y otra sangre con carboxihemoglobina, la primera presenta un color rojo amarillento y la sangre con carboxihemoglobina una coloración carminada neta.

- Ensayo de Certeza: Espectroscopia, en este caso se pretende detectar las dos bandas de absorción que presente la sangre con carboxihemoglobina, desplazada frente a la de la sangre normal.

¹² Tomado de : http://www.auxilab.es/es/catalogo/porcelana-agata_porcelana_otros_Placa-porcelana-12-cavidades.aspx - Recuperado el 9 de junio de 2015)

- Cuantificación por medio de la cámara de Conway por Colorimetría, empleando como reactivo a solución de cloruro de paladio, que reacciona según la siguiente ecuación: $CO + Pd^{+2} + H_2O \rightarrow CO_2 + Pd^0 + 2 H^+$.

Muestra a emplear: sangre.

- Método de Gettler – Freimuth (ver figura 5)
- Cianuros

Ensayo de identificación formación de Azul de Prusia (Ensayo de Magnin)

Benceno

Investigación de ácido hipúrico en orina con dimetilbenzaldehído y espectrofotometría a 460 nm.

- Nitroderivados – Determinación de metahemoglobina

Ensayo de orientación Dilución por medio de la formación de ciano metahemoglobina

Cuantificación por espectrofotometría (Hbmaxabsorción a 522 nm/ MeHbmax absorción a 578 nm)

TÓXICOS METÁLICOS

Describimos sucintamente algunos métodos, que por supuesto no agotan las posibilidades, solo para ilustrar las posibilidades de un Laboratorio de Baja Complejidad:

Ensayo de Reinsch

Método para separar e identificar metales como mercurio, arsénico (Gutzeit), antimonio y bismuto

Muestras: orina- Contenido estomacal – vómitos – bebidas - vísceras

Talio

Cuantificación por medio del ensayo de Kovarin – Moucka, que se basa en el desarrollo de coloración violeta del anión complejo tetraclorotaliato con el colorante violeta de metilo, el cual puede cuantificarse.

, e identificación por el Ensayo Microcristalográfico de Fazio, en el cual puede formarse cristales típicos del tiosulfato de talio.

TÓXICOS ORGÁNICOS FIJOS

Incluyen a aquellos compuestos orgánicos que no pueden ser separados de la matriz biológica que los contiene por destilación.

Pueden aislarse de orina

Acetaminofeno (paracetamol)

Salicilatos

Antidepresivos Tricíclicos

Diquat y Paraquat, entre otros tantos.

Citando la orina por la sencillez de la matriz y acorde a la naturaleza de las posibilidades de un Laboratorio de Baja Complejidad.

Extracción con Solventes

La extracción líquido-líquido de drogas y otros tóxicos lipofílicos a partir de la muestra con un solvente orgánico apropiado, inmiscible con el agua, normalmente a un pH controlado, es ampliamente usada en toxicología analítica.

Los tóxicos orgánicos fijos pueden tener carácter ácido (barbitúrico, hidantoína, primidona, salicilatos), neutro (meprobamato) o básico (benzodiazepinas, anorexígenos, alcaloides, neurolépticos, antidepresivos).

El procedimiento permite la extracción del analito de su matriz original y lo transfiere a una fase orgánica fácil de manejar y evitando las interferencias.

Esto se conoce como proceso de extracción o de aislamiento, donde se trata de concentrar el analito para que esté dentro del rango de sensibilidad con que opera el sistema de identificación y de estabilizar el analito dado que en su matriz original puede degradarse química o enzimáticamente.

Con **muestras líquidas** se pueden realizar dos tipos de extracciones:

- Líquido – líquido (L-L) en ampollas de decantación, en tubos o mediante columnas de extracción rellenas con sustancias inertes, por ejemplo tierras de diatomeas.
- Extracción en fase sólida, utiliza columnas con un adsorbente sólido. Puede ser de fase normal, fase reversa, intercambio iónico, copoliméricas, etc., etc.

Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida es aplicable a todo tipo de muestra ya sea líquida o sólida que se pueda ser disuelta. El fenómeno físico que ocurre es la adsorción del analito sobre la fase estacionaria y posterior elución con un solvente apropiado.

Este sistema de extracción nos permite trabajar con pequeñas cantidades de muestras y solvente, tiene una alta capacidad para remover interferencias y sus extractos podrían ser utilizados sin realizar nuevas purificaciones en métodos confirmatorios como cromatografía gaseosa-espectrofotometría de masa (GC-MS). Otra ventaja que presenta es que no hay formación de emulsiones y el tiempo de extracción es de 30 minutos aproximadamente.

El Soxhlet es una metodología extractiva que permite separar componentes que se hallan presentes en mezclas sólidas.

Metabolitos Urinarios de drogas diversas

Cocaína, marihuana, anfetaminas, benzodiazepinas, etc.

Los ensayos inmunológicos se realizan sin un aislamiento previo de la orina del analito de interés.

Los sistemas desarrollados para detección de drogas, poseen un anticuerpo específico para una sustancia determinada o para un grupo de ellas.

Son ensayos de competencia antígeno-anticuerpo, donde se visualiza la reacción mediante un color, visualizándose la presencia/ausencia de bandas determinadas.

Son útiles para detectar drogas o sus metabolitos en los fluidos biológicos de aquellos individuos que ingresen en estado de coma y las circunstancias hicieran sospechar una intoxicación por tales drogas.

Para ello se dispone de dispositivos de diagnóstico inmunológicos "tipo cassette".

Tales ensayos están disponibles como ensayos aislados: benzodiazepinas genéricas, cocaína o combinados: anfetaminas, metanfetamina, cocaína, morfina y PCP(fenciclidina). Ofrecen alta sensibilidad y relativa especificidad, en caso de emergencia, pero siempre es necesario confirmar los resultados con otra metodología, cuyo principio sea diferente al utilizado, ya que son habituales los falsos positivos.

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

TLC (ThinLayerChromatography) - La cromatografía en placa delgada es un método ampliamente utilizado, relativamente barato y sencillo de realizar y requiere de una infraestructura mínima. Puede ser un poderoso método separativo y permite al mismo tiempo un análisis cualitativo.

En general se aplica a posteriori de alguna forma de pretratamiento de la muestra, como por ejemplo, extracción de los analitos de la muestra con solventes.

La interpretación de resultados puede ser difícil, sobre todo si están presentes varias drogas y/o metabolitos

La TLC es la base del procedimiento para el aislamiento e identificación de múltiples sustancias luego de la extracción de las sustancias y/o metabolitos presentes con solventes adecuados, tanto en orina, como contenido estomacal, residuos en la escena, comprimidos o formulaciones.

Esta metodología es recomendada para la identificación de varios compuestos descritos en las monografías y puede llegar a utilizarse como técnica semicuantitativa.

En la siguiente figura puede verse diferentes fases móviles para emplear acorde a la naturaleza de las sustancias orgánicas a extraer. (ver figura 6)

Podemos observar a continuación, el sistema de TLC donde se ha sembrado un testigo y una muestra, permitiendo destacar una línea de siembra con capilar de los extractos obtenidos con las técnicas de concentración y extracción con solventes, (ver figura 7)

Revelado

Una vez desarrollada la placa, la simple observación a la luz ultravioleta (254 nm y 366 nm) de la cromatoplaque puede revelar la presencia de compuestos fluorescentes, como por ejemplo quinina. Pero para completar la identificación de cualquier sustancia es necesario el uso de varios reveladores aumentando la capacidad de resolución para la mayoría de los compuestos presentes en las muestras. Estos reveladores pueden usarse secuencialmente. Existen numerosos reactivos cromáticos (Pomillo,2006).

DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS CLÍNICAS

Muchas pruebas bioquímicas del laboratorio de análisis clínicos pueden ser útiles en el diagnóstico y pronóstico de la intoxicación aguda (CastanyerPuig, 2012). Los detalles de las técnicas de química clínica pueden encontrarse en los libros de texto de la química clínica utilizados habitualmente.

La actividad plasmática de las enzimas hepáticas puede aumentar rápidamente después de la absorción de dosis tóxicas de sustancias que pueden causar la necrosis hepática como por ejemplo el paracetamol, el tetracloruro de carbono o las sales de cobre. Lleva varias semanas retornar a los valores normales.

Actividad de las Colinesterasas: La toxicidad sistémica de los plaguicidas carbamatos y organofosforados se debe a la inhibición.

Coagulación: El tiempo de protrombina y la medida o la determinación de otros factores de coagulación son anormales en intoxicaciones agudas con rodenticidas warfarínicos y cumarínicos, también luego de la sobredosis con heparina y otros anticoagulantes.

OTROS ENSAYOS

Ensayos presuntivos de determinación de cocaína:

- *De color*
- *De olor*
- *De microcristales*
- *De solubilidad*
- *Aniónicos*
- *Cromatografía en Capa Delgada (TLC) (Expósito de Goikoetxea,2003:49-54)*

ALGUNAS CONSIDERACIONES FINALES

En la actualidad, los laboratorios de toxicología forman parte de organismos privados o públicos: hospitales, universidades, centros de salud regionales, etc.

En ocasiones, se encuentran a grandes distancias del lugar del suceso toxicológico para dar una respuesta a la urgencia por lo que existe la necesidad de establecer laboratorios de baja complejidad que puedan colaborar en la resolución del problema toxicológico, mediante métodos analíticas simples que no necesitan de equipamientos complejos y de alto costo. Tales pruebas podrían realizarse en laboratorios básicos que están habilitados en la mayoría de los hospitales

Es importante considerar los aspectos de la correcta toma de muestra, conservación y el transporte para el análisis químico - toxicológico (Garcia-Rodriguez, 2005)

CONCLUSIONES

Los Laboratorios Forenses de Baja Complejidad pueden dar respuestas a requisitorias de diferente naturaleza.

Es importante que, para conjugar un equilibrio entre rapidez de respuesta en casos clínicos humanos, veterinarios etc., y la rigurosidad analítica, exista una excelente formación profesional para el desafío de los procedimientos analíticos toxicológicos.

Estos recursos humanos pueden luego formar parte de otras instituciones de nivel de actuación superior en Toxicología como a futuro abordar una instrumentación de buena calidad, con las tecnologías más adecuadas, modernas y eficaces.

Las acciones en las primeras respuestas aun en un Laboratorio de Baja Complejidad pueden salvar una vida o bien dilucidar un caso en particular.

El profesional (Álvarez, 2000:36-40) debe tener en cuenta no sólo las acciones de los tóxicos sino la cinética en el organismo, es decir: absorción, distribución, metabolismo y excreción.

El conocimiento de todos estos aspectos es necesario para la discusión del caso con el profesional médico actuante y la factibilidad de la realización del análisis por parte del químico toxicólogo, como su interpretación en el momento de generar un resultado (Nuñez, 1987) (To- Figueras, 2005 : 26-31).

Figura 1- Relación de la Toxicología Analítica Forense y su relación con los diferentes ámbitos de aplicación

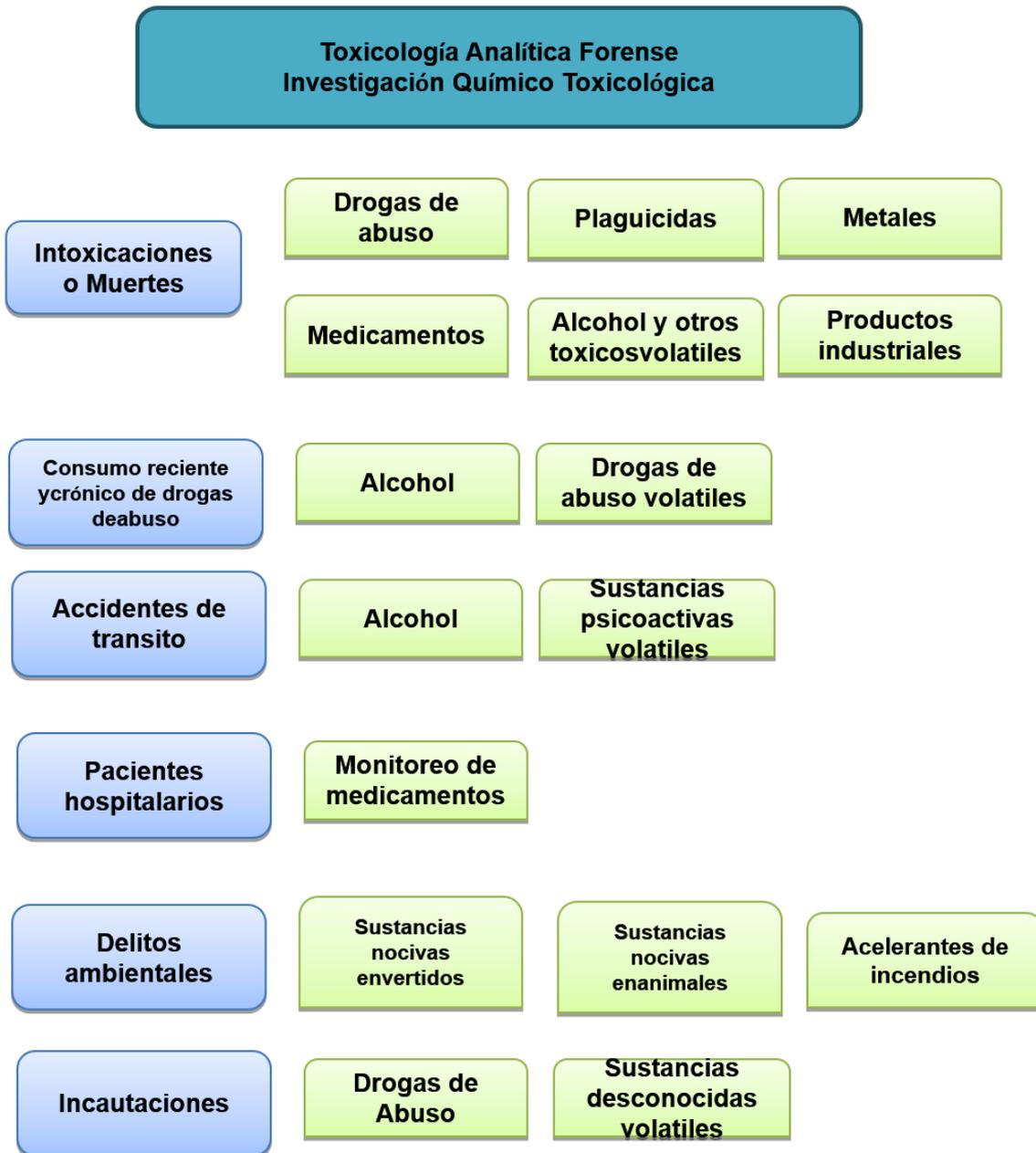


Figura 2. Olores característicos asociados con tóxicos particulares

OLOR	CAUSA POSIBLE
Almendras amargas	Cianuro
Licores de frutas	Etanol, ésteres
Ajo	Arsénico, fósforo
Naftalina	Alcanfor
Peras	Cloral
Petróleo	Destilados de gasolina (ó vehículo en formulaciones de plaquicidas)
Fenoles	Desinfectantes, fenoles
Tabaco rancio	Nicotina
Lustre de zapatos	Nitrobenceno
Dulce	Hidrocarburos halogenados, cloroformo

Figura 3. Placa de toque

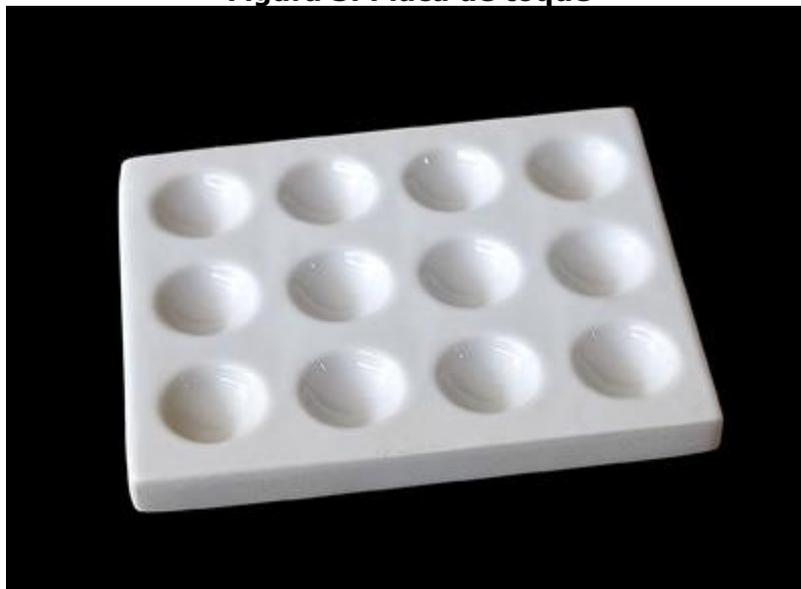


Figura 4. Cámara de Conway

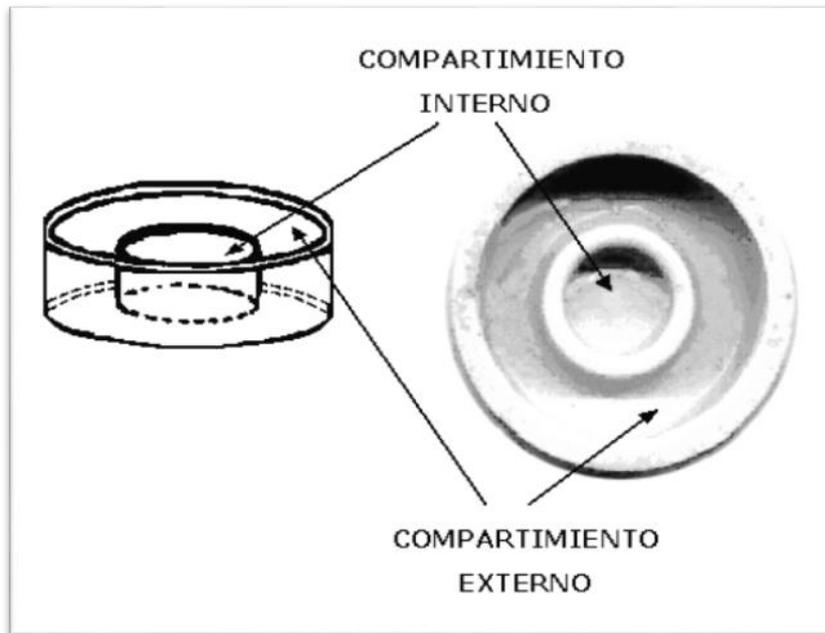
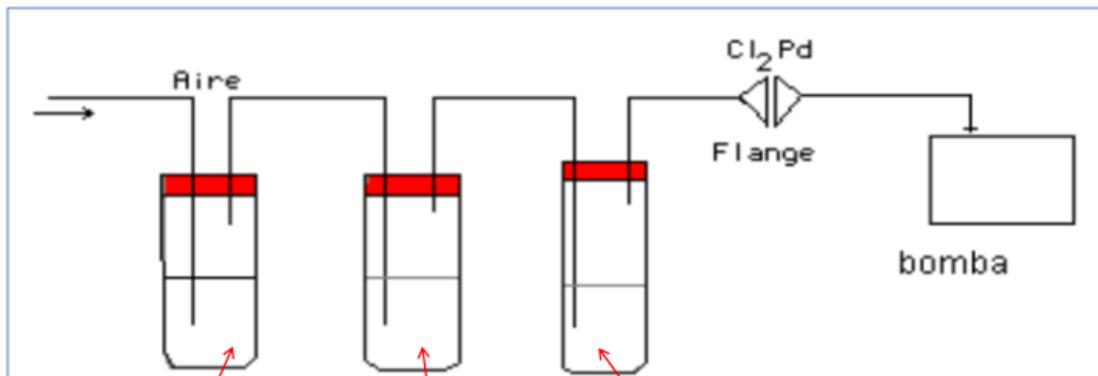


Figura 5



Solución de cloruro cuproso amoniacal para retener el monóxido de carbono del aire

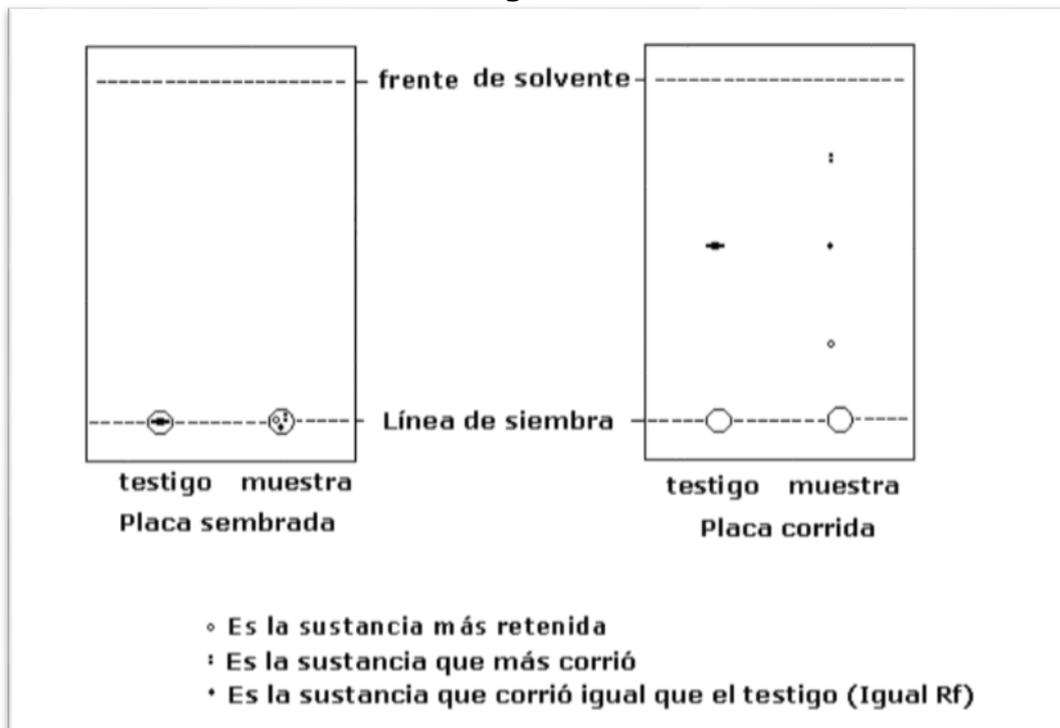
Sangre

Solución de acetato de plomo

Figura 6

SISTEMAS	FASE MÓVIL
CA	Metanol: amoníaco (100:1,5).
CB	Ciclohexano:tolueno:dietilamina (75:15:10)
CC	Cloroformo:metanol (90:10)
CD	Cloroformo:acetona (80:20)
CE	Acetato de etilo:metanol:amoníaco (85:10:5)
CF	Acetato de etilo
CG	Ácido acético glacial:benceno:éter etílico: metanol (18:120:60:1)
CW	Ciclohexano:acetona:cloroformo (70:25:5)
CX	<i>n</i> -hexano:acetona (80:20)
CY	Tolueno:acetona (95:5)
CZ	Cloroformo:acetona (90:10)
CAA	Cloroformo
CAB	Didorometano
CAC	Acetato de etilo:isooctano (85:15)
CAD	Cloroformo:metanol (90:10)
CAE	Metanol

Figura 7



Bibliografía

- 1.** ABAD, Luis Juan Segura. Avances en Medicina forense: Toxicología forense. Revista de la Escuela de Medicina Legal, 2007, no 5, p. 4-24.
- 2.** ALCOLEA, Eglis Esteban García; PARDO, Arlenis Acuña; TEJEDA, Alain Pérez. Principales hallazgos oftalmológicos en el cronotanodiagnóstico del cadáver reciente. Medicentro Electrónica, 2009, vol. 13, no 2.
- 3.** ÁLVAREZ PÉREZ, Emilio; RODRÍGUEZ CASTRO, Elena; HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, Teresa. Sistemática utilizada en el Centro Nacional de toxicología: Urgencia toxicológica. Revista Cubana de Medicina Militar, 2000, vol. 29, no 1, p. 36-40.
- 4.** ARANGO ACOSTA, G.J . Alcaloides y compuestos nitrogenados Facultad de Química Farmacéutica. Medellín, Noviembre de 2002. Recuperado el 9 de Junio de 2015, de sitio Web : <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides2001.pdf>
- 5.** BARRERA, Ana María Bermejo; DUQUE, María Jesús Tabernero. Determinación de drogas de abuso en pelo. Revista Española de Medicina Legal, 2011, vol. 37, no 2, p. 59-66.
- 6.** CASTANYER PUIIG, Bartomeu. Aportación analítica al proceso de atención al paciente intoxicado. Experiencia en la Unidad de Toxicología Clínica del Hospital Universitario Son Dureta. 2012.
- 7.** CATTANEO, Raquel Fernández de. Marcha toxicológica de urgencia para laboratorios de baja complejidad. En Marcha toxicológica de urgencia para laboratorios de baja complejidad.2007
- 8.** COLOCCIA, E.; ARGERI, N. Alcoholemia: Interpretación Legal y su determinación por el método de microdifusión. *Acta Bioquim. Clín. Latinoam*, 1969, vol. 3, p. 96-110.
- 9.** ELEIZALDE, LM de. MicrodifusionConway. 3. Jornadas Agronomicas y 1. Jornadas Veterinarias. Cagua, Aragua (Venezuela). 24-28 Oct 1962., 1962.
- 10.** EXPÓSITO DE GOIKOETXEA, Carmen Luisa. Cromatografía en capa fina y espectrofotometría en luz ultravioleta: validez actual y aplicabilidad para detectar

cocaína o benzoilecgonina en orinas de pacientes farmacodependientes en proceso de rehabilitación. *Rev. Fac. Med. (Caracas)*, 2003, vol. 26, no 1, p. 49-54.

11. GARCÍA-RODRÍGUEZ, S., & GIMÉNEZ, M. P. Recursos humanos e instrumentales en un laboratorio toxicológico forense. *Revista de Toxicología*, 22, 2005
12. GARRIDO-LESTACHE, R. Toxicología forense práctica analítica. El autor. Madrid, 1983.
13. GONZÁLEZ, María Antonia Martínez. Criterios cuantitativos en toxicología forense. *Revista Española de Medicina Legal*, 2014, vol. 40, no 1, p. 30-38.
14. GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ, Rafael; BANDRÉS MOYA, Fernando. Análisis de drogas de abuso en orina. *Universidad Complutense de Madrid*, 1993, vol. 1.
15. GOTELLI, Carlos A., et al. 1993. Manual práctico para el control de calidad interno en el laboratorio toxicológico. ECO.
16. LOCANI, O y LORENZO, J.L. El Laboratorio de Toxicología y Química Legal- Cuadernos de Medicina Forense -Año 3- Nº 2 -p.127-135. 2012.
17. Ministerio de Salud de la Nación (MSN) (República Argentina). Resolución 652/2002- Manual de Intoxicaciones para Agentes de Atención Primaria. Recuperado el 15 de Abril de 2015, de sitio Web :
http://www.msal.gov.ar/pngcam/resoluciones/msres650_2002.pdf
18. MIRANDA GONZÁLEZ, Ángel Esteban. Determinación de las Características Básicas de un Laboratorio de Tamizaje Toxicológico aplicable a los Servicios de Emergencia de Adultos y de Pediatría del Hospital Roosevelt. Guatemala, Mayo de 2013. Recuperado el 9 de Junio de 2015, de sitio Web
:http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3459.pdf
19. MORA, A.; ARROYO, A.; SÁNCHEZ, M. Toxicología Postmortem: estudio analítico de cocaína en cerebro. *Revista de Toxicología*, 2008, vol. 25, no 1-3, p. 42-47.
20. NUÑEZ, Guillermo Tena. La investigación química toxicológica y de medicina legal en Laboratorios Forenses en España. *Discursos*, 1987.
21. Organización Panamericana de la Salud- Biblioteca Virtual de Desarrollo Sostenible y Salud ambiental. Recuperado el 16 de Abril de 2015, de sitio: <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/031563/031563-05.pdf>

- 22.**PALENCIA, Aura; ROMERO, Gabriela; DE DANIELLE, EwwaDubaj. Las muestras en toxicología forense. Importancia de la cadena de custodia. *Salus*, 2008, vol. 12, no 3, p. 52-56.
- 23.**POMILLO, A. B. y VITALE, A.A. - Técnicas para determinación cuali/cuantitativa de drogas de abuso en fluidos biológicos. *Acta bioquím. Clín. Latinoam.* v.40 nº 3 - La Plata jul./sep. 2006
- 24.**REPETTO, M.; GIMÉNEZ, M. P. Sistemática Analítica Toxicológica General. *Quím. Indus*, 1983, vol. 29, no 4, p. 255-258.
- 25.**REPETTO, Manuel. Perspectivas y tendencias de la toxicología hacia el siglo XXI. *RevToxicol*, 1995, vol. 12, p. 47-55.
- 26.**RESTREPO, A.M. ; URIBE ACEVEDO, R.I. - Pruebas Rápidas De Laboratorio En Farmacología Y Toxicología. Departamento de Farmacología y Toxicología Facultad de Medicina, U. de Antioquia, 2013. -Recuperado el 16 de Abril de 2015, de sitio Web : <http://www.udea.edu.co/portal/page/portal/bibliotecaSedesDependencias/unidadesAcademicas/FacultadMedicina/BibliotecaDiseno/Archivos/Departamentos/Pruebas-rapidas-farmacologia-toxicologia-medicina-udea.pdf>
- 27.**SÁNCHEZ DE LA TORRE, C. Laboratorios de referencia en Toxicología Forense. *Revista de Toxicología*, 2005, 22.
- 28.**TO-FIGUERAS, Jordi, et al. Urgencias por consumo de drogas de abuso: confrontación entre los datos clínicos y los analíticos. *Emergencias: Revista de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*, 2005, vol. 17, no 1, p. 26-31.
- 29.**XIFRÓ, Alexandre, et al. Sumisión química: guía de actuación médico-forense. *Revista Española de Medicina Legal*, 2013, vol. 39, no 1, p. 32-36.

Recibido: 30/08/18

Aceptado: 3/09/18

Disponible en Retel / nº54 [Agosto 18 -] URL:

<https://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=984>