



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ESPECIALIDAD LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**TÍTULO:**

“DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA, EN MUESTRAS BIOLÓGICAS (CONTENIDO GÁSTRICO) DE CADÁVERES QUE INGRESAN AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A MARZO DEL 2011”

**Tesina de grado previo a la obtención del Título de Licenciadas en  
Laboratorio Clínico e Histopatológico**

**TUTOR:**

Dr. WILSON MONCAYO

**AUTORAS:**

MARIELA CRISTINA PILCO YAMBAY

ZOILA KATHERINE TORRES ZAMBRANO

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2012**

## **AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN**

Nosotras, Mariela Pilco y Katherine Torres somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el presente trabajo de investigación y el Dr. Wilson Moncayo, Director del proyecto declaramos que los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo

### **AGRADECIMIENTO**

A Dios por su infinita sabiduría, al conocimiento impartido desde las aulas de clases de nuestra escuela de Tecnología Médica, al Dr. Wilson Moncayo, ya que fue quien nos guió para plasmar y desarrollar los conocimientos adquiridos en la Universidad Nacional de Chimborazo

## **DEDICATORIA**

Este proyecto de investigación va dedicado principalmente a Dios por permitirme la vida para lograr mis sueños profesionales, a mis padres que son el principal pilar de la culminación del presente trabajo, a mis hermanos que con sus conocimientos y sabiduría han sabido educarme y a mi sobrino que con su dulzura me motiva cada día.

**MARIELA PILCO**

## **DEDICATORIA**

A Dios todopoderoso, a Darío, Roberto y Estefanía mis hijos, Jaime mi esposo y a mis padres; quienes son el pilar primordial en mi desarrollo profesional, dedico este estudio en el cual está reflejado mi esfuerzo, dedicación y profesionalismo.

**KATHERINE TORRES**

## **RESUMEN**

Este trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo en el período de noviembre del 2010 a febrero del 2011, con el fin de recopilar información a través de diferentes procedimientos para la respectiva determinación de los compuestos cumarínicos en muestras biológicas (contenido gástrico).

Literalmente comenzamos aprendiendo sobre la teoría de la toxicocinética (absorción, distribución, metabolismo o eliminación) de los compuestos ya descritos, que ingresa al organismo de la persona y el daño que provoca cuando éste es ingerido. Posteriormente se procede a la separación purificación del tóxico mediante el método de extracción líquido-líquido con el fin de eliminar interferencias y obtener el compuesto altamente puro, seguidamente se realiza la cromatografía de capa fina que es un método cualitativo que nos ayuda para la confirmación del tóxico que se encuentran en las muestras biológicas (contenido gástrico) que ingresaron al Laboratorio. Evidenciamos las causas y efectos de la intoxicación por compuestos cumarínicos y las respectivas normas que debemos seguir antes, durante y después de la intoxicación de la misma. Es importante garantizar la bioseguridad frente a la manipulación de las muestras, razón por la que se enfatizan protocolos y estándares que garanticen la salubridad del lugar y del personal que más está en contacto, es por la misma razón dar a orientar y proponer protocolos adecuados y medidas de bioseguridad para las mismas, con el fin de evitar intoxicaciones ya que es un gran riesgo para la comunidad.

## SUMMARY

This research was conducted on the premises of Forensic Chemistry Laboratory, Department of Criminology of Chimborazo in the period November 2010 to February 2011 to gather information through different procedures for determining the respective compounds coumarin in biological samples (gastric contents). Literally started learning about the theory of toxicokinetics (absorption, distribution, metabolism or elimination) of the compounds described above, that enters the body of the person and the damage it causes when it is ingested. Then proceed to the separation of toxic purification by the method of liquid-liquid extraction to remove interference and to obtain highly pure compound, then is performed thin layer chromatography which is a qualitative method which helps us to confirm the that are toxic in biological samples (gastric contents) admitted to the Laboratory. We show the causes and effects of coumarin compounds poisoning and the respective rules we follow before, during and after the poisoning of it. It is important to ensure biosecurity against the manipulations of the samples, why are emphasized protocols and standards that ensure healthy place and that more staff is in contact, is for the same reason to give guidance and propose appropriate protocols and biosecurity measures for them, in order to avoid poisoning and it is a great risk to the community.

## ÍNDICE GENERAL

Derecho de Autoría.....	I
Agradecimiento.....	II
Dedicatoria.....	III
Resumen.....	IV
Summary.....	V
Índice.....	VI

## CAPITULO I

Introducción.....	1
<b>1</b> Problematización.....	2
<b>1.1</b> Planteamiento del Problema.....	2
<b>1.2</b> Formulación del Problema.....	3
<b>1.3</b> Objetivos.....	4
•    General.....	4
•    Específicos.....	4
<b>1.4</b> Justificación.....	4

## CAPÍTULO II

2	Marco teórico.....	6
2.1	Posicionamiento persona.....	6
2.2	Fundamentación teórica.....	6
2.2.1	Definición de los rodenticidas anticoagulantes cumarínicos.....	6
A.	Origen de las cumarinas.....	7
B.	Estructura.....	8
C.	Clasificación.....	11
D.	Anticoagulantes de uso clínico.....	11
E.	Toxicidad.....	13
F.	Mecanismo de Acción.....	14
G.	Fisiopatología.....	16
H.	Manifestaciones Clínicas.....	17
I.	Epidemiología.....	20
J.	Patología.....	20
K.	Diagnóstico.....	20
L.	Cuadro Clínico.....	21
M.	Atención prehospitalaria.....	23
N.	Diagnósticos Diferenciales.....	24
O.	Control de laboratorio.....	24
P.	Aspectos prácticos del Tac Oral.....	25
Q.	Efectos Adversos.....	26



R.	Exámenes complementarios laboratorio.....	28
S.	Tratamiento.....	28
T.	Tratamiento médico.....	30
2.2.2	Toxicocinética.....	33
A.	Etapas de la Acción Tóxica.....	33
B.	Absorción.....	35
C.	Distribución y acumulación.....	36
D.	Metabolismo Biotransformación del Tóxico.....	37
E.	Eliminación.....	38
F.	Farmacocinética.....	40
2.2.3	Extracción.....	41
A.	Método cualitativo de extracción líquido-líquido.....	41
B.	Sistema de solventes.....	43
C.	Solventes utilizados en el proceso de la extracción.....	43
D.	Preparación de la muestra (Cumarina).....	44
2.2.4	Reveladores.....	44
▪	Revelador Físico.....	44
▪	Revelador Químico.....	44
2.2.5	Cromatografía de Capa Fina.....	45
A.	Aplicación de las muestras.....	45
B.	Elección del Eluyente.....	46
C.	Desarrollo de la Cromatografía.....	46

2.2.6	Cadena de Custodia.....	48
A.	Comprobación del hecho.....	49
B.	Delimitación de la escena y seguridad.....	49
C.	Notificación a la Policía.....	49
D.	Notificación al Ministerio Público y a los Peritos.....	50
E.	Traslado al lugar de la escena.....	50
F.	Diligencia en la periferie.....	50
G.	Ingreso del operador a la escena.....	51
H.	Búsqueda, identificación, marcación de indicios y evidencias.....	51
I.	Recojo, rotulación y cadena de custodia.....	51
J.	Reglas básicas de la cadena de custodia.....	53
K.	Secuencia de la cadena de custodia.....	54
2.2.7	Normas de bioseguridad en el laboratorio.....	56
A.	Seguridad en el laboratorio.....	56
B.	Precauciones Generales.....	57
C.	Contacto Directo O Salpicaduras Con Sangre.....	58
D.	Derrame O Roturas De Envases.....	58
E.	Compuestos que Liberan Cloro.....	59
F.	Esterilización.....	59
G.	Precaución con personas intoxicadas.....	60
2.2.8	Autopsia.....	61
A.	Concepto.....	61

B.	Objetivos de la Autopsia.....	61
C.	Casos de autopsia obligatoria.....	61
D.	Normas para una autopsia.....	62
E.	Examen interno o autopsia propiamente dicha.....	62
2.2.9	Muestra ideal (Contenido Gástrico).....	63
2.3	Definición de términos básicos.....	64
2.4	Hipótesis y variables.....	68
▪	Hipótesis.....	66
▪	Variables.....	68
➤	Variables Independientes.....	68
➤	Variable Dependiente.....	68
2.5	Operalización de variables.....	68

### **CAPÍTULO III**

3.1	Marco Metodológico.....	70
3.1.1	Método Científico.....	70
3.1.2	Tipo de investigación.....	70
3.1.3	Diseño.....	70
3.2	Tipo de estudio.....	70
3.3	Población.....	70
3.4	Técnica para el procesamiento de datos.....	70
3.5	Técnica para el análisis e interpretación de resultados.....	71

3.6	Procedimiento para el análisis de compuestos cumarínicos.....	72
A.	Preparación de los estándares.....	74
B.	Toma de muestra.....	77
C.	Cadena de custodia.....	78
D.	Recepción de muestras en el Laboratorio.....	80
E.	Extracción.....	81
F.	Preparación de las placas de Sílica Gel.....	83
G.	Preparación de capilares.....	84
H.	Sistema de Solventes.....	85
I.	Reveladores.....	88
	▪ Revelador Físico.....	88
	▪ Revelador Químico.....	89
J.	Cálculos.....	92
	▪ Cálculos para la preparación del Revelado Químico.....	92
	▪ Cálculos para determinar los Factores de Retención (Rf).....	92

## CAPÍTULO IV

4.	Conclusiones y Recomendaciones.....	105
4.1	Conclusiones.....	105
4.2	Recomendaciones.....	106
	Bibliografía.....	107
	Anexos.....	109

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA #1.	Estructura química de la Warfarina e Indadiona.....	8
TABLA #2.	Estructura de los Compuestos Cumarínicos.....	9
TABLA #3.	Serie Química.....	10
TABLA #4.	Clasificación de los Rodenticidas.....	12
TABLA #5.	Clasificación de los Anticoagulantes.....	13
TABLA #6.	Mecanismo De Acción.....	15
TABLA #7.	Vida media de la vitamina K.....	18
TABLA #8.	Características de algunos tipos de anticoagulantes.....	22
TABLA #9.	Drogas que interfieren con el tratamiento.....	27
TABLA #10.	Examen físico, medición del PT /INR.....	30
TABLA #11.	Operalización de Variables.....	69
TABLA #12.	Sistemas de solventes 1.....	85
TABLA #13.	Sistemas de solventes 2.....	85
TABLA #14.	Sistemas de solventes 3.....	85
TABLA #15.	Sistemas de solventes 4.....	85
TABLA #16.	Cálculos para determinar los Rf .....	93
TABLA #17.	Cálculos para determinar los Rf de las muestras.....	94
TABLA #18.	Datos del total de muestras recogidas según su sexo.....	96
TABLA #19.	Estadística del total de muestras.....	98

TABLA #20.	Datos estadísticos del mes de noviembre/2010.....	99
TABLA #21.	Datos estadísticos del mes de diciembre/2010.....	100
TABLA #22.	Datos estadísticos del mes de enero/2011.....	101
TABLA #23.	Datos estadísticos del mes de febrero/2011.....	102
TABLA #24.	Total de muestras que resultaron positivas o negativas.....	103

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA #1.	Materiales para determinar compuestos cumarínicos.....	72
FIGURA #2.	Muestra ideal para la identificación.....	72
FIGURA #3.	Estándares utilizados.....	72
FIGURA #4.	Estándares cumarínicos de diferentes polaridades.....	73
FIGURA #5.	Trituración y peso de los estándares.....	74
FIGURA #6.	Solventes para la preparación de diluciones de estándares.....	75
FIGURA #7.	Preparación de diluciones de estándares.....	76
FIGURA #8.	Extracción de la muestra.....	77
FIGURA #9.	Reconocimiento del lugar de los hechos.....	78
FIGURA #10.	Recepción de las muestras.....	80
FIGURA #11.	Pasos para realizar el Método de Extracción.....	81
FIGURA #12.	Pasos para preparar placas de Sílica Gel.....	83
FIGURA #13.	Pasos para preparar capilares.....	84
FIGURA #14.	Pasos para realizar la cromatografía de capa fina.....	86
FIGURA #15.	Pasos del Revelado Físico.....	88
FIGURA #16.	Preparación del Revelado Químico.....	89
FIGURA #17.	Pasos para el Revelado Químico.....	91

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO #1.	Vías que se distribuyen en la toxicocinética.....	39
GRÁFICO #2.	Posición correcta de la placa.....	47
GRÁFICO #3.	Formulario para la cadena de custodia.....	55
GRÁFICO #4.	Total de muestras.....	98
GRÁFICO #5.	Resultados positivos y negativos (noviembre).....	99
GRÁFICO #6.	Resultados positivos y negativos (diciembre).....	100
GRÁFICO #7.	Resultados positivos y negativos (enero).....	101
GRÁFICO #8.	Resultados positivos y negativos (febrero).....	102
GRÁFICO #9.	Total de muestras positivos y negativos.....	103



## INTRODUCCIÓN

Los compuestos cumarínicos conocidos también como rodenticidas más comunes en nuestro medio corresponden al tipo anticoagulante, dentro de los que se incluyen los compuestos cumarínicos e indandionas. Los primeros cumarínicos utilizados fueron las warfarinas, posteriormente aparecen las llamadas superwarfarinas, más potentes y con mayor toxicidad debido a su efecto anticoagulante más prolongado. Se presentan en forma cristalina sólida o en polvo, y son ligeramente solubles en agua, dada su baja volatilidad, las concentraciones en el aire son insignificantes. Estos rodenticidas son antagonistas de la vitamina K, su lugar principal de acción es el hígado.

En nuestra vida cotidiana estamos expuestos a productos químicos tanto naturales como artificiales, en el caso de los compuestos cumarínicos que constituyen una base para el control y eliminación de roedores, así como también existen casos en que personas que por intoxicación accidental, mal uso o manipulación del mismo, además cabe indicar que existen personas que ya sean por causa de problemas psicológicos, sentimentales, estrés o sufren alguna enfermedad degenerativa, u otros, les conlleva a tomar estas sustancias con la decisión de suicidarse, todo esto debido a la comercialización y costo mínimo de estos compuestos que facilitan a las personas acceder a los mismos.

Es de suma importancia estudiar estos compuestos cumarínicos para dar a conocer las consecuencias y efectos de estos productos independientemente por la causa o vía de ingreso en el ser humano, y así reducir la intoxicación de los mismos dando a conocer a través de charlas, exposiciones, casa abiertas, para la cual evitaríamos tantas causas de muerte ya que es un problema grande de salud pública tanto a nivel rural como urbana, con el fin de que autoridades y profesionales de salud se inmiscuyan más acerca del problema.

# CAPÍTULO I

## 1. PROBLEMATIZACIÓN

### 1.1 . PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los compuestos cumarínicos sirven específicamente para combatir a los roedores. Son sustancias conocidas como anticoagulantes utilizados en depósitos de alimentos para erradicar en su totalidad a los roedores. Estos compuestos están presentes en soportes como en polvos, soluciones, gránulos, etc., pero enmascarando el tóxico. Son sustancias solubles en agua de mediano a elevado peso molecular, y son específicamente persistentes en el medio ambiente. Los anticoagulantes cumarínicos son metabolizados a través del hígado ya que deprimen la síntesis hepática de los factores de coagulación dependientes de vitamina K.

La causa principal de estas intoxicaciones es el mal uso de rodenticidas, en los países desarrollados se ha hecho tan extenso que está íntimamente ligado a la calidad de vida y a la sociedad del bienestar. En la provincia de Chimborazo la utilización de los productos cumarínicos representa un beneficio innegable, sin embargo, la aplicación de estos insumos causan riesgos tóxicos para la salud ya sea en forma accidental o por un manejo inapropiado de los mismos.

Será de gran utilidad conocer los principales aspectos toxicológicos de estos productos y algunas nociones básicas para poder proporcionar los primeros auxilios en forma responsable y decidida. Debido a la alta tasa de incidencia es evidente y preocupante el incremento de esta intoxicación, llegando a producir incluso la muerte.

A nivel Internacional y Nacional, en la actualidad vivimos en un medio que por falta de conocimiento , de charlas de prevención y una buena información, las personas no saben cómo es el manejo de estos compuestos y por ende llegan a intoxicarse accidentalmente, pero también hay personas que por tener problemas personales,

estrés, problemas psicológicos o alguna enfermedad degenerativa del sistema neurológico deciden o toman la mala decisión de suicidarse los cuales ingieren estos compuestos cumarínicos induciendo su muerte.

Este proyecto está basado en dar a conocer la importancia de la utilización de estos compuestos cumarínicos en sectores rurales como urbanos, también el de informar a los diferentes centros de salud, dar una información adecuada a nivel Internacional y Nacional, el daño que pueden causar estas sustancias en el organismo al ser ingeridas por el ser humano.

Dar a conocer a nivel nacional la importancia de estos compuestos, ya que en la provincia de Chimborazo es la primera investigación que se realiza para obtener datos de referencia y así aportar con la sociedad y el bienestar de la misma.

## **1.2 . FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Qué importancia tiene la determinación de compuestos cumarínicos mediante el método de cromatografía en capa fina, en muestras biológicas (contenido gástrico) de cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Chimborazo durante el período de noviembre del 2010 a febrero del 2011?

### **1.3 . OBJETIVOS**

#### **1.3.1 GENERAL**

Determinar la presencia de compuestos cumarínicos mediante el método de cromatografía de capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico), en cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo.

#### **1.3.2 ESPECÍFICOS**

- ✓ Conocer la toxicocinética (absorción, distribución y eliminación) de los compuestos cumarínicos que han ingresado en el organismo de la persona.
- ✓ Purificar el tóxico a estudiar mediante el método de extracción líquido a líquido
- ✓ Identificar cualitativamente el tóxico a estudiar mediante el método de confirmación que es la cromatografía en capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico) en cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo.

### **1.4 . JUSTIFICACIÓN**

El tema de investigación es importante debido a la alta tasa de personas fallecidas en estos últimos años ya que esta va de forma creciente, por otra parte representa un problema de salud importante tanto en los países desarrollados como en nuestra sociedad.

Los compuestos cumarínicos son rodenticidas más comunes en nuestro medio que corresponden al tipo anticoagulante que se utiliza para matar o atenuar la presencia o acción de los roedores, estos impide que se produzcan factores de la coagulación sintetizados a nivel hepático, produciendo hemorragias internas espontáneas.

Estos compuestos cumarínicos se han vuelto un problema para nuestra sociedad ya que vivimos en un medio que por falta de conocimiento, de charlas de prevención, una buena fuente de información, por tener problemas personales, estrés, problemas psicológicos o alguna enfermedad degenerativa del sistema neurológico no saben cómo es el manejo de estos compuestos y por ende llegan a intoxicarse accidentalmente o induciéndose ellos mismos para terminar con sus vidas. Por eso es necesario dar a conocer la importancia de toxicidad que tienen estos compuesto en el organismo ya que preferible es primero prevenir antes que lamentar.

También es significativo realizar este trabajo de investigación porque se pretende que sirva como un instrumento de trabajo para incentivar investigaciones al respecto por parte de los profesionales de la salud.

En Ecuador no se ha realizado muchos estudios acerca de los compuestos cumarínicos en muestras biológicas (contenido gástrico), es por eso que revelar este tema es fundamental para establecer un diagnóstico rápido e iniciar pautas de intervención y educación en el caso del buen manejo de estas cumarinas en los pacientes con este tipo de intoxicación.

En la provincia de Chimborazo es el primer proyecto que se realizará sobre este tema, con el fin de proporcionar información adecuada a los diferentes centros de salud, a estudiantes, profesionales y específicamente un aporte a la Universidad Nacional de Chimborazo

## **CAPÍTULO II**

### **2. MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL**

El siguiente anteproyecto investigativo se basa con la teoría del conocimiento que es el pragmatismo, ya que esta hipótesis vincula con la práctica.

#### **2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

##### **2.2.1. DEFINICIÓN DE LOS RODENTICIDAS, ANTICOAGULANTES CUMARÍNICOS**

Es un pesticida que se utiliza para matar o eliminar, controlar, prevenir, repeler o atenuar la presencia o acción de los roedores. Son sustancias anticoagulantes, es decir, impiden que se produzcan factores de la coagulación sintetizados a nivel hepático, produciendo hemorragias internas espontáneas.

Los rodenticidas anticoagulantes (RA) o warfarínicos, son de escasa toxicidad aguda (DL 50:500-5000 mg/Kg), y actúan perturbando los mecanismos normales de coagulación de la sangre. Los RA se presentan en forma cristalina sólida o en polvo, y son ligeramente solubles en agua. Se utilizan principalmente como formulaciones para cebo.

La mayoría de ellos son estables en condiciones de almacenamiento normales. Dada su baja volatilidad, las concentraciones en el aire son insignificantes.

La warfarina es el anticoagulante oral más utilizado. Es parte integral del tratamiento de varias condiciones, tales como trombosis venosa profunda, fibrilación auricular crónica y miocardiopatía dilatada.

También se cuenta con cumarínicos de acción prolongada utilizados como raticidas. Pueden producir intoxicación en menores de edad, produciendo una profunda y prolongada anticoagulación con elevado riesgo de sangrado.

La diferencia principal entre la warfarina y los demás anticoagulantes (tanto las indandonas como las hidroxícumarinas de segunda generación) es que éstos tienen mayor tiempo de retención en el organismo y por consiguiente un efecto más prolongado que la warfarina. Por ello, en los casos de envenenamiento, el tratamiento con el antídoto (vitamina K1, Konakion®) debe proseguir durante un periodo más largo.

#### **A. ORIGEN DE LAS CUMARINAS**

Todos los rodenticidas anticoagulantes orales son derivados de la 4-hidroxícumarina o de la Indan-1,3-diona. Se clasifican en anticoagulantes de primera o de segunda generación según su eficacia contra roedores resistentes a la warfarina. Por definición, los compuestos activos contra roedores resistentes a la warfarina se denominan rodenticidas anticoagulantes de segunda generación. Debido a que esta clasificación solamente admite dos posibilidades (o los compuestos actúan contra ratas resistentes a la warfarina o no actúan) resulta inapropiado referirse a algunos de estos compuestos como anticoagulantes de “tercera” generación.

De acuerdo con su estructura química, los RA pueden agruparse en dos categorías: las hidroxícumarinas y las indandionas.

La warfarina o cumafén (3- $\alpha$ -fenil- $\beta$ -acetil-4-hidroxícumarina) fué el primer compuesto anticoagulante sintético. Es insípida e inodora y su nombre proviene de las palabras Winsconsin Alumni Research Foundation y el radical -arin, de coumarin (cumarina). La warfarina fue el anticoagulante más empleado durante muchos años, sin embargo, hoy en día la warfarina es poco utilizada como rodenticida. Los anticoagulantes más utilizados actualmente son los derivados halogenados de la 4-

hidroxicumarinas conocidos como bromadiolona, brodifacoum y el más resistente sintetizado el difethialone.

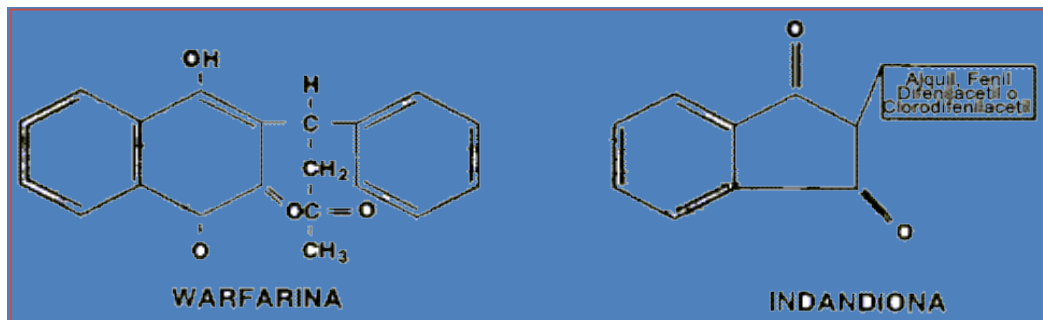
Este último compuesto anticoagulante es una 4-hidroxibenzotiopiranona y presenta una estructura química similar a la del brodifacoum a excepción de que el oxígeno adyacente al grupo carbonilo conjugado del núcleo 4-hidroxicumarínico se haya sustituido por un átomo de azufre.

REPPETO, Manuel, Toxicología Fundamental, ed. IV.

## B. ESTRUCTURA

### TABLA #1

#### ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LA WARFARINA E INDADIONA



Fuente: <http://www.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes.pdf>

La familia de los anticoagulantes sintéticos halogenados presentan una toxicidad mucho mayor a la de la warfarina y fueron desarrollados como respuesta a la aparición de la warfarina por parte de algunas especies de roedores incluyendo la rata noruega (*Rattus norvegicus*) y el ratón casero (*Mus domesticus*). La resistencia a los anticoagulantes es inducible y al parecer es debida a una biotransformación acelerada del tóxico por enzimas del grupo P<sub>450</sub> oxidasas.

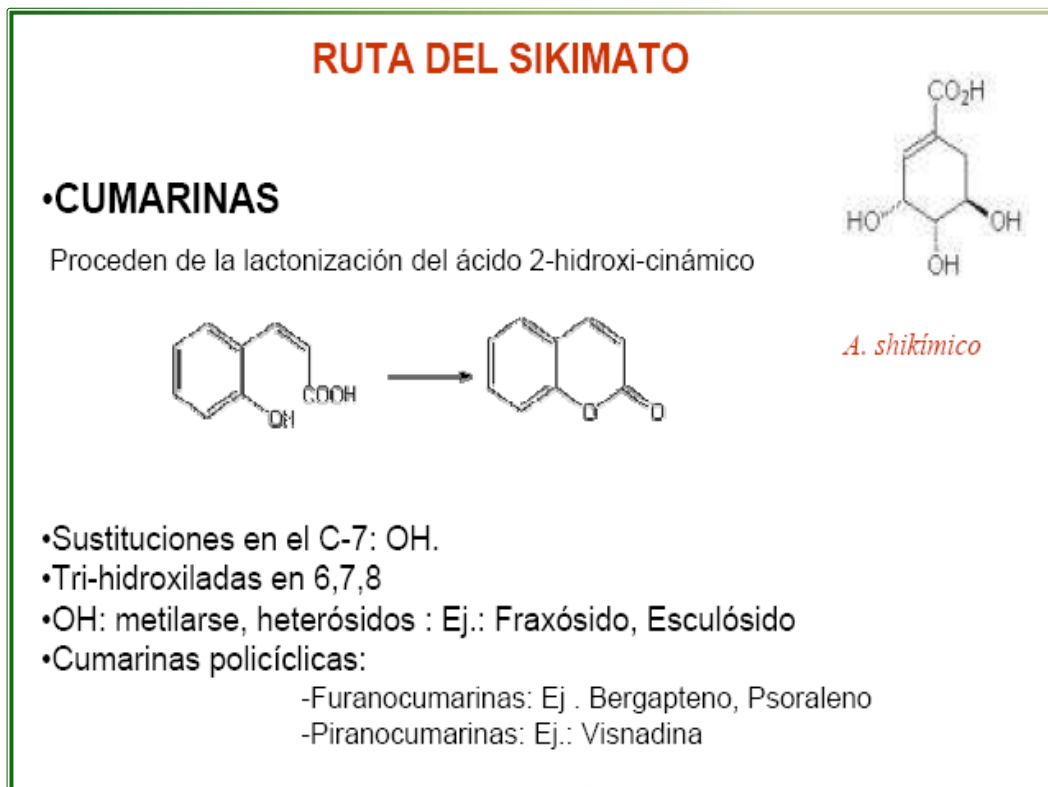


La principal fuente de exposición a anticoagulantes en medicina veterinaria la constituyen los cebos rodenticidas de los cuales se consiguen una gran variedad en el mercado colombiano. Los rodenticidas halogenados se emplean en forma de cebos denominados “de un solo bocado” , ya que no se necesitan exposiciones repetidas al tóxico para causar letalidad, como sí ocurría con los rodenticidas de primera generacion.

VALENCIA, Diccionario de Introducción a la Criminalística. Edición Grijalbo, Bogotá (2002)

## TABLA#2

### ESTRUCTURA DE LOS COMPUESTOS CUMARÍNICOS



Fuente: [http://personal.us.es/arce/temas/farmacognosia/tema\\_11.pdf](http://personal.us.es/arce/temas/farmacognosia/tema_11.pdf)

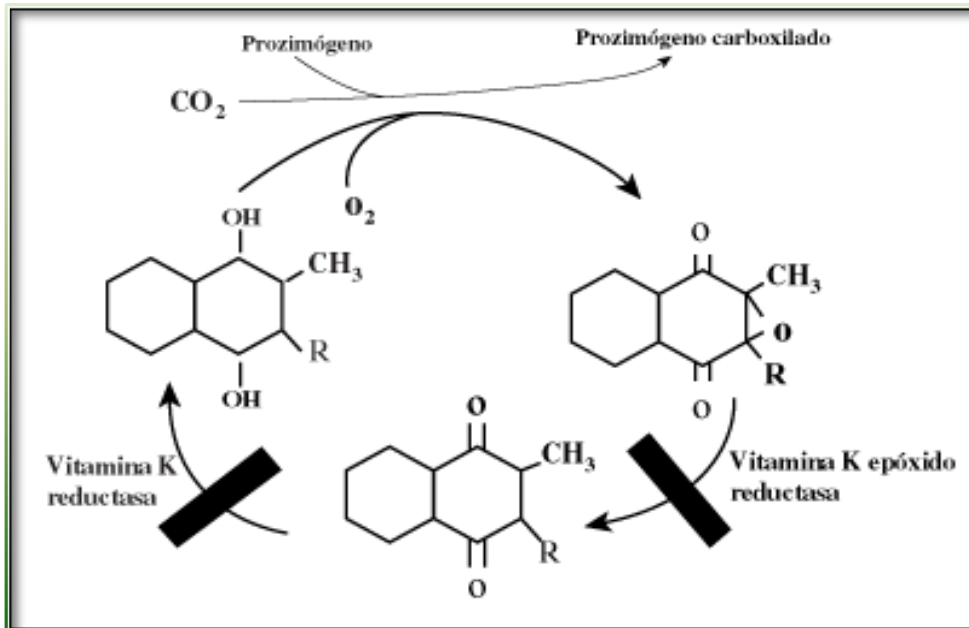
Los cumarínicos son compuestos orgánicos derivados de la 4-hidroxicumarina, núcleo con estructura similar a la vitamina K. Los anticoagulantes orales (ACO) producen su efecto anticoagulante por interferencia con la interconversión cíclica de la vitamina K y su 2,3 epóxido.

La vitamina K es un cofactor para la carboxilación postranslacional de los residuos de ácido glutámico de los factores de la coagulación II, VII, IX, X y las proteínas C y S.

Los factores decarboxilados son biológicamente inactivos en la coagulación.

### TABLA#3

#### SERIE QUÍMICA DE LA VITAMINA K Y VITAMINA K EPÓXIDO REDUCTASAS.



Fuente: <http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/tromboembolismo/heparinas.html>

## C. CLASIFICACIÓN

Se clasifican por su duración de acción: de corta duración (warfarina, etc.) y de larga duración (difenacoum, fenoprocumon, etc.) que producen marcados defectos en la coagulación con una única dosis hasta por 7 semanas. La vida media varía entre 40 horas (warfarina) y 120-160 horas (fenoprocumon), llamadas también de primera y segunda generación.

Por lo que se refiere al tipo de anticoagulante, un 87,4% son derivados cumarínicos (hidroxicumarinas, como brodifacoum, bromadiolona, cumatetralilo, difenacoum, flocoumafen, warfarina, o tiocumarinas, como la difetialona), mientras que el 12,6% son derivados indandiónicos (difacinona y clorofacinona). Las materias activas más ampliamente utilizadas en los formulados son bromadiolona (176 formulados), brodifacoum (86 formulados) y difenacoum (61 formulados) entre los rodenticidas cumarínicos, y clorofacinona (50 formulados) entre los indandiónicos.

Los rodenticidas anticoagulantes son compuestos de baja solubilidad en agua y buena estabilidad a temperaturas normales. Generalmente se emplean agregados a cebos.

**Warfarínicos y Superwarfarínicos:** Son sustancias anticoagulantes, es decir, impiden que se produzcan factores de la coagulación sintetizados a nivel hepático, produciendo hemorragias internas espontáneas. Son Inhibidores de vitamina K.

## D. ANTICOAGULANTES DE USO CLÍNICO

Acenocumarol: Este es el anticoagulante más ampliamente utilizado en Chile. Se absorbe por el tracto gastrointestinal y la máxima concentración plasmática se alcanza a las 7 horas. Su efecto empieza a las 36-48 horas de iniciado el tratamiento y su vida media es relativamente corta (9-12 horas), siendo excretado principalmente por vía renal.

**Warfarina:** Es el anticoagulante de uso regular en Estados Unidos y Europa, aunque está disponible actualmente en nuestro país.

La principal diferencia con el acenocumarol es su vida media prolongada (36-42 horas), por lo que cualquier cambio de dosis se manifiesta recién al tercer o cuarto día. Con ambas drogas el efecto anticoagulante pleno no se alcanza antes de las 36-48 horas de iniciada su administración. El factor VII y la proteína C tiene una vida media de 6-8 horas y los factores II, IX y X se sitúan entre 1 y 3 días. La eficacia antitrombótica se debe fundamentalmente a la depresión de los factores II y X. El alargamiento inicial del tiempo de protrombina obedece a la caída de factor VII. Por estas razones los anticoagulantes orales no protegen contra la trombosis hasta el cuarto o quinto día de tratamiento.

#### TABLA # 4

#### CLASIFICACIÓN DE LOS RODENTICIDA

CUMARÍNICOS	INDANDIÓNICOS	OTROS
BRODIFACOUM BROMADIOLONA CUMATETRALILO DIFETIALONA DIFENACOUM FLOCOUMAFEN WARFARINA INDANDIÓNICOS CLOROFACICONA DIFACINJONA	CLOROFACICONA DIFACINJONA	COLOCALCIFEROL

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Cumarina>

**TABLA#5**

**CLASIFICACIÓN DE LOS ANTICOAGULANTES**

Nombre genérico	Nombre comercial
Brodifacouma	Klerat, Talon
Bromadiolona	Contrac, Lanirat, Ratex, Ramortal
Clorofacinona	Ratomet, Ramucide
Coumatetrail	Racumin
Difacinona	MatexRodenticida, Ramix Pellet, Liquatox, P.C.Q.
Flocoumafen	Storm, Stratagem
Warfarina	Ratoxin, Raticin, Rodex, Warfatodo

Fuente: <http://www.bvsde.paho.org/tutorial2/e/unidad5/index.html>

**E. TOXICIDAD**

La toxicidad de los anticoagulantes cumarínicos varía de acuerdo al tipo de anticoagulante, numero de exposiciones al compuesto, vida media y especie afectada.

Diversos factores pueden afectar la toxicidad de los compuestos anticoagulantes incluyendo los siguientes:

- Enfermedades hepáticas: agravan la intoxicación debido a que el hepatocito es el principal sitio de biotransformación del anticoagulante y principal sitio de síntesis de los factores de coagulación (sintetiza los factores I, II, V, VII, IX, X, XI y XII).
- Uso de drogas que compitan por el anticoagulante por los sitios de unión a proteínas plasmáticas: la warfarina se transporta débilmente unida a proteínas

plasmáticas. Drogas como la fenilbutazona, sulfonamidas y corticosteroides pueden producir el desplazamiento del toxico de la forma ligada a la forma libre, siendo esta ultima la responsable del efecto tóxico.

- pH intestinal: el pH alcalino disminuye la absorción intestinal de warfarina; drogas que acidifiquen el intestino aceleran la absorción de warfarina.
- Defectores de la síntesis del factor II de coagulación (protrombina) ya sean congénitos o adquiridos.
- Presencia de coagulopatías no dependientes de la vitamina K tales como hemofilia verdadera y trombocitopenia, se esta última congénita o adquirida.
- Tratamientos con sulfonamidas tales como la sulfaquinoxalina, las cuales disminuyen la síntesis de vitamina K de origen bacteriano.

#### **F. MECANISMO DE ACCIÓN:**

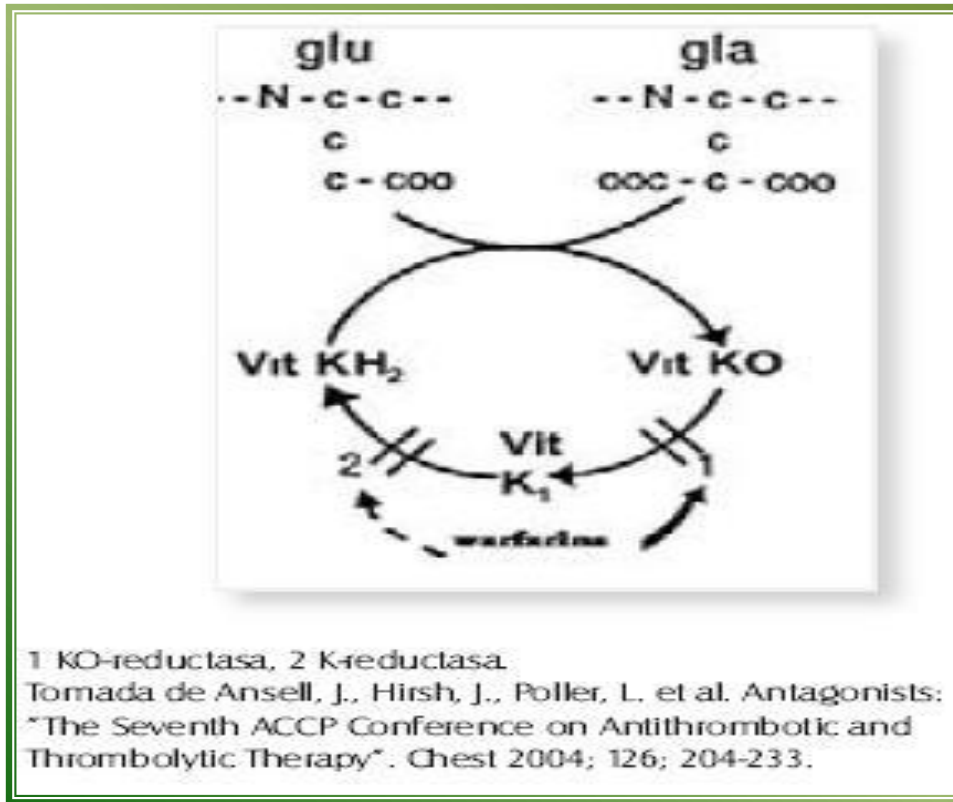
Los factores dependientes de vitamina K (II, VII, IX y X) se sintetizan principalmente en el hígado y durante su proceso de producción requieren de una gama-carboxilación en los residuos glutamato de la región N-terminal a través de una proteín-carboxilasa dependiente de vitamina K, reacción necesaria para su posterior unión a los iones de calcio involucrados en el establecimiento de la cascada de coagulación. De tal manera que no tienen actividad biológica si 9 ó 12 de los residuos no están carboxilados. Esta reacción tiene lugar en el retículo endoplásmico y requiere dióxido de carbono, oxígeno molecular y vitamina K reducida (hidroquinona) que se regenera a partir del 2-3 epóxido de vitamina K (dicho proceso ocurre continuamente en individuos normales en los microsomas hepáticos), lo que resulta en el acople de los dos procesos enzimáticos. El epóxido de vitamina K primero es reducido a quinona; reacción catabolizada por la enzima vitamina K epóxido reductasa; luego pasa a hidroquinona por acción de la vitamina K reductasa y del cofactor NADH, ambas enzimas son inhibidas por anticoagulantes orales. Así el mecanismo de acción de la warfarina reside en su capacidad de interferir con el ciclo de conversión de la vitamina K reducida, lo que a su vez impide la gama-carboxilación de los factores de

coagulación y da como resultado la producción hepática de factores decarboxilados o parcialmente carboxilados con actividad coagulante reducida.

CÓRDOVA Daniel., Toxicología. Barcelona, España: Editorial Manual Moderno, 4ta. ed. pags. 379-386. (2000)

**TABLA#6**

**MECANISMO DE ACCIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS**



Fuente:<http://www.encolombia.com/medicina/Urgenciastoxicologicas/Anticoagulantes.htm>

Los derivados cumarínicos inhiben específicamente la NADH-epóxido reductasa de la vitamina K y agotan las reservas de la vitamina K activa. En presencia de concentraciones inhibitorias de anticoagulantes, el hígado continúa produciendo los factores II, VII, IX y X pero en formas que son fisiológicamente inactivas (reconocibles mediante estudios inmuquímicos). Al mantener la inhibición sobre la enzima epóxido reductasa. La actividad biológica de los factores va disminuyendo paulatinamente de acuerdo a sus vidas medias los cuales se muestran en la tabla 3. Este periodo de “latencia” que se presentan mientras se agotan las reservas de factores dependientes de la vitamina K del organismo el que hace que la intoxicación raras veces ocurra en forma aguda.

## **G. FISIOPATOLOGÍA**

Los anticoagulantes cumarínicos deprimen la síntesis hepática de los factores de coagulación dependientes de vitamina K (factor II - protrombina - , VII, IX y X).

La vitamina K es coadyuvante en la elaboración de los factores II, VII, IX, X y del anticoagulante proteína C.

El tiempo de acción de la warfarina para inhibir a cada uno de los factores es el siguiente:

- Factor II: 60 horas.
- Factor VII: 4-6 horas.
- Factor IX: 24 horas.
- Factor X: 48-72 horas.

**Proteína C:** Al iniciar tratamiento con warfarina, se puede presentar un estado hipercoagulable por inhibición de la Proteína C, la cual tiene propiedades anticoagulantes.



Para lograr efectividad, la terapia puede demorarse hasta tres o cuatro días, de acuerdo al tiempo de degradación de los factores dependientes de vitamina K. Estos compuestos también alteran la membrana capilar aumentando su permeabilidad.

Los anticoagulantes rodenticidas (RA) son antagonistas de la vitamina K. Su lugar principal de acción es el hígado, donde varios de los precursores de la coagulación de la sangre sufren un procesamiento post-traslación dependiente de la vitamina K antes de convertirse en los zimógenos procoagulantes respectivos. Parece que el mecanismo de acción es la inhibición de la reductasa epoxídica K1.

## **H. MANIFESTACIONES CLÍNICAS:**

Varios días post-ingestión aparecen gingivorragias, epistaxis, petequias, equímosis, hematomas, hemartrosis, hematemesis, hematoquecia, melena, hematuria y hemorragia cerebral.

Las vías de entrada de estas sustancias en el cuerpo humano puede ser cualquiera, pero a nivel rural el orden de importancias:

- 1) La cutánea
- 2) La inhalatoria
- 3) La oral.

VALENCIA ICAZA, Diccionario de Introducción a la Criminalística. Ed. Grijalbo, Bogotá (2002)

## TABLA #7

### LA VIDA MEDIA DE LA VITAMINA K

VIDA MEDIA EN EL PLASMA DE LOS FACTORES DE COAGULACIÓN DEPENDIENTES DE LA VITAMINA K	
FACTOR	VIDA MEDIA
VII (proconvertina)	6.2
IX ( factor de Christmas)	13.9
X ( factor de Stuart)	16.5
II (protrombina)	41.0

Fuente:<http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes.pdf>

Tanto el sistema intrínseco como el sistema extrínseco de la coagulación sanguínea requieren de factores de la coagulación dependientes de la vitamina K, por lo tanto ambos sistemas se verán afectados en presencia de concentraciones tóxicas de anticoagulantes. El sistema intrínseco se activa al contacto del factor XII con cualquier superficie diferente al endotelio vascular y requiere entre otras proteínas de los factores IX, X y II. El factor extrínseco se activa cuando se presenta lesiones tisulares que causen la liberación de tromboplastina tisular (factor III), la cual reacciona con el factor VII para activar la cascada de coagulación. Debido a que el factor VII tiene la menor vida media entre los factores dependientes de la vitamina K, los primeros efectos tóxicos se manifiestan sobre el sistema extrínseco de la coagulación, el cual es fácilmente evaluado en patología clínica mediante la medición del tiempo de protrombina.

A medida que el anticoagulante es biotransformado y eliminado del organismo, la inhibición de la enzima epóxido reductasa disminuye gradualmente permitiendo de nuevo al animal la producción normal de factores biológicamente activos. Si el

hígado es proveído de niveles adecuados de vitamina K<sub>1</sub> durante el antagonismo a la enzima, la síntesis de factores biológicamente activos continúa normalmente y no se presentarán síntomas de intoxicación, lo cual ocurre generalmente en los rumiantes.

Además de la característica acción anticoagulante de estos compuestos, dosis únicas altas causan una rápida vasodilatación con la consiguiente caída de la presión arterial, pudiendo llegar a causar mortalidad debida a un colapso vascular.

Como efecto adicional adverso sobre la coagulación, los anticoagulantes disminuyen la adhesividad plaquetaria.

Los primeros síntomas de intoxicación (hemorragias) se manifiestan 2 a 5 días después de la exposición a niveles tóxicos del anticoagulante, cuando se produce la depleción de los factores de coagulación dependientes de la vitamina K. los síntomas están asociados a la disfunción orgánica ocasionada por las hemorragias o el shock hipovolémico y se reconoce dos formas clínicas de la enfermedad:

**Aguda:** los animales se hallan muertos sin que presenten síntomas clínicos de enfermedad. Esta forma es rara y ocurre después de exposiciones agudas masivas que ocasionen hemorragias en sitios vitales tales como cerebro, saco pericárdico, mediastino o tórax.

**Subaguda:** es la forma más frecuente de la intoxicación. Cursa con anemia debilidad, palidez de mucosas, disnea, hematemesis, epistaxis y melena. Pueden presentarse hemorragias en esclerótica, conjuntiva o intraoculares. La pérdida abundante de sangre ocasiona debilidad, marcha tambaleante y ataxia.

Hemorragias pulmonares pueden ocasionar disnea con estertores húmedos y esputos teñidos de sangre, así como presencia de una mucosidad sanguinolenta alrededor de la nariz y de la boca.

El ritmo cardiaco es irregular y los latidos débiles. Pueden presentarse hematomas extensos en área de roce, particularmente en articulaciones de los miembros. La

hemartrosis se manifiesta con articulaciones hinchadas y dolorosas y con ataxia. Si la hemorragia afecta al encéfalo, medula espinal o espacio subdural se presentan manifestaciones nerviosas centrales tales como paresia, ataxia, convulsiones o muerte repentina.

## **I. EPIDEMIOLOGÍA**

La intoxicación accidental es más frecuente en niños que tienen acceso a raticidas con cumarínicos. En adultos la sobredosis terapéutica es la más común, sobre todo en ancianos anticoagulados que, además reciben varios medicamentos para enfermedades crónicas.

## **J. PATOLOGÍA**

A la necropsia se observan como hemorragias generalizadas especialmente en cavidad torácica (hemorragias pulmonares, mediastínicas y/o pericárdicas), mesenterios y tracto gastrointestinal. En roedores y humanos es común observar hemorragias en el encéfalo, particularmente en espacio subdural y canal espinal.

El corazón se observa redondeado y flácido, con hemorragias subepicárdicas y subendocárdicas. Pueden presentarse hemorragias intramusculares (debidas a la alteración de la adhesividad plaquetaria) y necrosis centro lobulillar hepática debida a la anemia e hipoxia.

## **K. DIAGNÓSTICO**

Se realiza con base en la historia clínica (aplicación reciente de sebos rodenticidas anticoagulantes; consumo de trébol dulce en descomposición en bovinos), tiempo de intoxicación (2-5 días dependiendo del rodenticidas) y la sintomatología clínica (hemorragias generalizadas).

Las pruebas de laboratorio clínico para evaluar la coagulación sanguínea son de ayuda diagnóstica. El mecanismo extrínseco de la coagulación, el cual depende inicialmente de los factores III y VII es el primero en verse afectado y esto se va a reflejar en un tiempo de protrombina (TP) elevado.

Posteriormente cuando los otros tres factores dependientes de la vitamina K (II, IX y X) se han agotado, el mecanismo intrínseco de la coagulación también se verá afectado, lo cual se reflejará en un aumento tanto en el tiempo de coagulación (TC) como en el tiempo parcial de tromboplastina (TTP).

Las muestras de sangre para el análisis del TP y TTP deberán tomarse empleando citrato de sodio como anticoagulante y deberán remitirse al laboratorio lo más rápidamente posible.

## **L. CUADRO CLÍNICO**

Hematológicos: hemorragia es el más común de los síntomas manifestados con los anticoagulantes cumarínicos deprimen la síntesis hepática de los factores de coagulación dependientes de vitamina K (factor II - protrombina - , VII, IX y X). Estos compuestos también alteran la membrana capilar aumentando su permeabilidad.

Prolongación del tiempo de protrombina se hace evidente a las 24 horas siendo su máxima expresión a las 36 a 72 horas.

Con las warfarínicos el comienzo del efecto tóxico se produce a las 12 - 48 hs y dura 3 a 4 días, mientras que con las superwarfarinas el efecto anticoagulante puede prolongarse durante semanas o meses.

Los casos de intoxicación se producen fundamentalmente por ingestión (accidental o intencional), a través de la vía inhalatoria por exposición laboral (poco frecuente) y por la vía dermal, excepcional.

Los síntomas aparecen días o semanas después del contacto y se manifiestan por hemorragias: epistaxis, gingivorragias, hematemesis, melena, enterorragia, hematuria,

metrorragia, equimosis, hematomas, hemorragias cerebrales, pericárdica, retroperitoneal, etc.

Otros efectos: necrosis de la piel o intestino delgado, diarrea, urticaria y dermatitis, leucopenia, alopecia, aumento de transaminasas, etc. La muerte se produce por hemorragia masiva y shock o por sangrado a nivel del Sistema Nervioso. En algunas ocasiones han ocurrido equimosis y necrosis de la piel sin relación con dosis excesivas.

Algunos compuestos análogos a los rodenticidas cumarínicos son usados en forma terapéutica como anticoagulantes.

KLAASSEN Curtis, III Manual de Toxicología Edición V

## TABLA # 8

### CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS TIPOS DE ANTICOAGULANTES.

ANTICOAGULANTES	WARFARINA	BRODIFACOUM	DICUMAROL
ABSORCIÓN GASTROINTESTINAL	rápida, completa	rápida, completa	Lenta
VIDA MEDIA	10-60 horas	120-150 días	24-48 horas
UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS	97 %	> 90 %	99 %
EFECTOS COLATERALES	Alopecia, dermatitis, urticaria, infartos, eosinofilia, parestesías		Trastornos gastrointestinales

Fuente: <http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes,%20%20al%20Dia,%202026-30,%20201998.pdf>

Los RA se absorben fácilmente por el tracto intestinal, y también pueden absorberse por la piel y el sistema respiratorio. Hay un potencial de exposición ocupacional a los rodenticidas anticoagulantes durante la fabricación, formulación y aplicación del cebo, pero no se dispone de datos sobre los niveles de exposición.

La concentración de protrombina plasmática orienta sobre la gravedad de la intoxicación. Es una indicación más sensible que pruebas generales como el tiempo de protrombina (TP), aunque la medición del TP ayuda a determinar la eficacia y la duración de tratamiento necesaria.

### **M. ATENCIÓN PREHOSPITALARIA**

La atención prehospitalaria incluye iniciar manejo del ABC (vía aérea, respiración, circulación) y la administración de carbón activado a una dosis de 1 g/kg de peso corporal.

En caso de ser asistido por el médico, sí la respiración ha cesado o es dificultosa se le debe brindar respiración artificial (boca a boca o bolsa de Ambú) o en un ámbito adecuado en AMR (asistencia mecánica respiratoria).

#### **Ingestión (vía oral):**

- Si fuera necesario realizar respiración boca a boca tener en cuenta el riesgo de contaminación interpersonal.
- No impedir el vómito en caso de esto ocurra espontáneamente
- No se debe inducir el vómito en las siguientes circunstancias:
  - Si el paciente está en coma, inconsciente, o con posibilidad de pérdida del conocimiento, etc.
  - Con convulsiones
  - Si ha ingerido un producto formulado sobre la base de solventes derivados de hidrocarburos
  - Afectado por sustancias corrosivas o cáusticos (ácidos o alcalinas)

- Cuando está expresamente contraindicado en la etiqueta.
- Si el paciente está despierto y consciente administrar:

**Jarabe de Ipecaurena(JI):**

Sirve para provocar el vómito. Dosis: 30 ml para adultos; 15 ml para niños.

**N. DIAGNOSTICOS DIFERENCIALES**

En medicina humana se considera la medición del TP como el único indicador seguro del efecto de un anticoagulante de tipo cumarínicos, sobre todo en ausencia de síntomas clínicos manifiestos. En la práctica se mide el TP de una persona control y el TP del paciente sospechoso, para obtener el “índice de protrombina”, así:

$$\text{Índice de Protrombina} = \frac{\text{TP sospechoso}}{\text{TP testigo}}$$

Si el índice es mayor a 1.4 se concluye que el sistema de coagulación del paciente es anormal y que se debe instaurar el tratamiento adecuado.

**O. CONTROL DE LABORATORIO**

El tiempo de protrombina (TP) es el método de elección para controlar el tratamiento anticoagulante (TAC) oral. El TP es sensible a la disminución de 3 de los 4 factores dependientes de vitamina K (II, VII y X). El TP se realiza agregando calcio y tromboplastina al plasma citratado.

El término "tromboplastina" se refiere a un extracto que contiene factor tisular y fosfolípidos obtenidos de diferentes fuentes. Las distintas tromboplastinas disponibles



varían marcadamente en su respuesta a la reducción de factores provocada por los ACO.

Por esta razón todas las tromboplastinas deben ser calibradas con respecto a una tromboplastina estándar.

Esta calibración se traduce en un "índice de sensibilidad internacional" (ISI), que todo fabricante debe proveer con el reactivo. Utilizando este índice se calcula en cada paciente la "razón normalizada internacional" (INR) de acuerdo con:

$$\text{INR} = (\text{TP del paciente} / \text{TP del plasma control})^{\text{ISI}}$$

De esta forma, son comparables los resultados obtenidos en diferentes laboratorios con distintas tromboplastinas; ésta es la base para utilizar el INR en el control de TAC oral, en lugar del TP expresado en segundos o como porcentaje del valor normal.

## **P. ASPECTOS PRÁCTICOS DEL TAC ORAL**

Después de iniciar la administración de ACO, no se observa efecto anticoagulante hasta que los factores decarboxilados reemplazan a los factores normales. Dependiendo de la dosis, este efecto puede tardar entre 2 y 7 días. Si se requiere un efecto rápido, se debe iniciar heparina y sobreponer con el ACO por al menos 3-4 días. No se recomienda actualmente iniciar el tratamiento con una dosis de carga, sino que con la dosis estimada de mantención (por ejemplo 5 mg de warfarina).

El tratamiento con heparina se debe suspender cuando el INR ha estado en rango terapéutico por al menos dos días.

El TP se debe controlar diariamente hasta que se alcance el rango terapéutico y se mantenga estable por dos días. Se continúa controlando 2-3 veces por semana por 2 semanas, dependiendo de la estabilidad del TP. Si el TP permanece estable, la

frecuencia de control se puede extender cada 4 a 6 semanas. La efectividad y seguridad del TAC oral depende en forma crítica de la mantención del INR en rango terapéutico. Se aceptan variaciones del INR no mayores a 0,5 con respecto al recomendado.

## **Q. EFECTOS ADVERSOS**

Los determinantes mayores de las complicaciones hemorrágicas durante el TAC oral son la intensidad del efecto anticoagulante, las características del paciente, el uso de drogas que interfieren con la hemostasia y la duración del TAC oral. Existe una estrecha correlación entre la intensidad de la terapia anticoagulante y el riesgo de sangrado en pacientes tratados con cumarínicos.

La tasa de hemorragias se eleva a niveles inaceptables (sobre 20%) en el grupo de pacientes con INR superior a 4,0.

En cuanto a las características de los pacientes, existe mayor riesgo de sangrado anormal en pacientes de mayor edad, con historia de sangrado digestivo, enfermedades cerebro vasculares e insuficiencia renal, entre las más frecuentes. Otra potencial fuente de variación en la respuesta anticoagulante a los cumarínicos es el uso de drogas que pueden inhibir o potenciar su efecto.

LÓPEZ Carlos, Toma y Preservación de muestras para Análisis Toxicológico. Redartox (1999)

## TABLA # 9

### DROGAS QUE INTERFIEREN CON EL TRATAMIENTO ATICOAGULANTE ORAL

DROGAS QUE INTERFIEREN CON EL EFECTO DEL TRATAMIENTO ATICOAGULANTE ORAL	
POTENCIAN	• INHIBEN
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ac.mefenámico</li> <li>• Alopurinol</li> <li>• Antibióticos</li> <li>• Cimetidina</li> <li>• Clofibrato</li> <li>• Cloramfenicol</li> <li>• Clorpromazina</li> <li>• Clorpropamida</li> <li>• Diazoxide</li> <li>• Fenilbutazona</li> <li>• Fenitoína</li> <li>• Isoniazida</li> <li>• Metildopa</li> <li>• Tolbutamida</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticonceptivos</li> <li>• Barbitúricos</li> <li>• Carbamazepina</li> <li>• Digitálicos</li> <li>• Etanol</li> <li>• Fenobarbital</li> <li>• Griseofulvina</li> <li>• Haloperidol</li> <li>• Prednisona</li> </ul>

Fuente:<http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes.pdf>

**Otros efectos adversos.** Entre los efectos adversos no hemorrágicos del TAC oral destaca la necrosis cutánea, que se produce al inicio de la terapia con cumarínicos. Esta complicación se presenta más frecuentemente en los pacientes portadores de un déficit de proteína C; por ello, en estos pacientes se recomienda siempre empezar la administración de cumarínicos en presencia de heparina.

## **R. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS - LABORATORIO:**

### **- Generales:**

- Hemograma completo
- Orina completa con sedimento (hematuria)
- Sangre oculta en materia fecal (SOMF)

### **- Específicos:**

- El laboratorio bioquímico se basa en la determinación del tiempo de protrombina (TP). La alteración (prolongación) de éste comienza recién a las 24 - 48 horas de producido el contacto, alcanzando niveles de efecto máximo a las 36 - 72 horas y persistiendo por varios días. Como se expresó anteriormente el efecto anticoagulante de las superwarfarinas se prolonga por más tiempo reflejándose esto en la persistencia del TP alterado.

El TP se prolonga con dosis considerablemente menores que las necesarias para causar hemorragia. Ante un caso de intoxicación con warfarínicos se deben solicitar controles de tiempo de protrombina a las 24 y 48 horas posteriores al contacto y con los superwarfarínicos se indica a las 48 y 72 horas y un tercer control una semana después.

- Se puede realizar la detección directa en sangre de sustancias anticoagulantes (por ej.: warfarina en sangre).

## **S. TRATAMIENTO:**

El tratamiento está encaminado a encontrar posibles sitios de sangrado y a la interrupción del efecto del cumarínico.

Es necesario evaluar la estabilidad hemodinámica del paciente. Si el individuo se encuentra inestable con hipotensión y sangrado profuso, se debe iniciar transfusión de plasma fresco congelado, que cuenta con todos los factores de la coagulación. La dosis recomendada es de 10 ml/kg de peso.

La mayoría de las intoxicaciones agudas por cumarínicos no está asociada con sangrado en el momento de la evaluación inicial en urgencias, a menos que la ingesta se haya realizado 24 horas antes del ingreso. El manejo en estos casos es el siguiente:

- Solicitar PT/INR de base y medirlo cada día.
- Administrar carbón activado si no se realizó en la atención prehospitalaria.

Si el paciente tiene necesidad de anticoagulación continua se puede utilizar heparina como medida temporal mientras se tratan los efectos de la warfarina.

- Algunos pacientes ingieren otras sustancias en un intento suicida: es necesario identificarlas y tratarlas en forma apropiada.
- Evitar la utilización de medicamentos que puedan potenciar el efecto del cumarínico.

Es importante recordar las drogas que inhiben el metabolismo de la warfarina para no usarlas.

- La vitamina K se administra cuando hay una anticoagulación por la prueba de PT. La dosis es de 50-200 mg en adultos; en niños es 1-5 mg vía oral, o 1-10 mg IM en casos severos. No es necesario utilizar vitamina K en forma profiláctica.
- Si se presenta hemorragia masiva el tratamiento se hace con plasma fresco congelado.

La vitamina K no tiene utilidad en el sangrado agudo, debido a que el comienzo de su acción tarda al menos seis horas.

La intoxicación crónica se presenta en pacientes que están recibiendo cumarínicos como parte del tratamiento de una enfermedad crónica.

La evaluación de estos pacientes se hace mediante examen físico la medición del PT/INR, como se observa en la siguiente tabla 10

## TABLA #10

### EXÁMEN FÍSICO: MEDICIÓN DEL PT/INR

PT/INR	Sangrado	Conducta
<6	No	Suspender warfarina por 2-3 días. Reiniciar cuando el PT/INR se acerca el nivel terapéutico
>6 - <10	No	Vitamina K1 mg IM
>10 - <15	No	Vitamina K3 mg IM
>15	Si	Vitamina K10 mg Plasma fresco congelado

Fuente: [http://www.aibarra.org/Apuntes/criticos/Guias/Intoxicaciones/Intoxicacion\\_por\\_cumarinicos.pdf](http://www.aibarra.org/Apuntes/criticos/Guias/Intoxicaciones/Intoxicacion_por_cumarinicos.pdf)

#### T. TRATAMIENTO MÉDICO:

##### General:

En caso de intoxicación con rodenticidas anticoagulantes se recomienda:

- No administrar vitamina K3 o K4.
- Evitar golpes para prevenir la formación de hematomas superficiales o profundos.
- Evitar fármacos que aumenten la toxicidad de los anticoagulantes como por ej.: aspirina, antibióticos (sulfonamidas), etc. Se recomienda no administrar ningún fármaco debido a las múltiples interacciones de los anticoagulantes cumarínicos.
- Controlar a la persona afectada durante 4 o 5 días para los warfarínicos y 20 a 30 días para los superwarfarínicos.
- Una vez restablecida la coagulación se debe considerar el drenaje de los grandes hematomas.

##### Específico:

##### \* En caso de prolongación del tiempo de protombina (TP):

- Administrar vitamina K1 (fitonadiona) Konakion® por vía oral o intramuscular.

- Repetir el TP a las 24 horas y si no se ha normalizado, repetir el tratamiento con vitamina K1.

**\* En caso de ingesta:**

- Administrar jarabe de Ipeca; carbón activado; purgante salino.

- Administrar vitamina K1 (fitonadiona) vía oral o intramuscular.

- Repetir el tiempo de protrombina a las 24 horas. Si no se ha acortado, repetir el tratamiento con vitamina K1.

**Terapia anticoagulante con Vitamina K1 (fitomenadiona).**

Dosis I.V. :                    10 - 50 mg (5 - 10 mg en niños).

Dosis I.M. :                    5 - 10 mg (1 - 5 mg en niños).

Se puede repetir cada 6 horas.

**\* En caso de sangrado:**

- Administrar vitamina K1 (fitonadiona) vía EV (se recomienda la Infusión de vitamina K1 diluido en solución salina o glucosada).
- Si en 24 horas continúa sangrando, repetir el tratamiento. El sangrado suele controlarse en 3-6 horas.
- Determinación del tiempo de protrombina y de la concentración de hemoglobina cada 6-12 horas.
- Una vez restablecida la coagulación, considerar el drenaje de los grandes hematomas.
- Durante el período de recuperación se puede administrar sulfato ferroso para reconstruir la masa eritrocitaria.

**Nota:**

- En caso de intoxicación con rodenticidas anticoagulantes, se recomienda evitar golpes, para prevenir la formación de hematomas superficiales o profundos.
- No administrar vitamina K3 o vitamina K4.

En cualquier caso observar a la persona afectada durante 4-5 días.

**Precaución:** No administrar fármacos que aumentan la toxicidad de los anticoagulantes cumarínicos, como por ejemplo analgésicos, (incluida la aspirina), antibióticos (sulfas), etc. Se recomienda no administrar ningún fármaco excepto lo indicado en "tratamiento" debido a las múltiples interacciones de los anticoagulantes cumarínicos.

**Los tres objetivos principales del tratamiento son:**

- Corregir la hipovolemia
- Corregir la coagulopatía
- Recuperar el funcionamiento de los órganos afectados por la extravasación de la sangre (toracocentesis).

En intoxicaciones severas (hematocrito  $<0.15$  ) se recomienda la administración de sangre fresca vía IV a la dosis de 20 ml/kg para corregir simultáneamente tanto la hipovolemia como coagulopatía. En casos no tan severos es posible obtener la recuperación sin necesidad de transfusión utilizando el antídoto específico (vitamina K<sub>1</sub>). La vitamina K<sub>2</sub> (menaquinona) y las formas sintéticas de la vitamina k (como la menadiona, K<sub>3</sub>) son totalmente inefectivas.

En casos de intoxicación con warfarinas o cumatetralil en caninos y felinos se recomienda administrar K<sub>1</sub> a dosis de 0.25-2.5 mg/kg vía IV o IM cada 12 h durante 5 días como mínimo. En intoxicaciones por difacinona, bromadiolona o brodifacoum la dosis debe aumentarse de 2.5 -5.0 mg/kg y el tratamiento debe prolongarse de 2 a 3 semanas. El antídoto también puede administrarse vía oral (5 mg/kg). En humanos se recomienda hasta 20 mg diarios como dosis total. La vitamina K<sub>1</sub> se consigue en el



mercado colombiano como Kavitex F<sub>1</sub>, frasco inyectable de 20 ml conteniendo 12.5 mg de vitamina K<sub>1</sub> por ml de solución.

LAROUSSE, Diagnóstico de Investigación científica (2002)

### **2.2.2. TOXICOCINÉTICA**

Toxicocinética es la ciencia que estudia los cambios que ocurren a través del tiempo en la absorción, distribución, metabolismo y expresión de un tóxico cuando este ingresa a un organismo. Los mecanismos fisiológicos que rigen la cinética de los tóxicos y de los fármacos son similares y puede afirmarse que excepto para los metabolismos de procedencia natural (endógenos), deben contemplarse desde el punto de vista cinético-bioquímico; la farmacocinética y la toxicocinética están unidas en el marco cinético de las sustancias extrañas, exógenas (xenobióticas), que invaden al organismo.

Sin embargo, en la cinética de los fármacos se busca una misión benéfica al obtener de alguna manera el bienestar; en el caso de los tóxicos por el contrario el resultado es el deterioro de la salud o de algunas funciones específicas y en muchos casos la muerte.

#### **A. ETAPAS DE LA ACCIÓN TÓXICA**

La interacción de un toxico con el organismo comienza con la fase de exposición. Decimos que el individuo está expuesto cuando el toxico se encuentra en la vecindad inmediata de las vías de ingreso al medio interno del organismo. Estas vías son: las respiratorias (inhalación), la tegumentaria (piel y mucosas) y la vía gastrointestinal; pero solamente habrá un efecto biológico y toxico cuando haya absorción de la sustancia, exceptuando el caso de exposición a sustancias radiactivas; la cinética de un toxico que ingresa al organismo se inicia con los procesos que regulan su absorción y terminan con aquéllos que permiten extraerlo inalterado o en forma de metabolismo, ya sean inactivos (no tóxicos) o activos (que muchas veces pueden resultar más tóxicos que el compuesto original).

Si se toma en cuenta que la toxicocinética es el curso que toda sustancia toxicológicamente activa recorre en el organismo, se entenderá que esta debe constar de etapas. Las principales etapas que comprende son las siguientes:

- a. **Absorción.**
- b. **Distribución.**
- c. **Biotransformación.**
- d. **Eliminación o Excreción.**

Algunos autores agregan la interacción con otros fármacos, la excreción por leche materna y los efectos sobre el embarazo. Entre los factores que influyen en los efectos de un tóxico está la concentración de sustancia activa en el receptor. Este, con frecuencia tiene una localización anatómica distinta del compartimiento central, donde se toma la muestra para análisis.

De este modo se explica que no exista siempre una correlación entre el efecto y la concentración sanguínea del tóxico, no obstante, el modelo de dos compartimientos permite predecir los cambios en la concentración en sangre o plasma de la mayoría de los tóxicos con eliminación predominante por vía renal. El compartimiento central está representado por la sangre y los órganos de elevada perfusión (corazón, cerebro, riñón).

A su vez, el compartimiento periférico está constituido por tejidos de almacenamiento y órganos pobremente perfundidos. Par fines del cálculo, los tóxicos y fármacos son eliminados y absorbidos solamente en el compartimiento central.

En la práctica, los niveles en sangre de un tóxico, Selene considerarse así;

- **Concentración Terapéutica:** Nivel en la sangre, después de administrar la dosis efectiva en los humanos.
- **Concentración Tóxica:** Nivel asociado con manifestaciones nocivas en humanos.
- **Concentración Letal:** Nivel en que un tóxico causa la muerte de una persona.

## B. ABSORCIÓN

La absorción es el ingreso de una sustancia a la circulación atravesando las membranas biológicas. Para ello el producto ha de pasar las diferentes barreras (cutáneas, gastrointestinales, alveolares y vasculares) por diferentes vías. Toda absorción biológica de una sustancia requiere de un paso a través de una membrana.

Desde el punto de vista clínico, las vías de absorción de los tóxicos, o sea de su ingreso en el organismo, son las siguientes:

**Vía Digestiva:** Constituye la más importante vía de acceso de tóxicos. Para llegar a la ven porta y al sistema linfático, el tóxico debe atravesar la membrana epitelial y la membrana basal de los capilares. **Este pasaje puede llevarse a cabo por:**

**Absorción Pasiva:** Cuando la molécula está ionizada, su absorción depende del PH y cuando no, depende de la liposolubilidad.

**Absorción Convectiva:** Depende de la diferencia de la presión hidrostática en la concentración en el intestino y la concentración en plasma.

**Transporte Activo Y Facilitado:** La molécula se une a un transportador que suele ser proteico, para ser liberado una vez que atraviese la membrana.

**Absorción Por Par Iónico:** Consiste en la unión de cationes y aniones orgánicos. Este par es liposoluble.

**Pinocitosis:** Consiste en la formación de una membrana celular por la vesícula. La vesícula engloba la molécula para liberarla una vez que la transporta al lado opuesto de la célula.

**Vía Respiratoria:** Constituye la vía de acceso de venenos gaseosos (vapores de ácido cianhídrico, monóxido de carbono, etc.) sólidos finamente divididos y líquidos

atomizados. Los tóxicos llegan a la circulación sanguínea por simple difusión en el alvéolo pulmonar.

**Vía Cutánea:** A través de la piel sana pueden penetrar sustancias cáusticas, tinturas y solventes de la grasa de la piel. Un ejemplo son los insecticidas organofosforados.

**Vía Parenteral:** Con sus variedades; subcutánea, intramuscular y endovenosa. Es el caso de las flechas envenenadas, picaduras y mordeduras de animales ponzoñosos. Modernamente la más común es la administración de tóxicos de fármaco dependencia, como la heroína y la cocaína.

**Vía Mucosa:** Comprende la conjuntiva de los párpados (Atropina), la mucosa nasal (inhalación de cocaína), sublingual (cianuros) y rectal (ácidos sulfhídricos).

## **C. DISTRIBUCIÓN Y ACUMULACIÓN**

El tóxico absorbido pasa al compartimiento central (sangre) y al compartimiento periférico (tejidos de depósito). Este proceso de redistribución constituye un mecanismo de defensa porque permite al organismo degradar lentamente un tóxico.

Los factores que intervienen en la distribución y fijación del tóxico son; el coeficiente de liposolubilidad o de hidrosolubilidad, la unión a proteínas, la reacción química y el grado de ionización.

Después de la absorción viene la distribución, proceso también influenciado por varios factores como las propiedades fisicoquímicas del tóxico, el coeficiente de lipohidrosolubilidad, el grado de ionización, la unión a las moléculas o proteínas las reacciones químicas y también por el flujo de sangre a los diversos órganos.

Independientemente de la vía de entrada, el sistema circulatorio desempeña un papel importante puesto que desde el pueden las sustancias iniciar procesos tóxicos y de distribución a diferentes órganos y sistemas, para luego ser enviados al exterior o a sitios de depósitos en los cuales pueden ser puestos nuevamente en circulación mediante determinadas circunstancias.

Como el gasto cardiaco es aproximadamente de 5 a 6 litros/minutos, resulta que en un minuto la sangre ha recorrido el sistema completo, al menos una vez. Y los tóxicos no suelen estar en la sangre disueltos en el plasma, sino que se unen a las proteínas plasmáticas en forma reversible o irreversible, dependiendo de la intensidad de fijación del tipo de enlace fisicoquímico, el cual en orden decreciente de intensidad, puede ser covalente: se comparten electrones entre dos átomos, iónico: se forma entre iones de carga opuesta, puente de hidrogeno: se enlaza al oxígeno o al nitrógeno, fuerzas de Van Der Waals: cuando dos átomos se aproximan mucho son más débiles.

Las características físicas del tóxico y el sitio específico de unión dan a esta fijación el carácter de una reacción y enlace químico, así podríamos establecer los siguientes grupos:

- Ácidos y bases.
- Reacción covalentes.
- Alquilantes.
- Radicales libres.

#### **D. METABOLISMO O BIOTRANSFORMACIÓN DE LOS TÓXICOS**

La biotransformación tiene por objeto eliminar al tóxico o convertirlos en sustancias menos dañinas para el organismo. Comprende dos fases:

**Fase I:** De oxidación, reducción e hidrólisis.

**Fase II:** De conjugación.

Los sistemas de biotransformación más importantes se encuentran en las células del hígado y los de menor importancia en el riñón, pulmón, intestino y cerebro.

Algunos tóxicos son eliminados sin sufrir ningún tipo de alteración: pero la mayoría son eliminados sufriendo un proceso de transformación para lo cual se lleva a cabo una serie de pasos metabólicos que tiene como principal objetivo introducir una serie de alteraciones bioquímicas en la molécula que la transforme de liposoluble en hidrosoluble, el cambio en sustancias más polares, ionizable, que no sean

reabsorbidas por el túbulo renal y sean fácilmente excretadas por la orina. Si no se produjeran estas transformaciones los compuestos apolares liposolubles no sean filtrados o serán reabsorbidos por los túbulos renales y sólo podrían excretarse junto con la bilis en las heces y en menor proporción en la leche, sudor y saliva.

Los tóxicos siguen diferentes caminos los cuales pueden ser:

1. Eliminados sin sufrir alteración alguna.
2. Puede experimentar transformaciones que hagan más fácil su eliminación.
3. Puede experimentar transformaciones estructurales que aumenten o disminuyan su toxicidad.

## **E. ELIMINACIÓN**

Finalmente los tóxicos o sus metabolitos son excretados. Las principales vías de eliminación son las siguientes:

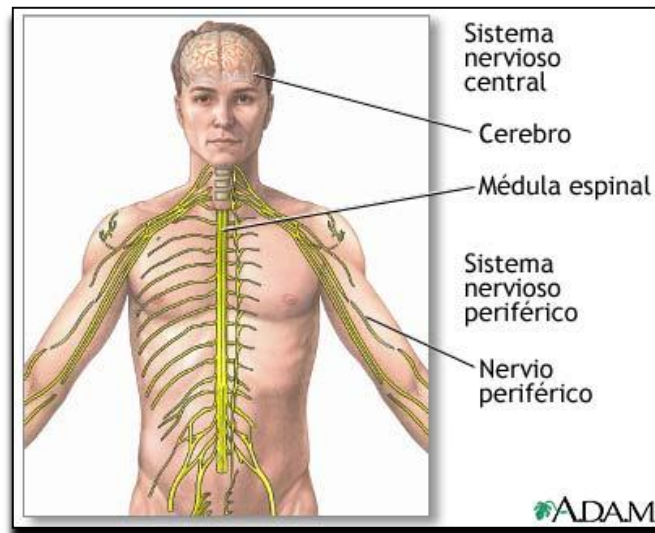
**Pulmón:** Por esta vía el organismo elimina principalmente los anestésicos volátiles o gases tóxicos, como el monóxido de carbono, cianuros, sulfuro de hidrógeno y de modo parcial el paraldehído.

**Bilis:** Las sustancias hidrosolubles pasan a la bilis por excreción activa. Para las sustancias no polares (no solubles en agua) existe una circulación entero-hepática, por la cual los tóxicos son excretados en la bilis y absorbido en el intestino delgado (caso de la digosina y espirolanactona).

**Riñón:** Constituye la principal vía de eliminación de tóxicos o de sus metabolitos. Requieren que sean sustancias solubles en agua.

## GRÁFICO # 1

### VÍAS QUE SE DISTRIBUYEN EN LA TOXICOCINÈTICA



Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos18/toxicologia-general/toxicologia-general.shtml#toxicocinetica>

El PH de la orina es un factor importante. Si la orina es alcalina, estará dificultada la eliminación de sustancias básicas y viceversa para las ácidas. Esto permite mediante la regulación del PH de la orina, acelerar o retardar la excreción de ciertas sustancias básicas (quinidina, fenclonidina, anfetamina) y ácidas (fenobarbital, aspirinas).

Finalmente debe advertirse que existen tóxicos que ejercen su acción nociva en la etapa de absorción, reciben el nombre de cáusticos de acuerdo con la vía de absorción a través de la cual actúan se conocen como cáusticos digestivos, respiratorios, cutáneos, etc.

Además hay tóxicos sistémicos que también tienen acción cáustica no sólo en la etapa de absorción, sino incluso en la etapa de eliminación. Es el caso de paracuat y del mercurio elemental.

Las rutas de excreción de las sustancias tóxicas o de sus productos de biotransformación son las siguientes: la orina, la bilis, el aire espirado, el sudor, la saliva, la leche, la secreción gastrointestinal. Por la leche, sudor y saliva, aunque cuantitativamente no sean relevantes, en algunos casos como el de la leche, tiene importancia y peligro para quienes la ingieren como alimento.

## **F. FARMACOCINÉTICA**

Las cumarinas, indandionas y otros anticoagulantes se absorben muy bien a través del tracto gastrointestinal, a los pocos minutos de ser ingeridos. Otra vía importante, especialmente para quienes preparan las formulaciones, es el tracto respiratorio. La proporción de lo que se absorbe a través de la piel intacta es muy baja.

La mayoría de investigaciones sobre la cinética de los anticoagulantes cumarínicos han utilizado como modelo la warfarina. La warfarina ingerida, se metaboliza en el hígado y se absorbe completamente en el intestino delgado de una manera lenta debido al alto pH del intestino. Se transporta en el plasma débilmente ligada a proteínas plasmáticas especialmente albúminas.

La biodisponibilidad de la warfarina por vía oral es cercana a 100%. Se une fuertemente a las proteínas plasmáticas, de forma especial a la albúmina. Es distribuida al hígado, pulmón, bazo y riñón. Atraviesa la barrera placentaria con efectos teratogénicos documentados en humanos.

La duración del efecto anticoagulante de la warfarina después de una sola dosis es de 5- 7 días. Es metabolizada por el hígado y eliminada por la bilis principalmente. La excreción de este medicamento puede verse alterada en pacientes con edad avanzada o falla hepática.

Numerosos medicamentos interaccionan con la warfarina, pudiendo inhibir o aumentar su acción, así:



**Inhibición del metabolismo de la warfarina (aumentan el riesgo de sangrado):**

- Amiodarona.
- Cimetidina.
- Metronidazol.
- Omeprazol.
- Alopurinol.
- Ingesta de alcohol.

**Aumento del metabolismo de la warfarina (disminuyen el efecto terapéutico):-**

Fenobarbital.

- Fenitoína.
- Rifampicina.
- Griseofulvina.
- Carbamazepina

GISBERT Javier. y VILLANUEVA Eduardo, Medicina Legal y Toxicología. (5ta. Edición).  
Barcelona, España: Masson. 1999

**2.2.3. EXTRACCIÓN**

**A. MÉTODO CUALITATIVO DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO – LÍQUIDO**

La extracción líquido-líquido es, junto a la destilación, la operación básica más importante en la separación de mezclas homogéneas líquidas. Consiste en separar una o varias sustancias disueltas en un disolvente mediante su transferencia a otro disolvente insoluble, o parcialmente insoluble, en el primero. La transferencia de materia se consigue mediante el contacto directo entre las dos fases líquidas. En una operación de extracción líquido-líquido se denomina alimentación a la disolución cuyos componentes se pretende separar, disolvente de extracción al líquido que se va a utilizar para separar el componente deseado, refinado a la alimentación ya tratada y extracto a la disolución con el soluto recuperado.

Es un proceso químico empleado para separar componentes de una mezcla no homogénea mediante la relación de sus concentraciones en dos fases líquidas inmiscibles. Es un procedimiento que purifica una sustancia tóxica (líquida) biológica o no biológica mediante la utilización de otro líquido que sería el solvente extractor.

Se produce dos fases:

- Acuosa: contiene tóxico + muestra
- Orgánica: contiene solvente extractor

### **Se coloca el solvente extractor factores de separación**

- **Polaridad.-** Afinidad que debe tener con la muestra.
- **Fuerzas electrostáticas.-** Atracción entre cargas positivas y negativas.
- **pH.-** Concentración de los iones hidrógenos.
- **Buffer.-** Da equilibrio a la reacción entre una solución acida o básica.
- **Densidad.-** Cantidad de sustancia en una unidad de volumen.
- **Coefficiente de partición.-** Indica en qué medida el solvente extractor es el adecuado.

### **Inconvenientes**

Formación de emulsiones o interfaces. Para evitar se deja en reposo por 30 minutos o colocar un nuevo solvente extractor que tenga afinidad.

LAROUSSE, Diagnóstico de Investigación Científica (2002)

## **B. SISTEMA DE SOLVENTES:**

### **Características**

- Que el grado máximo de extracción (cumpla la función de extraer al tóxico en cuestión en su totalidad) es decir el tóxico que se encuentra presente en la muestra.
- Que tenga o no afinidad diferente o selectiva de extracción; es decir que no sea selectiva para otros tóxicos que se encuentren presentes en la muestra o sustancias interferentes por que estas no se van a extraer.
- Que no se forme emulsiones al momento de la extracción, porque esta puede dificultar la extracción total del tóxico.
- Que no sea altamente tóxico.
- Que no presente puntos de ebullición altos los mismos que van hacer primordial para facilitar el análisis inmediato del toxico en cuestión.
- Que no presente una afinidad diferente con respecto al solvente original.

Los STD cumarínicos se deben preparar colocando en un tubo de ensayo de 10 a 20ul. del STD puro adicionando inmediatamente 1 ml de Acetona para su disolución.

## **C. SOLVENTES UTILIZADOS EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN**

### **Éter etílico**

Se utiliza para diferentes tóxicos. Solvente sumamente volátil con punto de ebullición 35°C, diferentes tipos de tóxicos orgánicos no volátiles son extraídos por intermedio de este solvente presentando ciertas ventajas:

- No forma emulsiones
- Es sumamente volátil
- Los vapores son densos

La desventaja es que son explosivos

## **Hexano**

Utilizado para la extracción de diferentes tipos de plaguicidas como órganos clorados, en ciertos casos organofosforados, carbámicos y otros.

Características:

- No son muy volátiles
- No son explosivos

## **D. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA (CUMARINAS)**

Para muestras con poco material interferente como sangre, orina, contenido y lavado gástrico se trabaja directamente con solventes extractores como Hexano o Acetona de preferencia, para lo cual se debe realizar de 2 a 3 extracciones con igual volumen de la muestra empleada mediante la utilización de un embudo de separación con agitación con periodos de 2 a 3 minutos.

### **2.2.4. REVELADORES:**

#### **Revelado Físico**

- Lámpara de luz ultravioleta a 254nm, se presentan manchas de color blancas fluorescentes.
- Lámpara de luz ultravioleta a 366nm, se presentan manchas de color rosada con fondo café.

#### **Revelado Químico**

El revelado químico se realiza con las muestras y estándares, presentan unas máculas de color amarillo

- Preparar una solución (revelador) de Permanganato de Potasio ( $\text{KMnO}_4$ ) al 3% en  $\text{H}_2\text{O}$  destilada 100 ml (concentrado)

3g (KMnO<sub>4</sub>) en 100g de H<sub>2</sub>O destilada

- Tomar una solución diluida de la solución concentrada del revelador que es Permanganato de Potasio (KMnO<sub>4</sub>) al 3% en H<sub>2</sub>O destilada 100 ml

3g (KMnO<sub>4</sub>) en 100g de H<sub>2</sub>O destilada (solución concentrada)  $\longrightarrow$  40g de H<sub>2</sub>O destilada +10 ml de solución concentrada (solución diluida).

- Preparar una solución (revelador) diluida de la solución concentrada de Permanganato de Potasio (KMnO<sub>4</sub>) al 0,75% en H<sub>2</sub>O destilada 100 ml
- Para ver la concentración de la solución diluida se emplea la siguiente formula.  $C_1.V_1 = C_2.V_2$ .

### **2.2.5. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA**

La cromatografía en capa fina (CCF), TLC (Thinlayerchromatography) es una técnica. La fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte.

En cromatografía en capa fina se utiliza una placa cromatográfica inmersa verticalmente en un eluyente apolar; La placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie solida con algún agente cementante.

El eluyente debe ser un compuesto líquido apolar, generalmente orgánico. Para realizar la CCF, se debe apoyar la placa cromatográfica sobre algún recipiente o cámara que contenga la fase líquida a aproximadamente 1 cm (la distancia entre el principio de la placa y la muestra que se desea analizar).

#### **A. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Los productos a examinar se disolverán, cuando sea posible, en un disolvente orgánico que tenga un punto de ebullición lo suficientemente bajo para que se evapore después de la aplicación, lo más común es usar acetona.

Existen una gran variedad de micropipetas y microjeringuillas para realizar el proceso de siembra de la muestra a analizar. También pueden usarse tubos capilares. El proceso de siembra se realiza tocando con la punta del capilar (micropipeta, etc.) sobre la placa preparada. Dejando una distancia al borde inferior de un centímetro aproximadamente. El punto de aplicación de la muestra se denomina toque.

Una vez colocado el toque se deja secar para evaporar el disolvente, de forma que en la placa solo quedará la muestra a analizar.

## **B. ELECCIÓN DEL ELUYENTE**

La elección del eluyente depende del componente que se va a separar y del material en que la separación se lleva a cabo. Un método que se emplea para la selección del eluyente es una cromatografía en capa fina con distintos disolventes y unas muestras patrón.

## **C. DESARROLLO DE LA CROMATOGRAFÍA**

El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, por la acción de la capilaridad. La cromatografía se realiza en una cubeta. Para conseguir la máxima saturación posible de la atmósfera de la cámara, las paredes se impregnan del eluyente.

Generalmente el eluyente se introduce en la cámara una hora antes del desarrollo, para permitir la saturación de la atmósfera. El tiempo de desarrollo, por lo general, no llega a los 30 minutos. El tiempo de una cromatografía cualitativa suele ser de un par de minutos, mientras que el tiempo de una cromatografía preparativa puede llegar a un par de horas.

Las placas pueden desarrollarse durante un tiempo prefijado, o hasta que se alcance una línea dibujada a una distancia fija desde el origen.

Esto se hace para estandarizar los valores de RF. Frecuentemente esta distancia es de 10 cm.; parece ser la más conveniente para medir valores de RF. Después del desarrollo, las placas pueden secarse rápidamente con una corriente de aire caliente.

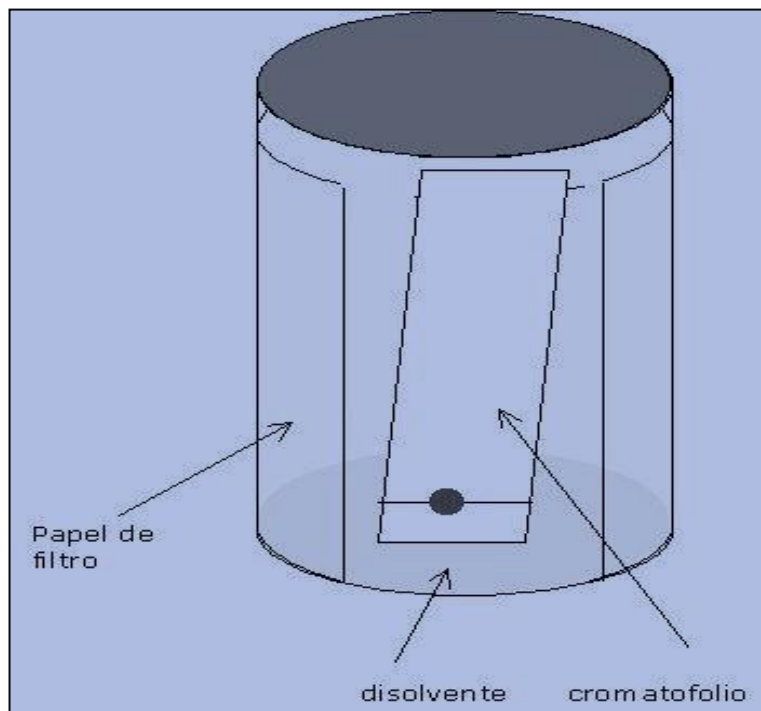
La mejor posición de desarrollo para un componente es el punto medio entre el origen y el frente del eluyente, ya que permite separar las impurezas que se desplazan con mayor y menor velocidad.

El frente del eluyente nunca debe llegar a tocar el borde de la placa.

CÓRDOVA Daniel, Manual Moderno Toxicología. (4ta. ed.). Barcelona, España: Editorial 2000

## GRÁFICO#2

### POSICIÓN CORRECTA DE LA PLACA



Fuente:[http://www.unedcervera.com/quimica\\_ingenieria/cromatografia.html](http://www.unedcervera.com/quimica_ingenieria/cromatografia.html)

### **2.2.6. CADENA DE CUSTODIA**

La Cadena de Custodia es el procedimiento destinado a garantizar la individualización, seguridad y preservación de los elementos materiales y evidencias, recolectados de acuerdo a su naturaleza o incorporados en toda investigación de un hecho punible, destinados a garantizar su autenticidad para los efectos del proceso; se inicia con el aseguramiento, inmovilización o recojo de los elementos materiales y evidencias existentes en el lugar de los hechos. Es importante precisar que las personas encargadas de la custodia permanente de las evidencias que forman parte de la Cadena de Custodia, deben de contar con una preparación antelada que no sea solo teórica, debiendo de contar además con capacitación a nivel de Post Grado en Ciencias Forenses, Criminalística o Peritación Criminalística, ya que estas Ciencias son indispensables para una correcta aplicación e interpretación de lo normado respecto a Cadena de Custodia en el Código Procesal Penal; confiar la seguridad de las evidencias a manos inexpertas o sin capacitación al respecto, es poner en riesgo los medios probatorios, dejando latente la existencia de la impunidad, que con el nuevo modelo procesal también presentaría celeridad; soy de la humilde opinión que este tema es tan importante *-sino mas-* como cualquier otro contenido en el “Nuevo” Código. Con las precisiones hechas referencia, me atrevo (con el perdón de los conocedores y estudiosos del tema) a dar un pequeño concepto sobre Cadena de Custodia;

Es un conjunto de procedimientos ineludibles, en los que prima en tema de seguridad, estos procedimientos se encuentran destinados principalmente a garantizar que el elemento material probatorio o la evidencia física hallada, una vez que ha cumplido con sus requisitos (identificación, recolección, embalaje y rotulación), sea la misma que se encontró en la escena del crimen. Lo que se busca con este procedimiento es que la evidencia permanezca (lo más posible) en igualdad de condiciones fenomenológicas a las que tuvo cuando fueron recolectadas, en toda Escena “Típica” del Crimen se debe de trabajar en los siguientes puntos:



## **A. COMPROBACIÓN DEL HECHO**

Generalmente, es la policía la que toma conocimiento inicial de la ocurrencia de un hecho criminal debiendo proceder a la verificación de la información al respecto.

La inmediatez con que el funcionario policial se constituya al supuesto lugar del hecho, es trascendental; por eso debe tenerse muy en cuenta ello porque si se presenta demora en demasía se puede afectar la investigación preliminar.

## **B. DELIMITACIÓN DE LA ESCENA Y SEGURIDAD**

Presente en la escena, el funcionario de la policía, que es quien en primera instancia suele recibir la notificación del hecho por parte de alguna persona, debe tomar conciencia que es indispensable proceder a marcar un perímetro que delimite la escena del hecho criminal, ya que de esta forma se da inicio a la protección de los indicios y evidencias contenidas en ella.

Luego de haberse adoptado las acciones previas, el funcionario policial, al ponerse en comunicación con su dependencia, informará con detalle sobre lo que fue materia de su verificación y actuación en el lugar del hecho.

## **C. NOTIFICACIÓN A LA POLICÍA**

El personal a cargo de la dependencia policial de la jurisdicción a la que corresponde la constatación, en cumplimiento de las disposiciones administrativas de carácter interno, procederá a su vez a comunicar a la entidad policial, que por la naturaleza del delito cometido, actúe de acuerdo a la especialidad respectiva; procediendo a hacerse cargo de la investigación, asumiendo la tarea de la seguridad y resguardo de la escena, en tanto no se haga presente el personal policial especializado y disponga lo contrario.

#### **D. NOTIFICACIÓN AL MINISTERIO PÚBLICO Y A LOS PERITOS**

Una vez que el hecho ha sido puesto en conocimiento del personal policial de la dependencia especializada que tendrá a su cargo la investigación criminal, éste se comunicará con el Ministerio Público, para constituirse al lugar del hecho y hacerse cargo de las diligencias que les son inherentes.

De inmediato, el personal policial se pondrá en contacto con la dependencia de Criminalística, solicitando la presencia del especialista necesario para el examen de la escena; si se encuentra en una sede de los laboratorios de Criminalística, podrá contar con los especialistas suficientes, y si no, el apoyo se verá restringido a quien haya sido responsabilizado de la práctica de estas diligencias.

#### **E. TRASLADO AL LUGAR DE LA ESCENA**

Lo ideal es que todos los comprometidos, asistan en conjunto al lugar del hecho; Si bien es cierto, que tenemos ciudades donde hay laboratorios de Criminalística con más de un especialista, también lo es el hecho de que en una misma oportunidad puedan presentarse dos situaciones que demanden la presencia de éstos en lugares distintos, por lo que lo ideal es que en las dependencias de Criminalística, existan equipos formados para que puedan atender por lo menos mas de una diligencia de manera casi simultánea.

#### **F. DILIGENCIAS EN LA PERIFERIE**

Como parte de la Criminalística de Campo, se tiene también la participación del Criminalista o investigador criminal, quien tiene la tarea en primer lugar de la entrevista con el personal policial a cargo de la seguridad de la escena para tomar conocimiento de todo lo actuado por éste.

## **G. INGRESO DEL OPERADOR A LA ESCENA**

Lo primero que debe hacer el operador (perito, experto, técnico, etc.), es detenerse en el punto de ingreso y tomarse un momento haciendo una observación panorámica del lugar, evitando el ingreso abrupto para dirigirse al objeto principal del examen.

Se debe de tomar en cuenta que la escena del crimen es “tridimensional”, esto significa que se tiene que observar tanto el largo, el ancho como la altura de la escena; ello para que no se deje escapar ningún detalle del lugar, es decir observarla como un conjunto y no solo como un plano.

## **H. BÚSQUEDA, IDENTIFICACIÓN Y MARCACIÓN DE INDICIOS Y EVIDENCIAS**

Ésta fase rige tanto para aquel operador único como para los operadores especialistas (Balístico, Biólogo, Médico, etc.); es necesario tener presente que en ésta etapa vamos en la búsqueda de evidencias de índole físico, químico y/o biológico.

## **I. RECOJO, ROTULACIÓN Y CADENA DE CUSTODIA**

### **a) Recojo de Indicios y Evidencias**

Se hará teniendo el cuidado suficiente de “no alterar su esencia”, “no destruirla”, ello para que su integridad sea tal cual la hallamos y así llegue a manos del especialista que tendrá a su cargo el análisis respectivo.

Para el levantamiento de indicios y evidencias, se emplearán los medios más adecuados al tipo de muestra; si está adherida a una superficie, se la levanta de modo que no se mezcle su componente con cuerpo extraño (raspado superficial); y, si su estructura o tamaño es tal, embalándola en un envase más adecuado a su esencia.

## **b) Rotulación**

Es indispensable que cada muestra recogida, sea plenamente identificada, indicándose de qué lugar se recoge, a qué corresponde, quién la recoge, qué cantidad, que volumen o peso contiene aproximadamente, etc. Esto debe de estar contenido en una “tarjeta de evidencia” que se le agrega a cada una de las muestras.

Para garantizar la información, es necesaria la firma del funcionario policial y operador de la escena interviniente acompañado del representante del Ministerio Público, como del testigo debidamente identificado, si ese fuera el caso. Puede además levantarse un “acta de recojo de muestras”, en donde se consigne la cantidad de muestras recogidas de la escena.

## **c) Cadena de Custodia**

De esta forma, con el procedimiento detallado previamente, es que se llega a la tratativa de la Cadena de Custodia, la cual es materia del presente artículo.

Con el propósito de complementar el tema; es necesario conocer la diferencia entre Indicio y Evidencia; así se puede decir que:

**Indicio** es todo aquello que nos informa de “algo”; por ejemplo una mancha roja en el piso nos permite conocer que hay una sustancia que no debía de estar en el lugar.

**Evidencia** es aquello que nos permite una información particular sobre algo; para completar el ejemplo anterior, si a esa misma mancha roja le aplicamos peróxido de hidrogeno (agua oxigenada).

Pudiera ser que no tenga ninguna reacción, por lo que nos orientamos a pensar que no se trata de ninguna secreción orgánica; pero si comienza a aparecer una espuma blanquecina, significa entonces que se trata de una secreción orgánica; entonces, ello es Evidente.

## **J. REGLAS BÁSICAS DE LA CADENA DE CUSTODIA**

- 1.- Dejar constancia en el acta de diligencia inicial, indicando donde fue encontrada la evidencia, la ubicación exacta, la descripción, su naturaleza; nombre y cargo del funcionario que hace la recolección, fecha y hora de la obtención.
- 2.- Aplicar los procedimientos de recolección, embalaje, preservación, y rotulación de los elementos materiales de prueba.
- 3.- Iniciar el proceso de aseguramiento de las evidencias, diligenciando el formato de cadena de custodia para cada una de ellas.
- 4.- Adjuntar a cada una de las evidencias recolectadas el formato de cadena de custodia para ser diligenciado en el transcurso del proceso penal.
- 5.- Fijar mediante fotografías, plano y descripción escrita, clara y completa, el sitio exacto de donde recolecta cada una de las evidencias.
- 6.- Describir cada una de las evidencias.
- 7.- Al embalar, lo primordial es la conservación de la evidencia. Para la conservación de algunas evidencias, se debe pedir la colaboración del experto según sea el caso.
- 8.- Tomar las medidas necesarias para proteger las evidencias de posibles adulteraciones o pérdidas.
- 9.- Sobre cada uno de los elementos probatorios (documentos, fluidos, sustancias, etc.) recolectados, se debe aplicar la cadena de custodia.
- 10.- Utilizar y llenar en su totalidad el formato de cadena de custodia para la entrega o recibo de las evidencias.

## **K. SECUENCIA DE LA CADENA DE CUSTODIA**

- 1.- Investigadores: victimas, sospechosos, testigos.
- 2.- Criminalística: toma de las muestras (experto forense, custodiar la información, almacenamiento).
- 3.- Laboratorio: análisis de la muestra y elementos de prueba.
- 4.- Autoridad competente: recibe el formato de cadena de custodia.
- 5.- Fiscal: verifica lo descrito con lo observado.

LÓPEZ CALVO Pedro y GOMEZ SILVA, Pedro, Investigación Criminal y Criminalística. Bogotá, Colombia, Temis. (2000)

# GRÁFICO#3

## FORMULARIO PARA LA CADENA DE CUSTODIA

**Análisis Toxicológicos**  
**Formulario para la cadena de custodia**

Análisis requerido:.....

Solicitado por:.....

Número de identificación de origen/Historia Clínica:.....

---

**Datos del paciente:**

Apellido:..... Nombres:.....

Firma del paciente\*.....

Declaración del testigo de la toma de muestra: **Esta muestra ha sido recogida y sellada en mi presencia** y la etiqueta fijada en el recipiente contiene la firma del paciente y/o familiar y/o tercero.

Firma del testigo\*.....

\*Cuando la circunstancia amerite

---

**Datos de la muestra en origen:**

Fecha de recolección:..... Hora de recolección:..... Fecha de envío:.....

Tipo de muestra:

Biológica			No biológica
<input type="checkbox"/> <b>Sangre</b> <input type="checkbox"/> Entera* <input type="checkbox"/> Plasma* <input type="checkbox"/> Suero *Anticóag. usado:..... .....	<input type="checkbox"/> <b>Orina</b> <input type="checkbox"/> Única <input type="checkbox"/> 24 hs  pH *..... Aspecto*.....  *Cuando la circunstancia amerite	<input type="checkbox"/> <b>Otras:</b> <input type="checkbox"/> Lav. gástrico <input type="checkbox"/> Vómito <input type="checkbox"/> Visceras <input type="checkbox"/> Cont. estomacal <input type="checkbox"/> Hígado <input type="checkbox"/> Otros tejidos	<input type="checkbox"/> Agua <input type="checkbox"/> Aire <input type="checkbox"/> Alimento* -- Temperatura de conservación: <input type="checkbox"/> Ambiente <input type="checkbox"/> Refrigerada <input type="checkbox"/> Suelo <input type="checkbox"/> Otros *Breve descripción..... .....

---

**Envío de la muestra:**

Apellido y nombre del profesional que remite:..... Firma:.....

Apellido y nombre del transportista:..... Firma del transportista:.....

Condiciones de envío: Temperatura: Ambiente  Refrigerada  Freezada

Observaciones: .....

---

**Recepción de la muestra en el Laboratorio:** Fecha:..... Hora:.....

Firma y aclaración del receptor de la muestra:..... N° de protocolo:.....

La muestra fue abierta por:..... Fecha:..... Hora:.....

Firma del que abrió la muestra:.....

La muestra está en buenas condiciones? Si  No

Lugar de resguardo de la muestra:.....

Observaciones: .....

Fuente: <http://www.areino.com/forensics-2>

### **2.2.7. NORMAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO**

Las normas de bioseguridad en un laboratorio de toxicología, debe realizarse respetando las normas e indicaciones que garanticen la integridad y seguridad de las personas y los bienes involucrados en la tarea. La gran cantidad de compuestos químicos de elevada peligrosidad, el uso de equipamiento eléctrico y la combustión de gases con diferentes fines corresponden algunas a algunas de las fuentes que puedan generar accidentes, para evitarlo, existen reglas, indicaciones y normas, que si se aplican y respetan adecuadamente minimizan los riesgos y garantizan un trabajo seguro.

Gran parte de la analítica Toxicológica utiliza muestras biológicas de origen humano para investigar diversas sustancias, tales como plaguicidas, solventes y especialmente drogas de uso ilícito abuso indebido de fármacos: La posibilidad de que estas muestras sean portadoras de agentes infecciosos y en particular del virus de inmunodeficiencia humana adquirida y de la hepatitis, obliga a la implementación de normas o criterios que permitan el adecuado manejo de dichas muestras, desde su obtención hasta su desecho final.

Se han relacionado únicamente a la sangre, el semen y las secreciones vaginales y/o cérvico-uterinas con la transmisión del HIV, sin embargo existen muchos otros líquidos orgánicos, tales como, líquido cefalorraquídeo, exudado pleura, pus, etc.; que pueden contener hematíes o leucocitos y ser por lo tanto, portadores del virus.

#### **A. SEGURIDAD EN EL LABORATORIO**

El trabajo en un laboratorio, máxime en un laboratorio de Toxicología, debe realizarse respetando las normas e indicaciones que garanticen la integridad y seguridad de las personas y los bienes involucrados en la tarea. La gran cantidad de compuestos químicos de elevada peligrosidad, el uso de equipamiento eléctrico y la combustión de gases con diferentes fines corresponden a algunas de las fuentes que pueden generar accidentes. Para evitarlos, existen reglas, indicaciones y normas, que



si se aplican y respetan adecuadamente minimizan los riesgos y garantizan un trabajo seguro.

Gran parte de la Analítica Toxicológica utiliza muestras biológicas de origen humano para investigar diversas sustancias, tales como plaguicidas, solventes y especialmente, drogas de uso ilícito o abuso indebido de fármacos. La posibilidad que estas muestras sean portadoras de agentes infecciosos y en particular del virus de inmunodeficiencia adquirida y de la hepatitis, obliga a la implementación de normas o criterios que permitan el adecuado manejo de dichas muestras, desde su obtención hasta su desecho final.

Se han relacionado únicamente a la sangre, el semen y las secreciones vaginales y /o cérvico - uterinas con la transmisión del HIV, sin embargo existen muchos otros humores orgánicos, tales como líquido cefalorraquídeo, exudado pleural, pus, etc., que pueden contener hematíes o leucocitos y ser por lo tanto, portadores del virus.

#### **B. Precauciones Generales:**

1. No fumar, comer, beber, mascar chicle, ni almacenar alimentos o bebidas en el laboratorio.
2. Cuidar que todos los recipientes que contienen muestras biológicas sean de materiales resistentes, posean cierre hermético, no presenten pérdidas o salpicaduras y se almacenen en lugares seguros.
3. Utilizar guantes descartables (látex o vinílicos) para manejar las muestras y lavarse las manos con abundante agua y jabón finalizadas la tarea.
4. Utilizar anteojos de seguridad y máscara protectora de nariz y boca para el manejo de muestras que puedan producir salpicaduras, proyecciones o liberar gases que arrastren el material sólido.
5. Utilizar únicamente pipetas automáticas, de preferencia desechables para cargar las muestras.
6. Tener siempre a mano un bidón con solución de hipoclorito de sodio (1:10).

7. Siempre que sea posible, instalar una cabina para manejar las muestras biológicas.
8. Limpiar de inmediato cualquier derrame o salpicadura utilizando papel absorbente el cual se desechará en un recipiente debidamente rotulado para tal efecto, lavando el área afectada con hipoclorito de sodio.
9. Trabajar bajo campana de extracción cuando se manipulen solventes volátiles.
10. Evaporar solventes inflamables, como éter o alcoholes, solo con plancha o camisa calefactora y bajo campana.

### **C. Contacto Directo o Salpicaduras con Sangre.**

#### 1.- Contaminación con piel intacta:

- lavar con abundante agua y jabón
- lavar con solución diluida de hipoclorito de sodio.

#### 2.- Contaminación de piel no intacta, membranas mucosas, punción con aguja o cortes en general:

- lavar con abundante agua y jabón,
- lavar con solución de agua oxigenada al 3%,
- lavar con solución diluida de hipoclorito de sodio,
- si el ingreso es a través de los ojos, lavar con abundante solución fisiológica. Retirar lentes de contacto si los hubiese.
- poner de inmediato en contacto con el centro médico especializado más cercano y notificar el accidente a fin de recibir el tratamiento correspondiente.

### **D. Derrames o Roturas de Envases.**

1. Absorber el material derramado mediante el uso de papel adecuado, usando guantes.

2. Lavar toda el área y los elementos utilizados con hipoclorito de sodio (1:10),
3. Desechar todos los materiales utilizados en una bolsa o recipiente debidamente identificado.

### **E. Compuestos que Liberan Cloro.**

La cantidad de cloro libre en la solución, necesaria para desinfectar correctamente, es de 5 g por litro y se obtiene con las soluciones acuosas los siguientes compuestos en las concentraciones indicadas a continuación:

- Hipoclorito de sodio (5% cloro disponible) 10%
- Hipoclorito de calcio (70% cloro disponible) 0,7%
- Dicloroisocianato sódico (60% cloro disponible) 0,9%
- Cloramina (25% cloro disponible) 2,0%

### **F. Esterilización**

A continuación se transcriben las condiciones de esterilización que garantizan la inactivación (muerte) de todos los virus, bacterias y esporas:

- Esterilización por vapor a presión durante 20 minutos, a 1 atm, 121° C
- Esterilización por calor seco durante 2 horas a 170° C

Es fundamental que todo el personal del laboratorio conozca, recuerde, utilice y haga cumplir estas reglas como una forma eficaz de desarrollar una tarea segura para el operador y su entorno. Todos los elementos (envase, materiales descartables, algodones, papeles absorbentes, etc.) que de alguna manera estuvieron en contacto con muestras biológicas, deben ser almacenados en lugares seguros, debidamente identificados y se debe garantizar que su disposición final no representa ningún riesgo para la comunidad

## **G. Precaución con Personas Intoxicadas.**

El personal que asiste a víctimas intoxicadas, debe evitar en todo momento el contacto directo con las ropas altamente contaminadas, así como con el vómito. Siempre usará guantes de nitrilo para la descontaminación del paciente, el lavado de la piel y del cabello.

Los guantes de látex no ofrecen protección alguna. Procure el uso de botas y delantal impermeable, por parte del personal asistente.

La descontaminación debe proceder simultáneamente con cualquier medida de resucitación o con la administración del antídoto necesario para preservar la vida.

Como primera medida la ropa contaminada debe ser prontamente removida.

Se eliminará la contaminación ocular lavando con abundante cantidad de agua limpia, a baja presión.

De no haber síntomas evidentes en un paciente que se mantiene alerta y físicamente capaz, puede ser apropiado realizar una ducha de 15 minutos con el lavado de la cabeza con jabón, al mismo tiempo que se mantiene la observación cuidadosa del mismo, para reconocer precozmente la presencia de síntomas de envenenamiento que suelen aparecer de forma abrupta.

Lavar con especial cuidado los restos de plaguicida que puedan haber quedado en los pliegues de la piel o debajo de las uñas.

Una vez concluida la descontaminación, se vestirá al paciente con ropa limpia, y la contaminada se dispondrá adecuadamente en bolsas cerradas. Los zapatos de cuero contaminados deberán ser descartados.

Ante la ingesta reciente de compuestos cumarínicos, se procederá inmediatamente a realizar las medidas de descontaminación gastrointestinal: vaciado gástrico, seguido de lavado y administración de vitamina K1.

## **2.2.8. AUTOPSIA**

### **A. CONCEPTO.**

Etimológicamente, la palabra autopsia deriva de Auto = por sí mismo; y Opsi = observar. Entonces es el estudio del cadáver que hace el examinador con su vista. Este término es sinónimo de necropsia, pero en nuestro medio se lo utiliza para el examen cuando el cadáver es exhumado. La autopsia es el conjunto de operaciones quirúrgicas efectuadas sobre un cadáver con el fin de establecer la causa, mecanismo y data de la muerte . "Las tres cuartas partes de la autopsia se la efectúa en el lugar del hecho"

### **B. OBJETIVOS DE AUTOPSIA**

Tiene los siguientes objetivos.

1. Determinar la causa de la muerte.
2. Establecer el mecanismo de la muerte.
3. Establecer la data de la muerte.
4. Ayuda a la identificación del cadáver.

### **C. CASOS DE AUTOPSIA OBLIGATORIA.**

1. Muertes violentas: homicidio, suicidio, accidentes.
2. Muerte súbita. Ej. Paro cardiaco.
3. Muerte natural sin tratamiento médico reciente.
4. Muerte natural con tratamiento en circunstancias sospechosas.
5. Muerte de madre por aborto provocado.
6. Infanticidio.
7. Muerte de reclusos.
8. Cadáveres inhumados en el extranjero.

En nuestro medio no existe una reglamentación para el tratamiento de cadáveres, por ello en la morgue existen cadáveres en diferentes etapas de putrefacción.

#### **D. NORMAS PARA UNA AUTOPSIA.**

Las autopsias deben ser:

**Metódicas.**- Seguir siempre un mismo método o técnica de acuerdo a la escuela.

**Completa.**- Se deben abrir siempre las tres cavidades: cabeza, tórax y abdomen.

**Sistemática.**- Se efectúa en todo cadáver que no tenga causa clara de la muerte.

**Ilustrativa.**- Se deberá anotar y documentar todo lo encontrado y observado, complementando con dibujos, fotos, videos, también agregar los resultados de los exámenes de laboratorio solicitado.

#### **E. EXÁMEN INTERNO O AUTOPSIA PROPIAMENTE DICHA.**

Es un estudio pericial que consiste en la apertura del cadáver, realizada por un patólogo forense. Se desarrolla en el siguiente orden:

**a) Descripción Externa,** de las características somáticas, sexo, edad, constitución, vestimenta. Luego el examen segmentario describiendo parte por parte, desde la cabeza hasta los pies).

**b) Examen cadavérico,** para determinar data definitiva de la muerte en base a la observación y verificación de los fenómenos cadavéricos post-mortem, como la rigidez, lividez, putrefacción, temperatura etc.

También existen otros métodos, que se realizan en la autopsia, como el examen de contenido gástrico, observando el estomago y si se ven alimentos identificables, la

muerte ha sido de 0 a 2 horas. Si son poco identificables, fue de 2 a 4 horas y si no se identifican, fue de 4 a 6 horas, si el estómago está vacío fue más de 6 horas.

### **2.2.9. MUESTRA IDEAL (CONTENIDO GÁSTRICO)**

El contenido gástrico es valioso como muestra por 2 razones principales:

- Por un lado, tras una sobredosis o la ingestión oral de una sustancia tóxica, la concentración de la sustancia en el estómago permanece relativamente alta, incluso después de que una gran cantidad haya sido ya absorbida.

Por otro lado, las sustancias presentes en el estómago no han sido aún biotransformadas por el organismo, por lo que la sustancia parental puede ser aún detectada. La detección en sangre de muchas sustancias puede verse dificultada cuando está es sometida en el organismo a una intensa distribución. Con la muestra de contenido gástrico también evitaríamos este problema.

La principal desventaja del contenido gástrico es su composición, que puede ir desde un contenido acuoso hasta semisólido, y en el que el tóxico no se encuentra habitualmente repartido de forma homogénea.

Puede darse el caso, por lo tanto, de que el veterinario tome una alícuota que contenga una baja concentración.

Es por ello que se recomienda el envío al laboratorio de la totalidad del contenido gástrico (o al menos una submuestra de 200g), ya que en el laboratorio se procederá en primer lugar a una homogenización del mismo.

Ante la ingesta reciente de compuestos cumarínicos, se procederá inmediatamente a realizar las medidas de descontaminación gastrointestinal: vaciado gástrico, seguido de lavado y administración de vitamina K1.

GISBERT, Javier, Medicina Legal y Toxicología. (3era ed.). Fundación García Muñoz.

## 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

**ABSORCIÓN (biológica):** Proceso de entrada o transporte, activo o pasivo, de una sustancia al interior de un organismo; puede tener lugar a través de diferentes vías.

**ADICCIÓN:** Cualquier actividad que el individuo no sea capaz de controlar, que lo lleve a conductas compulsivas y perjudique su calidad de vida, como por ejemplo puede existir, adicción al sexo, al juego (ludopatía), a la pornografía, a la televisión, a las nuevas tecnologías (tecnofilia), etc.

**ADSORCIÓN:** Proceso por el cual una sustancia química queda total o parcialmente retenida en algún medio que impide que dicha sustancia siga distribuyéndose.

**ALCALOIDE:** Son muy usados en farmacología y en medicina (analgésicos anestésicos, hipnóticos, cardiotónicos, hipotensores, tranquilizantes, alucinógenos, herméticos, etc.).

**ANTICOAGULANTE:** Medicamento que ayuda a prevenir la formación de coágulos de sangre. También se llama diluyente de la sangre.

**BIOTRANSFORMACIÓN:** Cualquier transformación química de una sustancia producida por organismos vivos o por preparaciones obtenidas de estos.

**CROMATOGRAFÍA:** Es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia y la física.

**CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA:** La cromatografía se define como la separación de una mezcla de dos o más compuestos por distribución entre dos fases, una de las cuales es estacionaria y la otra una fase móvil.

**COAGULACIÓN SANGUÍNEA:** Proceso de la interacción de los factores que da lugar a un coágulo insoluble de fibrina.



**CUMARINAS:** Sustancias sintéticas o naturales relacionadas con la camarina, la delta-lactona del ácido cumarínico. Las distintas cumarinas tienen una amplia variedad de acciones y usos como el de anticoagulantes, adyuvantes farmacéuticos, indicadores y reactivos, sustancias foto reactivas y agentes antineoplásicos

**EMBOLIA:** bloqueo de un vaso sanguíneo por un coágulo de sangre o por materia extraña transportada por la corriente sanguínea desde un sitio lejano.

**EQUIMOSIS:** (Moretón) es una coloración causada por el sangrado superficial dentro de la piel o de las membranas mucosas como la boca, debido a la ruptura de vasos sanguíneos.

**EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO:** También conocida extracción de disolvente, es un proceso químico empleado para separar una mezcla utilizando la diferencia de solubilidad de sus componentes entre dos líquidos inmiscibles.

**FACTORES DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA:** Sustancias endógenas, usualmente proteínas, que intervienen en los procesos de coagulación sanguínea.

**FIBRINA.-** Una proteína derivada del Fibrinógeno en presencia de Trombina, que forma parte del coágulo sanguíneo.

**FIBRINÓGENO:** Glicoproteína plasmática coagulada por la trombina, compuesta de un dímero de tres pares no idénticos de cadenas polipéptidas (alfa, beta, gamma) unidas entre sí por enlaces de disulfuro. La coagulación del fibrinógeno es un cambio sol-gel que involucra reordenamientos moleculares: en tanto el fibrinógeno resulta dividido por la trombina para formar polipéptidos A y B, la acción proteolítica de otras enzimas da lugar a diferentes productos de degradación del fibrinógeno

**HIPERFLEXIA:** Es una reacción del sistema nervioso autónomo (involuntario) a la estimulación excesiva.

**INTOXICACIÓN:** Proceso patológico causado por sustancias químicas y caracterizadas por desequilibrio fisiológico secundario a modificaciones bioquímicas en el organismo.

**METABOLITO:** Cualquier producto intermedio o final resultante del metabolismo.

**PLAGA:** El término plaga incluye animales, plantas, o microorganismos peligrosos, destructivos o problemáticos para los seres humanos. Organismo que puede dañar la salud, atacar a los alimentos u otros productos esenciales para la humanidad o que afecta de manera adversa a los seres vivos.

**PLAGUICIDAS:** Son sustancias naturales o sintéticas cuyo propósito es evitar, destruir, repeler, mitigar cualquier plaga, o como cualquier agente físico, químico o biológico que destruirá a una planta o animal plaga indeseable.

**PESTICIDA:** Producto químico que se destina a combatir animales o plantas perjudiciales.

**PROTEÍNAS:** Poli péptidos lineales sintetizados en los ribosomas y que ulteriormente pueden ser modificados, entrecruzados, divididos o unidos en proteínas complejas, con varias subunidades. La secuencia específica de aminoácidos determina la forma que tomará el poli péptido durante el pliegue de proteína.

**SANGRE:** Líquido corporal que circula por el sistema vascular (vasos sanguíneos). La sangre total incluye el plasma y las células sanguíneas.

**TÓXICO:** Cualquier sustancia que ejerza una acción nociva sobre organismos vivos.

**TOXINA:** Tóxico de origen biológico.

**TOXICOCINÉTICA:** La Quimiobiocinética o Toxicocinética estudia los cambios que ocurren a través del tiempo, en la absorción, distribución, biotransformación y eliminación de los tóxicos en el organismo.

**TOXICOLOGÍA:** Es el estudio científico de estos elementos, su comportamiento, su metabolismo, sus mecanismos de acción, las lesiones que ellos ocasionan, su forma de acumulación, excreción y el tratamiento adecuado para proteger el organismo afectado.

**TOXICOLOGÍA LEGAL:** Es la parte que recoge y traduce todos los datos y conclusiones de la toxicología y las pone a disposición de los poderes ejecutivos y legisladores (toxicología reguladora).

**TROMBOSIS:** Formación y desarrollo de un trombo o coágulo en los Vasos Sanguíneos

**VENENO:** Toxina animal utilizada como autodefensa o para atacar y liberada normalmente por mordedura o picadura. También tóxico utilizado intencionadamente para suicidarse.

**WARFARINA:** (Camarina) es un medicamento anticoagulante que se administra oralmente, y muy rara vez por inyección.

VALENCIA ICAZA, Diccionario de Introducción a la Criminalística. Ed. Grijalbo, Bogotá (2002)

## **2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES**

- **HIPÓTESIS**

La determinación de compuestos cumarínicos, mediante el método de cromatografía en capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico) en cadáveres es importante y substancial ya que en base a los respectivos análisis en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, determinamos si la persona falleció ya sea en forma accidental o por un manejo inapropiado de los mismos.

- **VARIABLES**

- **VARIABLE INDEPENDIENTE**

Método de cromatografía de capa fina

- **VARIABLE DEPENDIENTE**

Determinación de compuestos cumarínicos

## **2.5 OPERALIZACIÓN DE VARIABLES**

**TABLA N°11.**  
**OPERALIZACIÓN DE VARIABLES**

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIAS	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<b>V. INDEPENDIENTE</b>  <b>Método de cromatografía de capa fina</b>	<p>Es un método cualitativo, confirmatorio de separación a través del cual los tóxicos interactúan entre una fase móvil y una fase estacionaria, mediante el principio de capilaridad o adsorción.</p>	<p>Método cualitativo, confirmatorio de separación</p>	<p>°Indicadores de cromatografía de gases. °Separación de compuestos cumarínicos. °Determinar factores de retención mediante el revelado físico o químico</p>	<p><b>Guía de observación:</b>  <b>Observación</b></p>
<b>V. DEPENDIENTE</b>  <b>Compuestos cumarínicos</b>	<p>Es un pesticida que se utiliza para eliminar, controlar o atenuar la presencia o acción de los roedores. Son sustancias anticoagulantes, es decir, impiden que se produzcan factores de la coagulación sintetizados a nivel hepático, produciendo hemorragias internas espontáneas.</p>	<p>Sustancias anticoagulantes</p>	<p>°Prolonación del TP y TTP  °Hemorragias masivas</p>	<p><b>Guía de observación:</b>  <b>Observación</b></p>

## **CAPITULO III**

### **3.1 MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1.1 MÉTODO CIENTÍFICO**

El método que se realizará en la presente investigación será método deductivo e inductivo que es aquel que va de lo general a lo particular.

#### **3.1.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Se realizará a través de una investigación descriptiva, explicativa e investigativa.

#### **3.1.3 DISEÑO**

Investigación de campo no experimental

### **3.2 TIPO DE ESTUDIO**

Transversal

### **3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA**

El número de muestras de pacientes en estudio serán 45 que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo en el periodo de octubre a enero del 2011.

Por ser el universo de estudio relativamente pequeño no procederá a extraer muestra y se trabajará con toda la población.

### **3.4 TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE DATOS**

Se utilizará la técnica de observación y como instrumentos investigaciones bibliográficas, en internet, historias clínicas, artículos gráficos, tabulaciones.

### **3.5 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

Se realizará un análisis cualitativo.

Exploración bibliográfica, internet, historias clínicas, artículos y otros

Gráficos estadísticos

Evaluación de resultados

### 3.6. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS EN MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO.

**Fig.Nº1 MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS**



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

**Fig.Nº2 MUESTRA IDEAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS (CONTENIDO GÁSTRICO)**



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

**Fig.Nº3 ESTÁNDARES UTILIZADOS**



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy



**Fig.Nº4 ESTÁNDARES CUMARÍNICOS DE DIFERENTES POLARIDADES.**

A.



B.



C.



D.



E.



- A. Estándar Klerat (Polar)
- B. Estándar Instantáneo (Polar)
- C. Estándar Campeón (Polar)
- D. Estándar Vertox (Polar)
- E. Estándar Ratolí (Apolar)

Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

**A. PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES**

**Fig.Nº5 TRITURACIÓN Y PESO DE LOS ESTÁNDARES**

**A.-**



**B.-**



**C.-**



**D.-**



**E.-**



**F.-**



G.

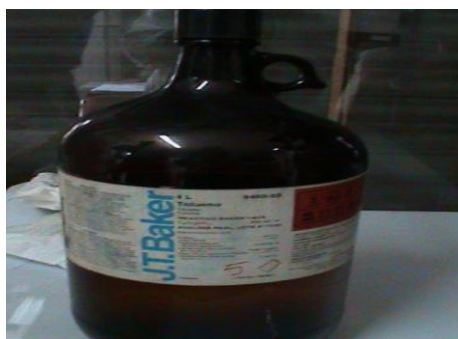


Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

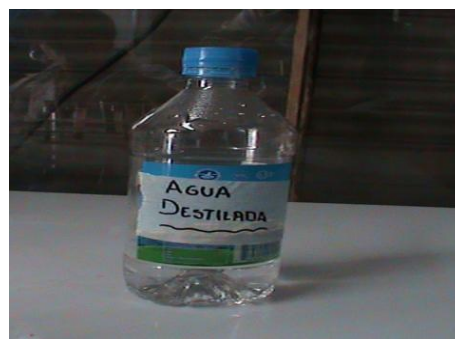
- A. Se toma una cantidad suficiente de cada uno de los estándares.
- B. Se procede a la trituración y peso de cada uno de ellos:
- C. Estándar Instantáneo
- D. Estándar Klerat
- E. Estándar Campeón
- F. Estándar Ratolín
- G. Estándar Vertox

### Fig.Nº6 SOLVENTES PARA LA PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE ESTÁNDARES

A.-



B.-

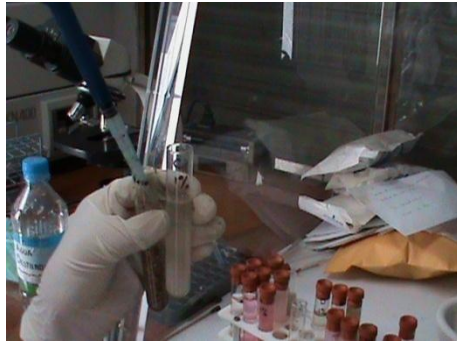


Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

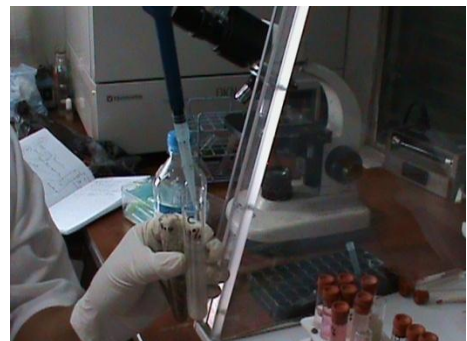
- A. Se utiliza como solvente apolar: tolueno
- B. Se utiliza como solvente polar: agua destila

## Fig.Nº7 PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE ESTÁNDARES

A.-



B.-



C.-



D.-



E.-



F.-



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A. Se toma la muestra de estándar.
- B. Colocar la muestra estándar en la dilución correspondiente ya sea ésta polar o apolar.
- C. Se obtiene las diluciones apolares.
- D. Se obtiene las diluciones polares.

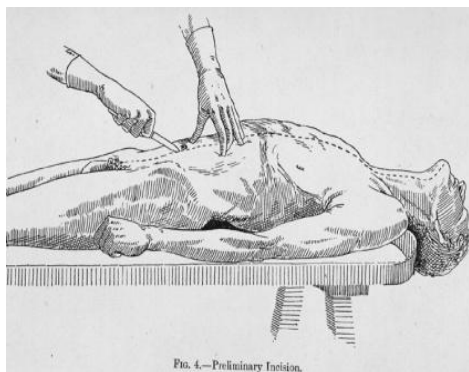
- E. Se ordena las diluciones según el porcentaje de: 1%, 5%, 10%.
- F. Se tiene listas las diluciones para la cromatografía de capa fina.

## B. TOMA DE MUESTRA

La mejor muestra para una investigación toxicológica en cadáver es el contenido gástrico, ya que el tóxico es ingerido por vía oral y obtenemos en mayor concentración el tóxico a estudiar.

**Fig.8 EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA**

**A.**



Fuente: [www.eldiario.com.ec/noticias-manabi-ecuador](http://www.eldiario.com.ec/noticias-manabi-ecuador)

**B.-**



Fuente: Dr. Moncayo Wilson

**C.**



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

**D.-**

### Rotulación:

- Nombre completo del paciente, edad
- Código respectivo
- Cantidad de muestra
- Tipo de muestra
- Nombre del médico o persona que tomó la muestra
- Nombre de la persona que recibe la muestra
- Día y la hora de recolección
- Previo al análisis, las muestras biológicas deben almacenarse a 4 °C.

Fuente: Dr. Moncayo Wilson

- A. Se realiza la autopsia.
- B. Se extrae el contenido gástrico.
- C. Se tiene listas las muestras de contenido gástrico para ser analizadas.
- D. Rotulado de la muestra.

### C. CADENA DE CUSTODIA

Fig.Nº9 RECONOCIMIENTO DEL LUGAR DE LOS HECHOS

A.-



B.-



Fuente:Reconocimiento+del+lugar+de+los+hechos+toxicologia&hl=en&host=www.google.com

C.-



D.-



Fuente: Pazmiño Gaby y Ortiz Karina

**E.-**



**F.-**



**G.-**



Fuente: Pazmiño Gaby y Ortiz Karina

**H.-**



Fuente: Dr. Moncayo Wilson

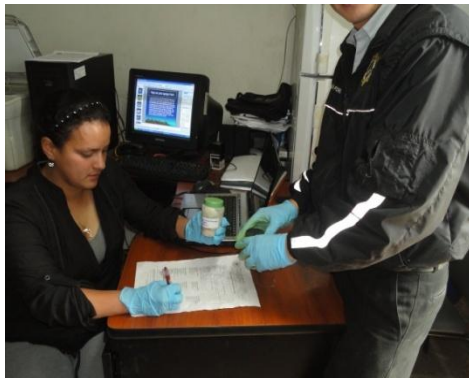
- A.** Reconocimiento del lugar de los hechos e identificación del cadáver.
- B.** Ambulancia de Medicina legal.
- C.** Anfiteatro de Riobamba.
- D.** Levantamiento del cadáver.
- E.** Cadáver en el cual se va a proceder la autopsia.
- F.** Autopsia.
- G.** Apertura del sitio para la respectiva toma de muestra.
- H.** Sitio para la toma de la muestra de contenido gástrico.

## D. RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

- Se toma el nombre de la persona que entrega las muestras
- Se coloca la fecha y hora de entrega.
- Se chequea el número de referencia de cada muestra y constatar con el formulario enviado.
- Se abre los recipientes para comprobar que identificación y descripción son correctas.
- Si fuera posible, se toma fotografía de las muestras.
- Llenar el Formulario

**Fig. N°10 RECEPCIÓN DE LAS MUESTRAS**

**A.-**



**B.-**



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A.** Se codifica las muestras que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo.
- B.** Las muestras recibidas (cont. gástrico), ya codificadas.



## E. EXTRACCIÓN

Fig.Nº11 PASOS PARA REALIZAR EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN  
LÍQUIDO – LÍQUIDO

A.-



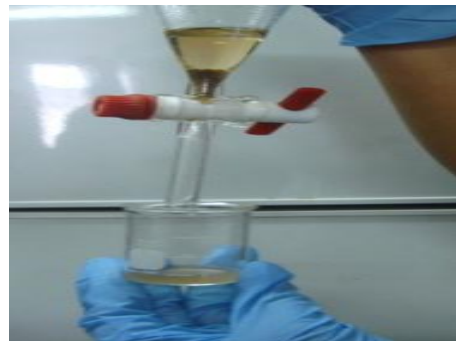
B.-



C.-



D.-



E.-



F.-



**G.-**



**H.-**



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A.** Se arregla los materiales para la extracción.
- B.** Se coloca en un embudo de separación los diferentes tóxicos en una proporción 1-1:  
Muestra inicial: mínimo 30 ml (Contenido gástrico)  
Solvente extractor: 30 ml (Éter etílico)
- C.** Se agita 5 minutos fuerte y constante, dejar en reposo en el embudo de separación por 3 minutos.

**Existe la formación de dos fases:**

Se desecha la parte inferior que no es de importancia y nos quedamos con la parte superior (parte orgánica).

- D.** Se coloca la parte orgánica en un vaso de precipitación.
- E.** Se obtiene la muestra, lista para evaporar.
- F.** Se evapora sequedad con éter etílico a una temperatura máxima 50°C.
- G.** Se redisuelve con éter etílico alrededor de 1 ml y agitamos bien.
- H.** Se tiene la muestra lista para el siguiente paso que es la cromatografía de capa fina.

## F. PREPARACIÓN DE PLACAS DE SILICA GEL.

Fig. N°12 PASOS PARA PREPARAR PLACAS DE SILICA GEL

A.-



B.-



C.-



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A. Se mide la placa de sílica gel: 10cm de altura y el ancho depende del número de muestras que van a ser analizadas, 1.5cm de alto desde la parte inferior a la parte superior de la placa, 1cm de intervalos para colocar las muestras y estándares.
- B. Se traza la línea y puntos de intervalos no muy acentuados mediante el ayuda de un lápiz.
- C. Se tiene la placa de sílica gel lista para usar en la cromatografía de capa fina.

## G. PREPARACIÓN DE CAPILARES

### Figs.Nº13 PASOS PARA LA PREPARACIÓN DE LOS CAPILARES

A.-



B.-



C.-



D.-



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A. Se prepara los materiales (capilares y mecheros).
- B. Se pasa los capilares por el mechero.
- C. Se estira los mismos para obtener un menor diámetro del capilar.
- D. Se tienen los capilares listos para utilizarlos en la cromatografía de capa fina.

## H. SISTEMA DE SOLVENTES:

**Tabla N°12 SISTEMA DE SOLVENTES 1 PARA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS**

SISTEMA # 1	
ÉTER ETÍLICO	1
ACETONA	1

Éter etílico: Acetona 1:1

**Tabla N°13 SISTEMA DE SOLVENTES 2 PARA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS**

SISTEMA # 2	
TOLUENO	1
ÉTER ETÍLICO	1
ÁCIDO ACÉTICO	1

Tolueno: Éter etílico: ácido acético al 10% 1:1:1

**Tabla N°14 SISTEMA DE SOLVENTES 3 PARA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS**

SISTEMA # 3	
HEXANO	4
ACETONA	1

Hexano: Acetona 4:1

**Tabla N°15 SISTEMA DE SOLVENTES 4 PARA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS**

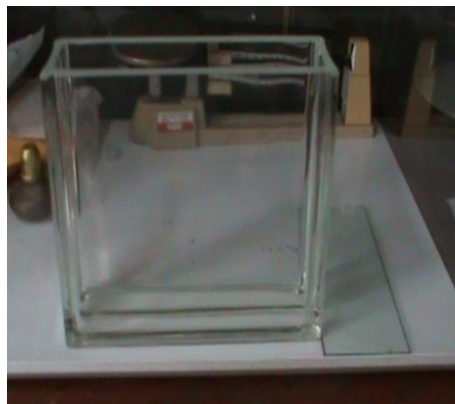
SISTEMA # 4	
CLOROFORMO	4
ACETONA	1

Cloroformo: Acetona 4:1

**NOTA:** Los sistemas de solventes que brindaron mejor separación y resultados son el Sistema #1 y #4.

**Fig. N°14 PASOS PARA REALIZAR LA CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.**

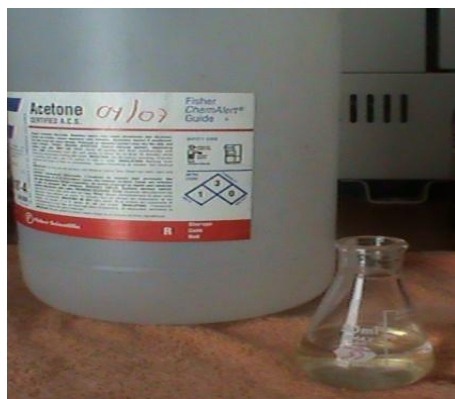
**A.-**



**B.-**



**C.-**



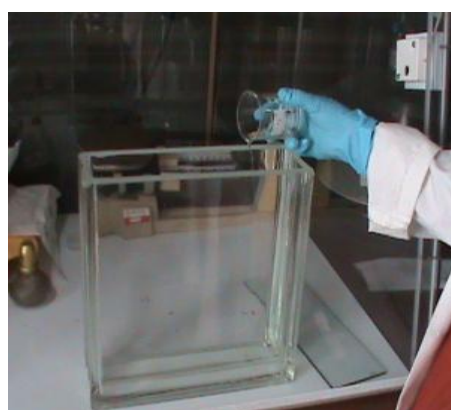
**D.-**



**E.-**



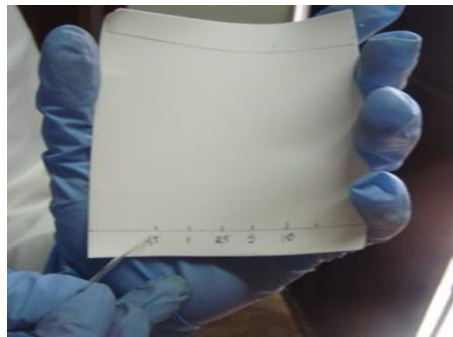
**F.-**



G.-



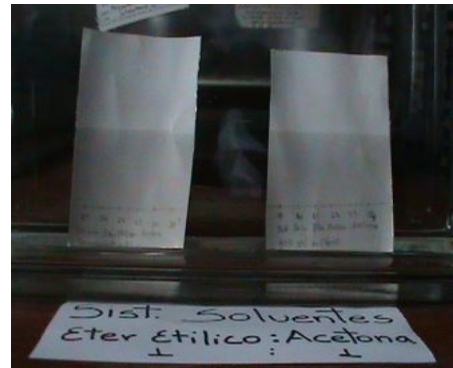
H.-



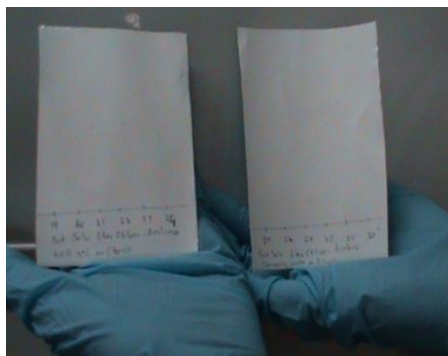
I.-



J.-



K.-



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

A.-Se utiliza una cuba cromatográfica.

B.-Se requiere los siguientes solventes para el recorrido.

C.-Se mide el volumen de acetona.

**D.-** Se mide el volumen de éter etílico.

**E.-** Se le mezcla el éter etílico – acetona en proporción 1:1.

**F.-** Se coloca en la cuba cromatográfica al sistema de solventes.

**G.-** Se tapa la cuba cromatográfica para que no se evapore los solventes hasta que se coloquen las láminas de sílica gel con las muestras y estándares.

**H.-** Se coloca la muestra y el estándar en la placa de sílica gel mediante el ayuda de los capilares.

**I.-** Se ubica las placas listas en la cuba cromatográfica para que proceda el recorrido.

**J.-** Se espera que recorra la placa de sílica gel dejando un espacio antes de llegar al tope.

**K.-** Se retira la placa y se deja secar a temperatura ambiente para después proceder a los revelados.

## **I. REVELADORES:**

- **Revelado Físico**

Lámpara de luz ultravioleta a 254nm, se presentan manchas de color blancas fluorescentes.

**Fig.Nº15 PASOS DEL REVELADO FÍSICO.**

**A.-**

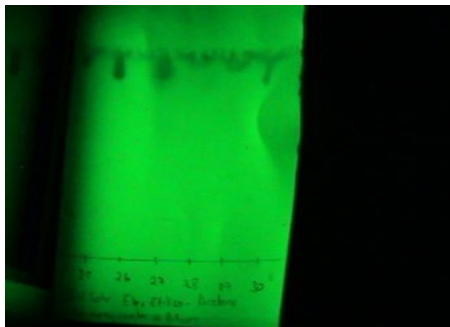


**B.-**





C.-



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A. Se utiliza una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm.
- B. Se coloca la placa en la luz ultravioleta para observar el recorrido y formación de máculas en las láminas de sílica gel.
- C. Se observa las máculas que se han formado con la cromatografía de capa fina.
  - **Revelado Químico**  
El revelado químico se realiza con las muestras y estándares, presentan unas máculas de color amarillo.

### FIG.Nº16 PREPARACIÓN DEL REVELADO QUÍMICO.

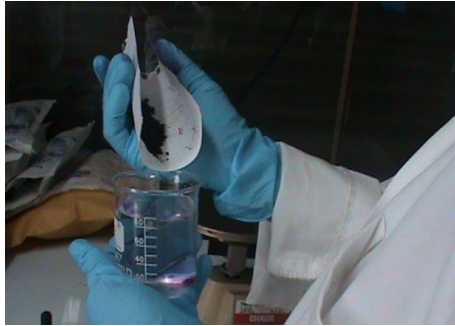
A.



B.



C.-



D.-



E.-



F.-



G.-

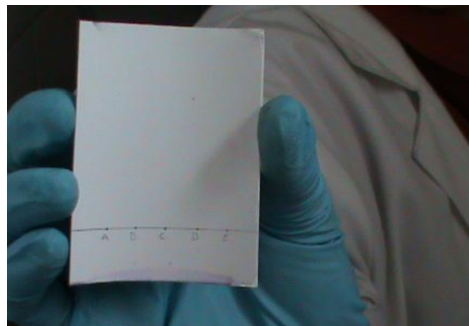


Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

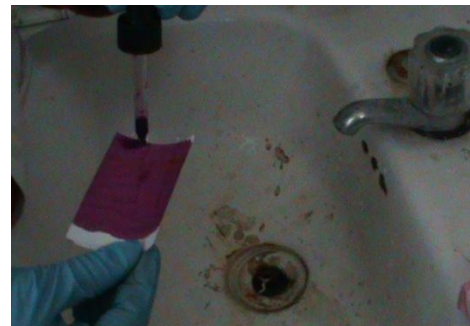
- A. Materiales para la preparación del  $KMnO_4$ .
- B. Se pesa el  $KMnO_4$ .
- C. Se coloca en un vaso de precipitación con el agua destilada.
- D. Se disuelve bien.
- E. Se coloca en el frasco.
- F. Se tapa el frasco bien.
- G. Se tiene listo el revelador para ser utilizado.

## FigN°17 PASOS PARA EL REVELADO QUÍMICO

A.-



B.-



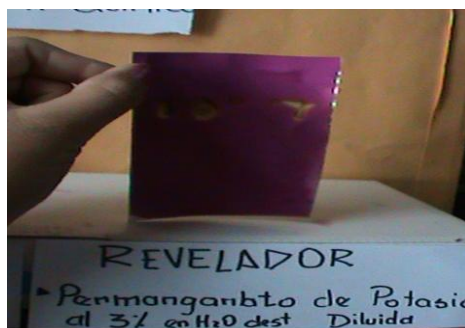
C.-



D.-



E.-



Fuente: Pilco Mariela y Torres Kathy

- A. Se toma la placa de sílica gel, lista con las muestras y estándares.
- B. Se procede al revelado químico en un lugar adecuado.

- C. Se deja secar la placa.
- D. Revelado con el reactivo de KOH al 5% en etanol se visualiza máculas de color amarillo.
- E. Revelado con el reactivo de  $KMnO_4$  diluido al 3%, son máculas de color amarillo dorado.

## J. CÁLCULOS:

### CÁLCULOS PARA LA PREPARACIÓN DEL REVELADO QUÍMICO

- Preparar una solución (revelador) de permanganato de potasio ( $KMnO_4$ ) al 3% en  $H_2O$  destilada 100 ml (concentrado)

3g ( $KMnO_4$ ) aforar en 100ml de agua destilada.

### CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS FACTORES DE RETENCIÓN ( $R_f$ ):

- ❖ Calcular los  $R_f$  con la siguiente formula

$$R_f = \frac{DS}{DM}$$

**DS:**Distancia de la muestra(cm)

**DM:**Distancia del sistema de solvente(cm).

$$R_f \leq 1$$

**TABLA N°16 CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS FACTORES DE RETENCIÓN DE LOS ESTÁNDARES.**

<b>CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS R<sub>f</sub> DE LOS ESTÁNDARES, MEDIANTE DIFERENTES SISTEMAS DE SOLVENTES.</b>		
<b><u>ESTÁNDAR</u></b>	<b>❖ R<sub>f1</sub></b>	<b>○ R<sub>f2</sub></b>
<b>KLERAT</b>	<b><math>R_{f1} = \frac{1.8}{4.2} = 0.42</math></b>	<b><math>R_{f2} = \frac{3.4}{4.2} = 0.80</math></b>
<b>VERTOX</b>	<b><math>R_{f1} = \frac{3.4}{4.2} = 0.80</math></b>	<b><math>R_{f2} = \frac{1.3}{4.2} = 0.30</math></b>
<b>CAMPEÓN</b>	<b><math>R_{f1} = \frac{1.3}{4.2} = 0.78</math></b>	<b><math>R_{f2} = \frac{1.9}{4.2} = 0.45</math></b>
<b>INSTANTÁNEO</b>	<b><math>R_{f1} = \frac{3.2}{4.2} = 0.76</math></b>	<b><math>R_{f2} = \frac{1.8}{4.2} = 0.42</math></b>
<b>RATOLIN</b>	<b><math>R_{f1} = \frac{3.1}{4.2} = 0.74</math></b>	

**SIMBOLOGÍA DEL SISTEMA DE SOLVENTES UTILIZADOS:**

- ❖ Éter etílico: Acetona 1:1
- Cloroformo: Acetona 4:1

**TABLA N°17 CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS FACTORES DE RETENCIÓN DE LAS MUESTRAS.**

<b>CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS R<sub>f</sub> DE LAS RESPECTIVAS MUESTRAS, MEDIANTE DIFERENTES SISTEMAS DE SOLVENTES.</b>		
<b><u>MUESTRA</u></b>	<b>❖ R<sub>f1</sub></b>	<b>○ R<sub>f2</sub></b>
01	0.72	
02	0.83	
03	0.82	
04	0.80	0.80
05	0.82	
07	0.55	0.82
08	0.66	0.82
09	0.66	0.85
10	0.85	
12	0.86	0.73
13	0.88	0.74
14	0.86	
15	0.86	0.66
17	0.72	
18	0.72	
19	0.84	
20	0.86	
21	0.93	

<b>22</b>	<b>0.93</b>	<b>0.94</b>
<b>23</b>	<b>0.93</b>	
<b>24</b>	<b>0.83</b>	
<b>25</b>	<b>0.92</b>	
<b>26</b>	<b>0.92</b>	
<b>27</b>	<b>0.85</b>	
<b>28</b>	<b>0.93</b>	
<b>29</b>	<b>0.91</b>	
<b>30</b>	<b>0.89</b>	
<b>33</b>	<b>0.84</b>	
<b>34</b>	<b>0.73</b>	<b>0.94</b>
<b>35</b>	<b>0.88</b>	
<b>36</b>	<b>0.14</b>	<b>0.83</b>
<b>38</b>	<b>0.85</b>	
<b>41</b>	<b>0.85</b>	
<b>42</b>	<b>0.66</b>	<b>0.85</b>
<b>43</b>	<b>0.71</b>	<b>0.88</b>
<b>44</b>	<b>0.77</b>	<b>0.87</b>
<b>45</b>	<b>0.66</b>	<b>0.85</b>

**SIMBOLOGÍA DEL SISTEMA DE SOLVENTES UTILIZADOS:**

- ❖ Éter etílico: Acetona 1:1
- Cloroformo: Acetona 4:1

**DATOS DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011**

**TABLA N°18.**

<b>MES</b>	<b>NÚMERO</b>	<b>SEXO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>NOVIEMBRE</b>	1	MASCULINO	POSITIVO
	2	FEMENINO	POSITIVO
	3	MASCULINO	POSITIVO
	4	MASCULINO	POSITIVO
	5	MASCULINO	POSITIVO
	6	MASCULINO	NEGATIVO
	7	MASCULINO	POSITIVO
	8	FEMENINO	POSITIVO
	9	FEMENINO	POSITIVO
	10	MASCULINO	POSITIVO
	11	MASCULINO	POSITIVO
	12	FEMENINO	POSITIVO
	13	FEMENINO	POSITIVO
	14	MASCULINO	POSITIVO
<b>DICIEMBRE</b>	15	FEMENINO	POSITIVO
	16	MASCULINO	NEGATIVO
	17	MASCULINO	POSITIVO
	18	MASCULINO	POSITIVO
	19	FEMENINO	POSITIVO
	20	MASCULINO	POSITIVO
	21	MASCULINO	POSITIVO



<b>ENERO</b>	22	FEMENINO	POSITIVO
	23	MASCULINO	POSITIVO
	24	MASCULINO	POSITIVO
	25	MASCULINO	POSITIVO
	26	MASCULINO	POSITIVO
	27	MASCULINO	NEGATIVO
	28	MASCULINO	POSITIVO
	29	MASCULINO	POSITIVO
	30	FEMENINO	POSITIVO
	31	FEMENINO	NEGATIVO
	32	MASCULINO	POSITIVO
	33	MASCULINO	POSITIVO
<b>FEBRERO</b>	34	FEMENINO	POSITIVO
	35	FEMENINO	POSITIVO
	36	MASCULINO	POSITIVO
	37	FEMENINO	NEGATIVO
	38	MASCULINO	POSITIVO
	39	FEMENINO	POSITIVO
	40	FEMENINO	NEGATIVO
	41	FEMENINO	POSITIVO
	42	FEMENINO	POSITIVO
	43	MASCULINO	POSITIVO
	44	MASCULINO	POSITIVO
	45	FEMENINO	POSITIVO

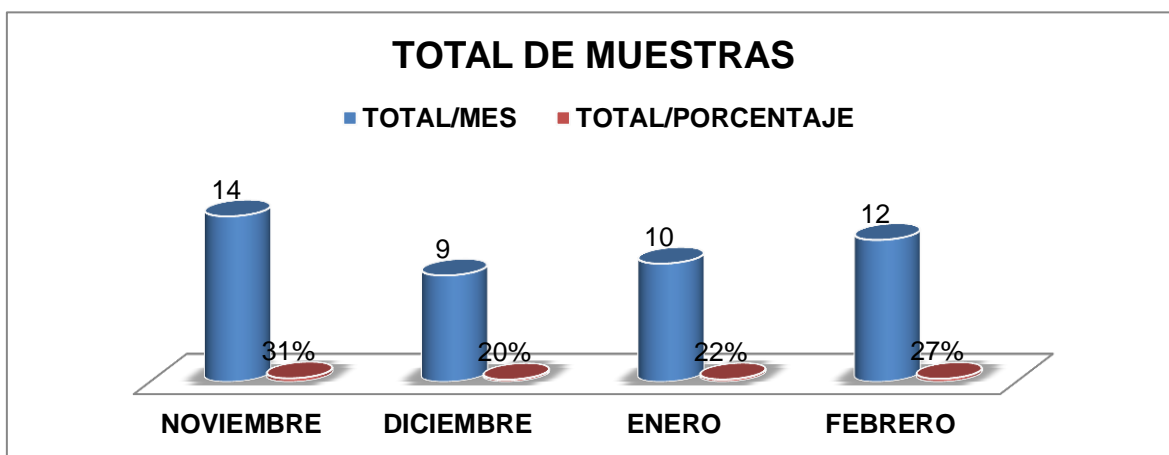
Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

**TOTAL DE MUESTRAS QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011**

**TABLA N° 19.**

<b>EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011</b>		
<b>MES</b>	<b>TOTAL /MES</b>	<b>PORCENTAJE/MES</b>
<b>NOVIEMBRE</b>	14	31%
<b>DICIEMBRE</b>	9	20%
<b>ENERO</b>	10	22%
<b>FEBRERO</b>	12	27%
<b>TOTAL</b>	45	100%

**GRÁFICO#4**



Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

**INTERPRETACIÓN:**

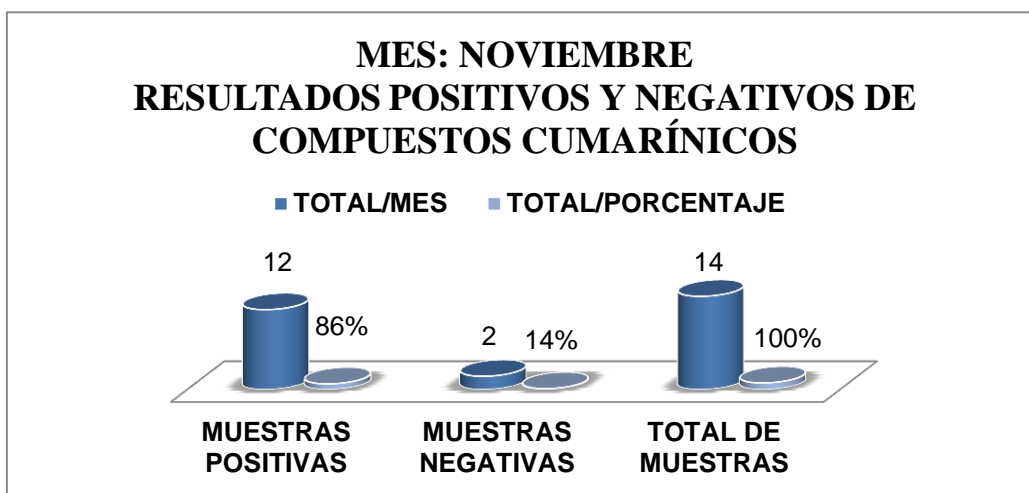
Obtuvimos en total: 45 muestras (lavados Gástricos) de cadáveres que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo durante el periodo de noviembre del 2010 a febrero del 2011, todas con posible presencia de compuestos cumarínicos anticoagulantes de los cuales en el mes de Noviembre llegaron 14 muestras que corresponden al 31%, en Diciembre llegaron 9 muestras que corresponden al 20%, en Enero llegaron 10 muestras q corresponden al 22%, en Febrero llegaron 12 muestras que corresponden al 27%.

**DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES, DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010**

**TABLA N° 20.**

DATOS DEL MES DE NOVIEMBRE DEL 2010		
MUESTRAS	RESULTADOS/MES	PORCENTAJE/MES
MUESTRAS POSITIVAS	12	86%
MUESTRAS NEGATIVAS	2	14%
TOTAL DE MUESTRAS	14	100%

**GRÁFICO#5**



Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

**INTERPRETACIÓN:**

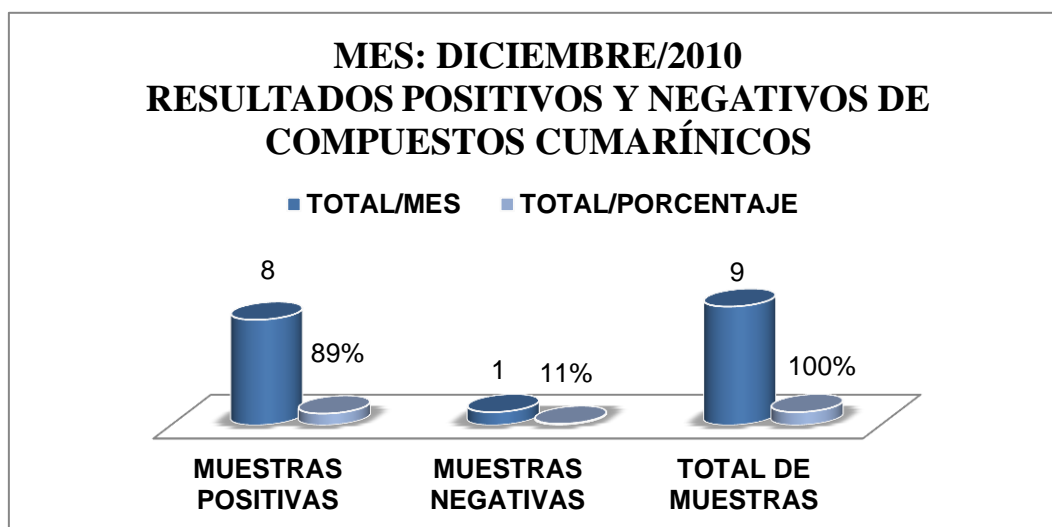
En el mes de Noviembre del 2010 ingresaron 14 muestras (lavados Gástricos) que equivalen al 100%, de cadáveres que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, todas con posible presencia de compuestos cumarínicos anticoagulantes de los cuales 12 muestras resultaron positivas que equivale al 86%, 2 muestras negativas que equivale al 14%.

**DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES, DURANTE EL PERÍODO DE DICIEMBRE DEL 2010**

**TABLA N°21.**

<b>DATOS DEL MES DE DICIEMBRE DEL 2010</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADOS/MES</b>	<b>PORCENTAJE/MES</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	8	89%
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	1	11%
<b>TOTAL DEL MUESTRAS</b>	9	100%

**GRÁFICO#6**



Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

**INTERPRETACIÓN:**

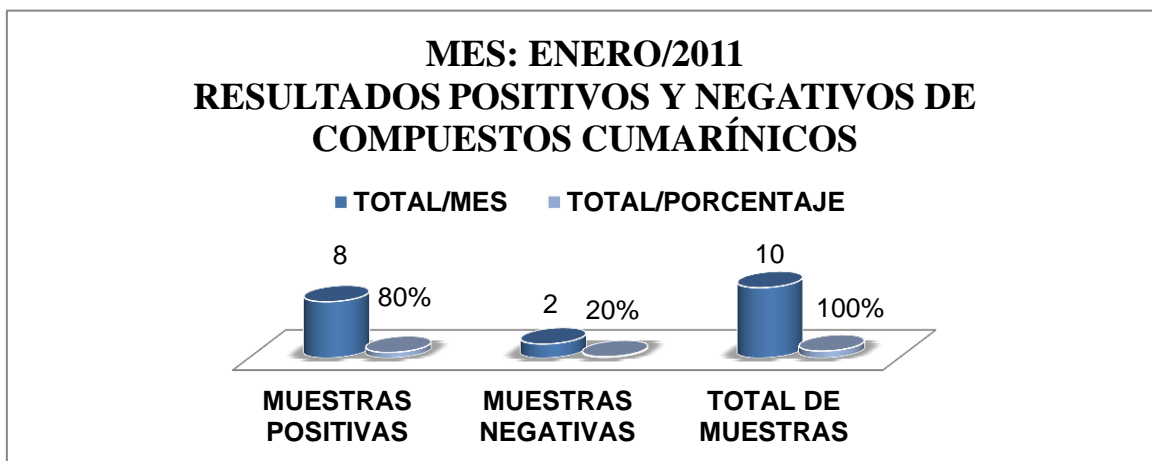
En el mes de Diciembre del 2010 ingresaron 9 muestras (lavados Gástricos) que equivalen al 100%, de cadáveres que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, todas con posible presencia de compuestos cumarínicos anticoagulantes de los cuales 8 muestras resultaron positivas que equivale al 89%, 1 muestras negativas que equivale al 11%.

**DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES, DURANTE EL PERÍODO DE ENERO DEL 2011**

**Tabla N° 22.**

DATOS DEL MES DE ENERO/2011		
MUESTRAS	RESULTADOS/MES	PORCENTAJE/MES
MUESTRAS POSITIVAS	8	80%
MUESTRAS NEGATIVAS	2	20%
TOTAL DEL MUESTRAS	10	100%

**GRÁFICO #7**



Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

**INTERPRETACIÓN:**

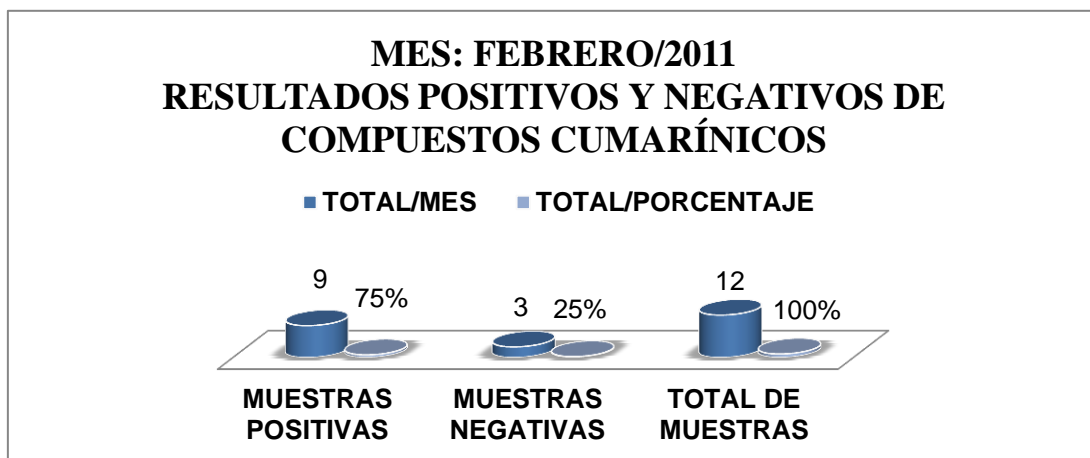
En el mes de Enero del 2011 ingresaron 10 muestras (contenidos gástricos) que equivalen al 100%, de cadáveres que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, todas con posible presencia de compuestos cumarínicos anticoagulantes de los cuales 8 muestras resultaron positivas que equivale al 80%, 2 muestras negativas que equivale al 20%.

**DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES, DURANTE EL PERÍODO DE FEBRERO DEL 2011**

**TABLA N°23**

<b>DATOS DEL MES DE FEBRERO/2011</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADOS/MES</b>	<b>PORCENTAJE/MES</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	9	75%
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	3	25%
<b>TOTAL DEL MUESTRAS</b>	12	100%

**GRÁFICO #8**



Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

**INTERPRETACIÓN:**

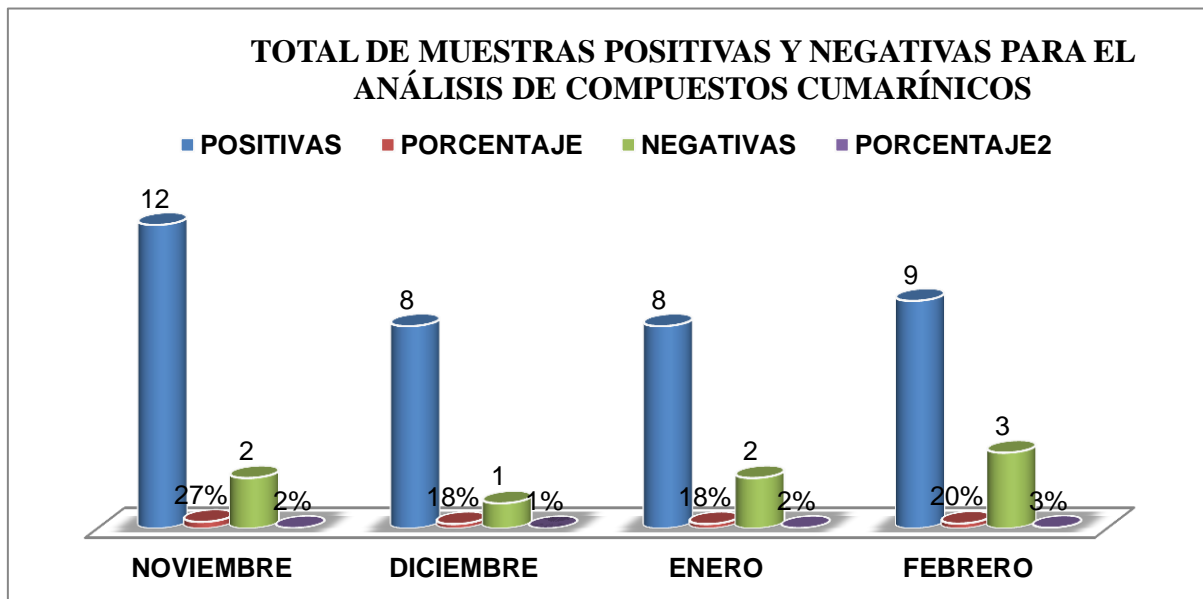
En el mes de Febrero del 2011 ingresaron 12 muestras (contenidos gástricos) que equivalen al 100%, de cadáveres que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, todas con posible presencia de compuestos cumarínicos anticoagulantes de los cuales 9 muestras resultaron positivas que equivale al 75%, 3 muestras negativas que equivale al 25%.

**DATOS ESTADÍSTICOS DEL TOTAL DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES QUE RESULTARON POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS, QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011**

**TABLA N°25.**

TOTAL DE MUESTRAS (CONTENIDO GÁSTRICO) QUE RESULTARON POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS						
MESES	TOTAL DE MUESTRAS	%	POSITIVAS	%	NEGATIVAS	%
NOVIEMBRE	14	31%	12	26.5%	2	2%
DICIEMBRE	9	20%	8	17.7%	1	1%
ENERO	10	22%	8	17.7%	2	2%
FEBRERO	12	27%	9	19.9%	3	3%
<b>TOTAL</b>	<b>45</b>	<b>100%</b>	<b>37</b>	<b>82%</b>	<b>8</b>	<b>8%</b>

**GRÁFICO #10**



Fuente: Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo

## **INTERPRETACIÓN:**

Durante el período de Noviembre del 2010 a Febrero del 2011, ingresaron 45 muestras (contenidos gástricos) que equivalen al 100%, de cadáveres que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, todas con posible presencia de compuestos cumarínicos anticoagulantes de los cuales:

En Noviembre del 2010 llegaron 14 muestras que equivale al 31%, de las cuales 12 resultaron positivas que equivale al 26.5% y 2 resultaron negativas que equivalen al 2%.

En Diciembre del 2010 llegaron 9 muestras que equivale al 20%, de las cuales 8 resultaron positivas que equivale al 17.7% y 1 resultaron negativas que equivalen al 2%.

En Enero del 2011 llegaron 10 muestras que equivale al 22%, de las cuales 8 resultaron positivas que equivale al 17.7% y 2 resultaron negativas que equivalen al 2%.

En Febrero del 2011 llegaron 12 muestras que equivalen al 27%. de las cuales 9 resultaron positivas que equivale al 19.9% y 3 resultaron negativas que equivalen al 3%.

\*En total de muestras ingresadas fueron 45 que equivalen al 100% de los cuales positivas resultaron 37 muestras que equivalen al 82% y negativas resultaron 8 muestras que equivalen al 8%.

## **INTERPRETACIÓN GRÁFICA**

Obtuvimos 45 muestras de cadáveres de los cuales:

Existen: 27 hombres

18 mujeres

De los 27 hombres resultaron: 5 negativos y 21 positivos

De las 18 mujeres resultaron: 3 negativos y 13 positivos



## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES O RECOMENDACIONES

#### 4.1. CONCLUSIONES:

- ✚ Gracias a la investigación realizada se conoció la toxicocinética (mecanismo absorción, distribución, excreción y eliminación) de los compuestos cumarínicos que han ingresado en el organismo de la persona.
- ✚ Mediante el método de extracción líquido-líquido se logró purificar los compuestos cumarínicos, empleando el solvente extractor éter etílico.
- ✚ Se identificó cualitativamente el tóxico a estudiar mediante el método de confirmación que es la cromatografía en capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico) en cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo.
- ✚ Al comparar los datos estadísticos que se obtuvo durante el trabajo investigativo de las 45 muestras de contenido gástrico que se analizaron, las 37 resultaron positivas que equivale al 82% y las 8 muestras restantes negativas que equivale al 8%; mediante el método de cromatografía de capa fina.
- ✚ Al finalizar la investigación comparamos los estándares que más incidencia tuvieron en porcentaje positivo en las muestras analizadas de las cuales resultó un alto porcentaje el Vertox, y el mes que más muestras se obtuvo para el análisis de compuestos cumarínicos fue noviembre.

#### 4.2. RECOMENDACIONES:

- Para la debida determinación de compuestos cumarínicos en cadáveres la muestra ideal es el contenido gástrico, ya que el tóxico se encuentra en altas concentraciones, porque no ha sufrido cambios de descomposición, conjugación o eliminación.
- Es necesario saber las normas o barreras de bioseguridad antes de comenzar a realizar un procedimiento, ya sea con la muestra o con algún reactivo que son de alta peligrosidad, se debe tener un espacio amplio, esterilizado y con ventilación adecuada, y así cumplir con las medidas de protección.
- Es de suma importancia al momento de la identificación colocar códigos de diferenciación en cada una de las muestras para que no haya confusión.
- Trabajar con precaución el respectivo procedimiento, toma de muestra, extracción e identificación para obtener datos satisfactorios
- Preparar correctamente los reactivos que se vayan a utilizar para no cometer errores posteriormente.
- Concientizar a las personas que expenden estos productos con la información adecuada, ya que es una gran demanda en su comercialización, por su bajo costo y su libre venta; es el motivo principal de que tantas personas han sido intoxicadas ya que acuden a comprar estos rodenticidas con fines que puedan ser erróneos.

## BIBLIOGRAFÍA

- CÓRDOVA, DANIEL., Toxicología Manual Moderno, (4ta. ed.). Barcelona, España: Editorial pp. 379-386. (2000)
- GISBERT CALABUIG, Javier. y VILLANUEVA, Eduardo, Medicina Legal y Toxicología. (5ta. Edición). Barcelona, España: Masson. Pp. 778-779 (capitulo 65). (1999)
- GISBERT, J, Medicina Legal y Toxicología. (3era edición). Fundación García Muñoz.
- KLAASSEN Curtis, III Manual de Toxicología Edición V
- LAROUSSE, Diagnóstico de Investigación científica (2002)
- LÓPEZ CALVO, Pedro y GOMEZ SILVA, Pedro., Investigación Criminal y Criminalística. Bogotá, Colombia, Temis. (2000)
- LÓPEZ, Carlos Toma y Preservación de Muestras para Análisis Toxicológico. Redartox (1999)
- REPPETO, Manuel, Toxicología Fundamental, ed. IV.
- VALENCIA ICAZA, Diccionario de Introducción a la Criminalística. Ed. Grijalbo, Bogotá (2002)
- Ministerio de Salud de Argentina, guía de Toma de Muestra, Conservación y Transporte para el Análisis Toxicológico, 2002
- <http://www.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes.pdf>
- [http://www.unedcervera.com/quimica\\_ingenieria/cromatografia.html](http://www.unedcervera.com/quimica_ingenieria/cromatografia.html)
- <http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes.pdf>
- [http://personal.us.es/arche/temas/farmacognosia/tema\\_11.pdf](http://personal.us.es/arche/temas/farmacognosia/tema_11.pdf)  
<http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/tromboembolismo/heparinas.html>
- <http://es.wikipedia.org/wiki/Cumarina>
- <http://www.bvsde.paho.org/tutorial2/e/unidad5/index.html>
- <http://www.encolombia.com/medicina/Urgenciastoxicologicas/Anticoagulantes.htm>

- [http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes.](http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/tox/Intox%20anticoagulantes)
- [http://www.aibarra.org/Apuntes/criticos/Guias/Intoxicaciones/Intoxicacion\\_por\\_cumarini-cos.pdf](http://www.aibarra.org/Apuntes/criticos/Guias/Intoxicaciones/Intoxicacion_por_cumarini-cos.pdf)
- <http://www.monografias.com/trabajos18/toxicologia-general/toxicologia-general.shtml#toxicocinetica>
- <http://www.areino.com/forensics-2>

# A N E X O S

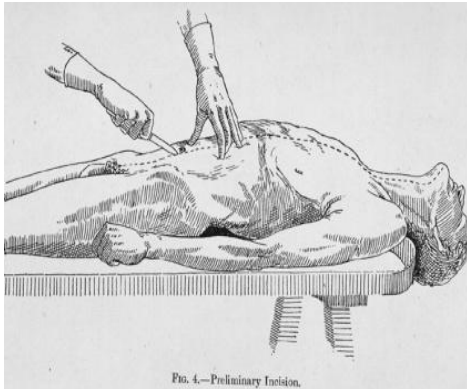
FOTO N°1. LOGO DEL DEPARTAMENTO DE  
CRIMINALÍSTICA DE MEDICINA LEGAL DE  
CHIMBORAZO



**FOTO N°2. TRASLADO DEL CUERPO AL ANFITEATRO**



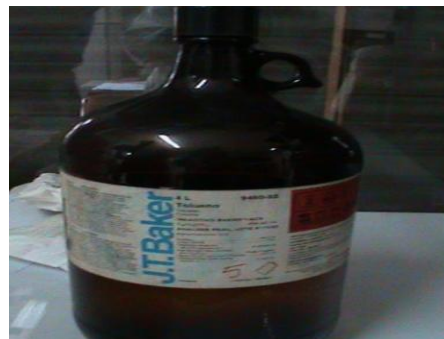
**FOTO N°3. CADÁVER QUE SE SOMETE A LA AUTOPSIA**



**FOTO N°4. TOMA DE MUESTRA DE CONTENIDO GÁSTRICO**



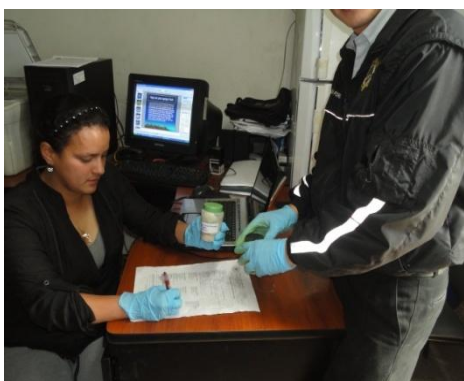
**FOTO N°5. MATERIALES Y REACTIVOS UTILIZADOS**



**FOTO N°6. ESTÁNDARES UTILIZADOS**



**FOTO N°7. CADENA DE CUSTODIA Y FORMULARIOS**



Fuente: Mariela Pilco y Kathy Torres

### Análisis Toxicológicos

#### Formulario para la cadena de custodia

Análisis requerido:.....

Solicitado por:.....

Número de identificación de origen/Historia Clínica:.....

#### Datos del paciente:

Apellido:..... Nombres:.....

Firma del paciente\*.....

Declaración del testigo de la toma de muestra: **Esta muestra ha sido recogida y sellada en mi presencia** y la etiqueta fijada en el recipiente contiene la firma del paciente y/o familiar y/o tercero.

Firma del testigo\*.....

\*Cuando la circunstancia amerite

#### Datos de la muestra en origen:

Fecha de recolección:..... Hora de recolección:..... Fecha de envío:.....

#### Tipo de muestra:

Biológica			No biológica
<input type="checkbox"/> <b>Sangre</b> <input type="checkbox"/> Entera* <input type="checkbox"/> Plasma* <input type="checkbox"/> Suero * Anticoag. usado:..... .....	<input type="checkbox"/> <b>Orina</b> <input type="checkbox"/> Única <input type="checkbox"/> 24 hs  pH *..... Aspecto*.....  * Cuando la circunstancia amerite	<input type="checkbox"/> <b>Otras</b> <input type="checkbox"/> Lav. gástrico <input type="checkbox"/> Vómito <input type="checkbox"/> Visceras <input type="checkbox"/> Cont. estomacal <input type="checkbox"/> Hígado <input type="checkbox"/> Otros tejidos	<input type="checkbox"/> Agua <input type="checkbox"/> Aire <input type="checkbox"/> Alimento* - Temperatura de conservación: <input type="checkbox"/> Ambiente <input type="checkbox"/> Refrigerada  <input type="checkbox"/> Suelo <input type="checkbox"/> Otros *Breve descripción..... .....

#### Envío de la muestra:

Apellido y nombre del profesional que remite:..... Firma:.....

Apellido y nombre del transportista:..... Firma del transportista:.....

Condiciones de envío: Temperatura: Ambiente  Refrigerada  Freezada

Observaciones:.....

**Recepción de la muestra en el Laboratorio:** Fecha:..... Hora:.....

Firma y aclaración del receptor de la muestra:..... Nº de protocolo:.....

La muestra fue abierta por:..... Fecha:..... Hora:.....

Firma del que abrió la muestra:.....

La muestra está en buenas condiciones? Si  No

Lugar de resguardo de la muestra:.....

Observaciones:.....



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA



“DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA, EN MUESTRAS BIOLÓGICAS (CONTENIDO GÁSTRICO) DE CADÁVERES QUE INGRESAN AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011”

**AUTORAS:**

MARIELA CRISTINA PILCO YAMBAY  
ZOILA KATHERINE TORRES ZAMBRANO

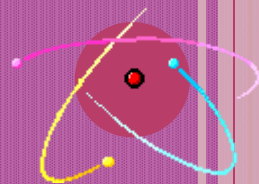




# OBJETIVOS

## GENERAL

- Determinar la presencia de compuestos cumarínicos mediante el método de cromatografía de capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico), en cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo.





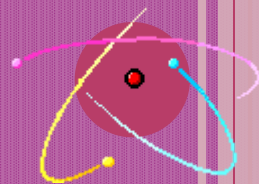
# OBJETIVOS

## ESPECÍFICOS

Conocer la toxicocinética (absorción, distribución y eliminación) de los compuestos cumarínicos que han ingresado en el organismo de la persona.

Purificar el tóxico a estudiar mediante el método de extracción líquido a líquido

Identificar cualitativamente el tóxico a estudiar mediante el método de confirmación que es la cromatografía en capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico) en cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo.



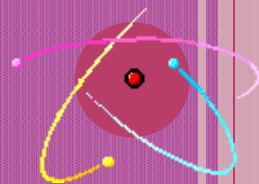


# PROBLEMATIZACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

Escasos investigaciones realizadas en este tema

Falta de información de los efectos, causas de los compuestos cumarínicos

Alta tasa de fallecimientos





# RODENTICIDAS, ANTICOAGULANTES CUMARÍNICOS

## ○ DEFINICIÓN

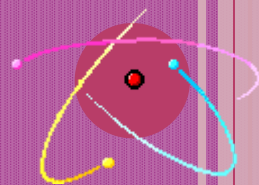


Proviene del radical –arin coumarin-cumarina

Plaguicida

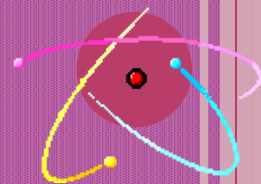
Sustancias anticoagulantes

Presentación





# CLASIFICACIÓN





# TOXICIDAD

- Varía de acuerdo al tipo de anticoagulante, número de exposiciones al compuesto, vida media y especie afectada

## Factores que afectan la toxicidad

Enfermedades hepáticas

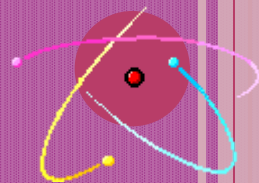
Uso de drogas

pH intestinal

Defectores de la síntesis del factor II de coagulación (protrombina)

Presencia de coagulopatías no dependientes de la vitamina K

Tratamientos con sulfonamidas





# MANIFESTACIONES CLÍNICAS

- Tanto el sistema intrínseco como el sistema extrínseco de la coagulación sanguínea se ven afectados en presencia de concentraciones tóxicas

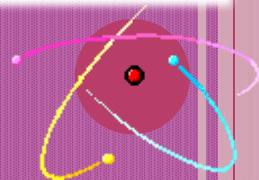
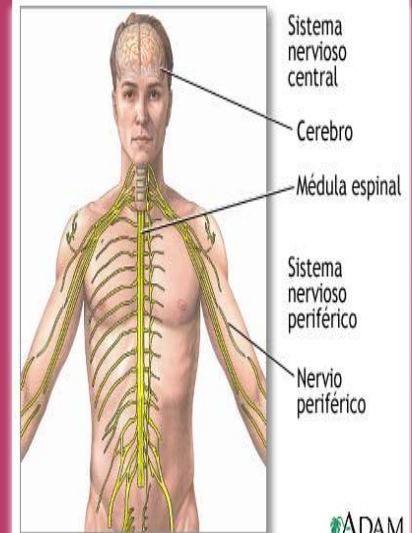
## Aguda

Hemorragias (cerebro, saco pericárdico, mediastino tórax)

## Subaguda

Anemia debilidad, palidez de mucosas, disnea, epistaxis  
melena

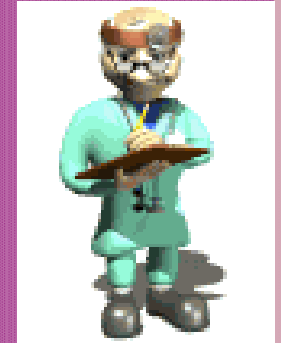
Hemorragias pulmonares ritmo cardiaco es irregular







# DIAGNÓSTICO



Historia clínica

Documento legal

Tiempo de intoxicación

2-5 días

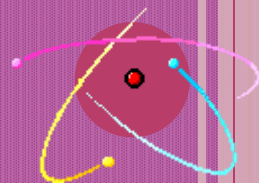
Sintomatología clínica

Hemorragias generalizadas

Pruebas de laboratorio clínico

Mecanismo extrínseco tiempo de protrombina (TP) elevado.

- Mecanismo intrínseco:
  - Tiempo de coagulación (TC)
  - Tiempo parcial de tromboplastina (TTP).





# TRATAMIENTO

Evaluar la estabilidad hemodinámica del paciente

Inestable con hipotensión y sangrado profuso

Factores de la coagulación

Utilizar heparina

Medida temporal mientras se tratan los efectos de la warfarina.

Evitar la utilización de medicamentos

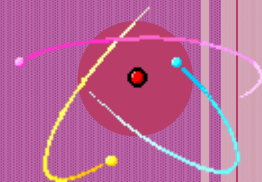
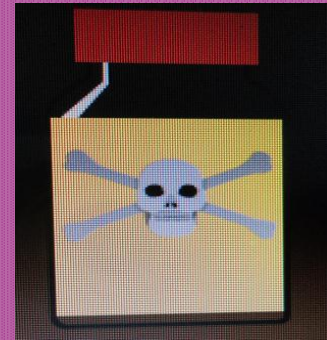
Vitamina K

Cuando hay una anticoagulación por la prueba de PT

La dosis es de 50-200 mg en adultos; en niños es 1-5 mg vía oral

Hemorragia masiva

Plasma fresco congelado





# TOXICOCINÉTICA

## Absorción

- Vías respiratorias
- Dérmicas
- Digestivas

## Distribución

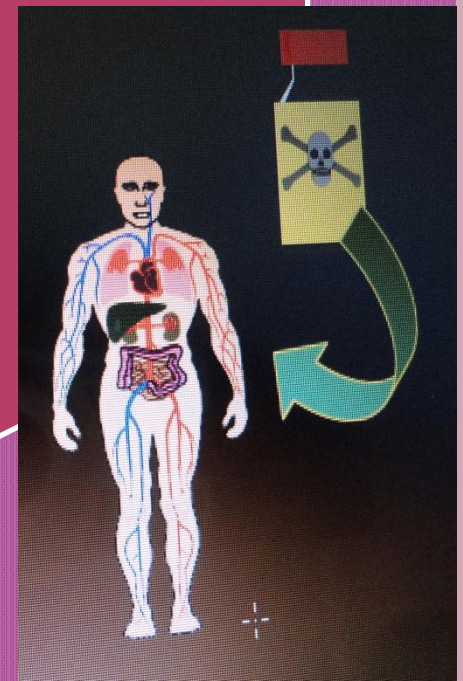
- Pasa al compartimiento central (sangre)
- Compartimiento periférico (tejidos u órganos de depósito)

## Metabolismo

- Eliminar al tóxico o convertirlos en sustancias menos dañinas para el organismo
- **Fase I:** De oxidación, reducción e hidrólisis.
- **Fase II:** De conjugación.

## Eliminación o Excreción.

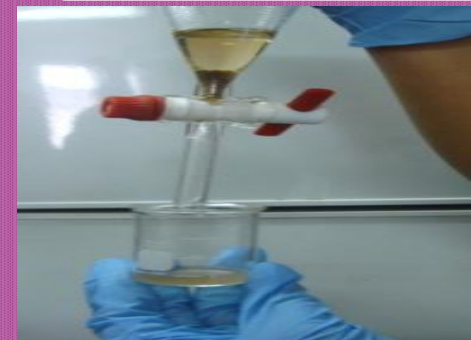
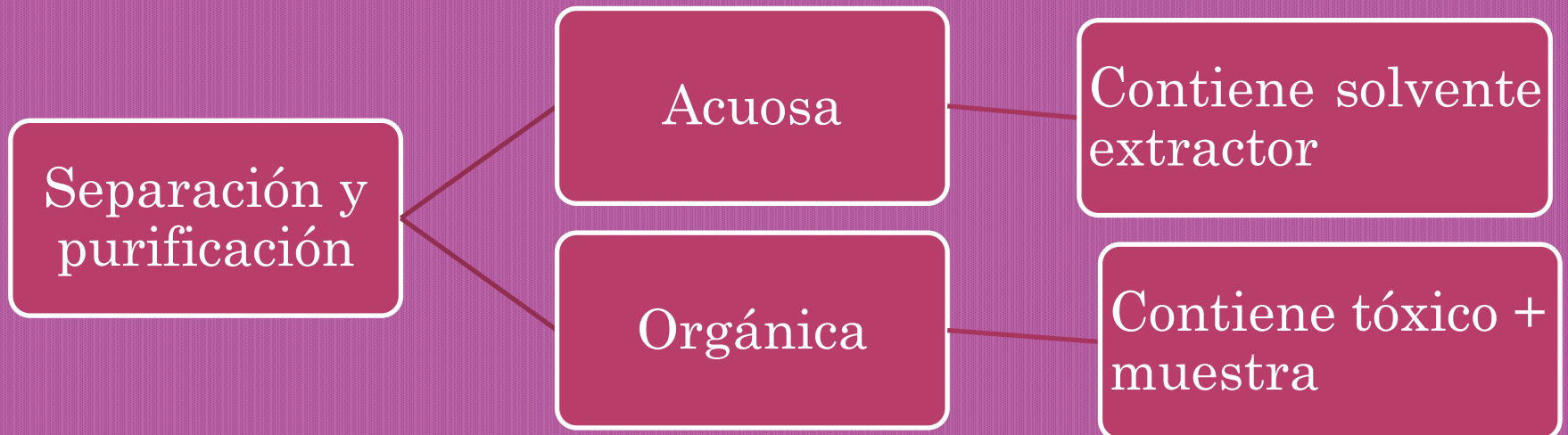
- Pulmón
- Bilis
- Riñón





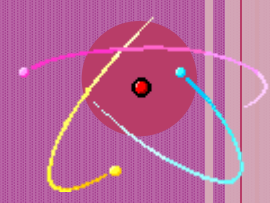
# MÉTODO CUALITATIVO DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO - LÍQUIDO

Separación de mezclas homogéneas líquidas y purificación de una sustancia tóxica (líquida) biológica o no biológica mediante la utilización de otro líquido que sería el solvente extractor.





# SISTEMA DE SOLVENTES





# REVELADORES



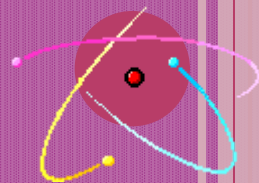
## Revelado Físico

Lámpara de luz ultravioleta a 254nm



## Revelado Químico

Reactivos:  
KMnO4





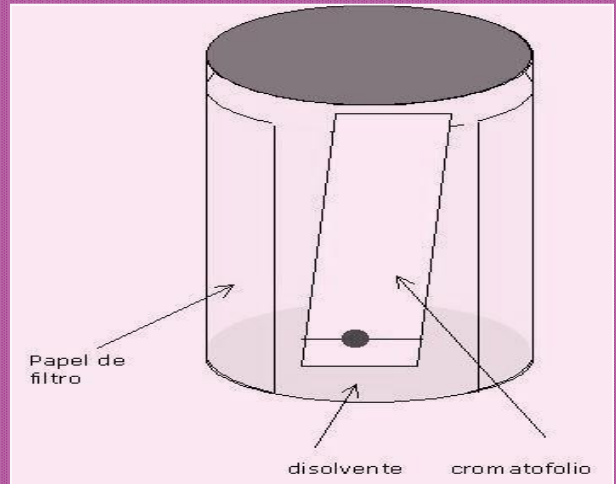
# CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Placa  
cromatográfica

- Consiste en una fase estacionaria polar (se utiliza sílica gel) adherida a una superficie solida con algún agente cementante

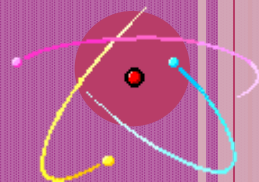
Eluyente

- Debe ser un compuesto líquido apolar o polar, generalmente orgánico





# CADENA DE CUSTODIA







# NORMAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO





# MUESTRA IDEAL (CONTENIDO GÁSTRICO)

- Es importante:

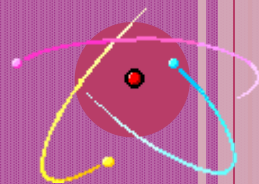


Porque luego de una sobredosis o la ingestión oral de una sustancia tóxica, la concentración de la sustancia en el estómago permanece relativamente alta

Las sustancias presentes en el estómago no han sido aún biotransformadas por el organismo.



# PROCEDIMIENTO





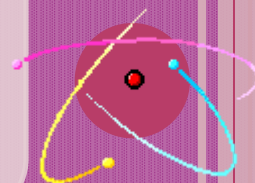
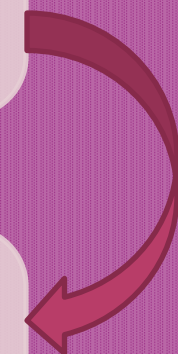
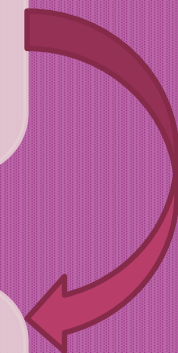
- MUESTRA IDEAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS



- ESTÁNDARES UTILIZADOS



- PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES
- TRITURACIÓN Y PESO DE LOS ESTÁNDARES





- **SOLVENTES PARA LA PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE ESTÁNDARES**



- **PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE ESTÁNDARES**





# Cadena de custodia



## Rotulación:

- Nombre completo del paciente, edad
- Código respectivo
- Cantidad de muestra
- Tipo de muestra
- Nombre del médico o persona que tomó la muestra
- Nombre de la persona que recibe la muestra
- Día y la hora de recolección
- Previo al análisis, las muestras biológicas deben almacenarse a 4 °C.

# RECEPCIÓN DE LAS MUESTRAS



Recepción



Muestra

**Análisis Toxicológicos**  
**Formulario para la cadena de custodia**

Análisis requerido:.....  
Solicitado por:.....  
Número de identificación de origen/Historia Clínica:.....

**Datos del paciente:**  
Apellido:..... Nombre:.....  
Firma del paciente\*.....  
Declaración del testigo de la toma de muestra: **Esta muestra ha sido recogida y sellada en mi presencia y la etiqueta fijada en el recipiente contiene la firma del paciente y/o familiar y/o tercero.**  
Firma del testigo\*.....  
\*Cuando la circunstancia amerite

**Datos de la muestra en origen:**  
Fecha de recolección:..... Hora de recolección:..... Fecha de envío:.....

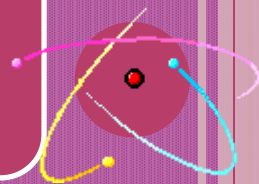
**Tipo de muestra:**

Biológica		No Biológica
<input type="checkbox"/> Sangre	<input type="checkbox"/> Orina	<input type="checkbox"/> Agua
<input type="checkbox"/> Esputo*	<input type="checkbox"/> Uñas	<input type="checkbox"/> Aire
<input type="checkbox"/> Plasma*	<input type="checkbox"/> 24hs	<input type="checkbox"/> Alimentos*
<input type="checkbox"/> Saco		<input type="checkbox"/> Visceras
*Análisis toxicológico		<input type="checkbox"/> Temperatura de conservación:
Aspecto*.....	<input type="checkbox"/> pH.....	<input type="checkbox"/> Ambiente
	<input type="checkbox"/> Color normal	<input type="checkbox"/> Refrigerada
	<input type="checkbox"/> Otros tejidos	<input type="checkbox"/> Saco
		<input type="checkbox"/> Otros
		*Breve descripción:.....

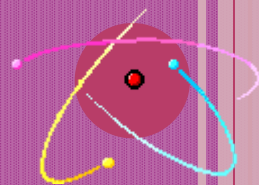
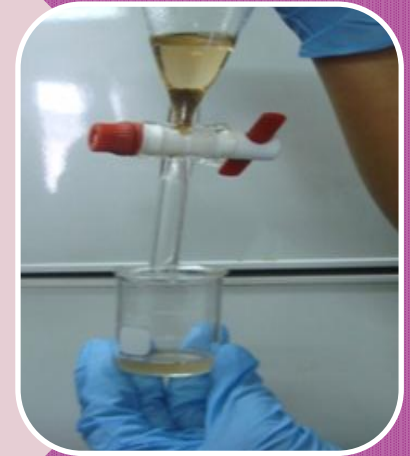
**Envío de la muestra:**  
Apellido y nombre del profesional que remite:..... Firma:.....  
Apellido y nombre del transportista:..... Firma del transportista:.....  
Condiciones de envío: Temperatura: Ambiente  Refrigerada  Freezeado   
Observaciones:.....

**Recepción de la muestra en el Laboratorio:** Fecha:..... Hora:.....  
Firma y aclaración del receptor de la muestra:..... Nº de protocolo:.....  
La muestra fue abierta por:..... Fecha:..... Hora:.....  
Firma del que abrió la muestra:.....  
La muestra está en buenas condiciones? Si  No   
Lugar de resguardo de la muestra:.....  
Observaciones:.....

Formulario

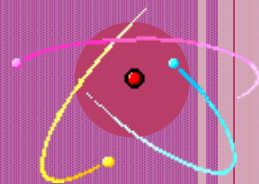
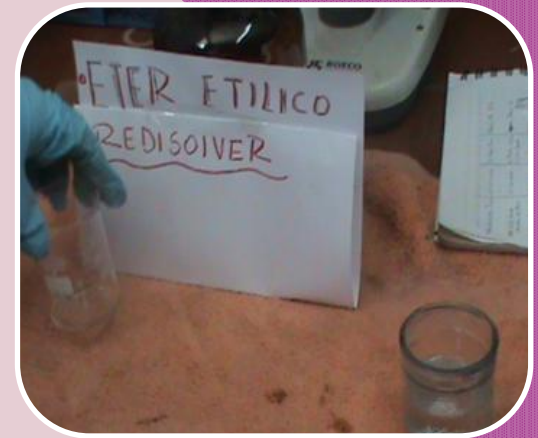


# EXTRACCIÓN LÍQUIDO – LÍQUIDO

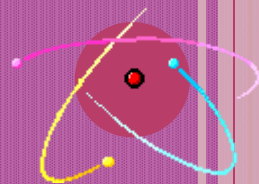




# EXTRACCIÓN LÍQUIDO – LÍQUIDO



# PREPARACIÓN DE PLACAS DE SILICA GEL.



# PREPARACIÓN DE LOS CAPILARES





# SISTEMA DE SOLVENTES:

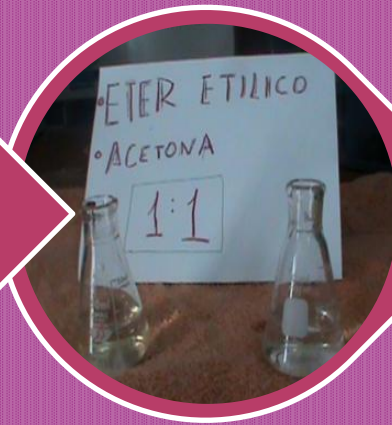
SISTEMA # 1	
ÉTER ETÍLICO	1
ACETONA	1

SISTEMA # 2	
CLOROFORMO	4
ACETONA	1



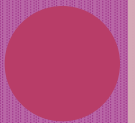


# CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.



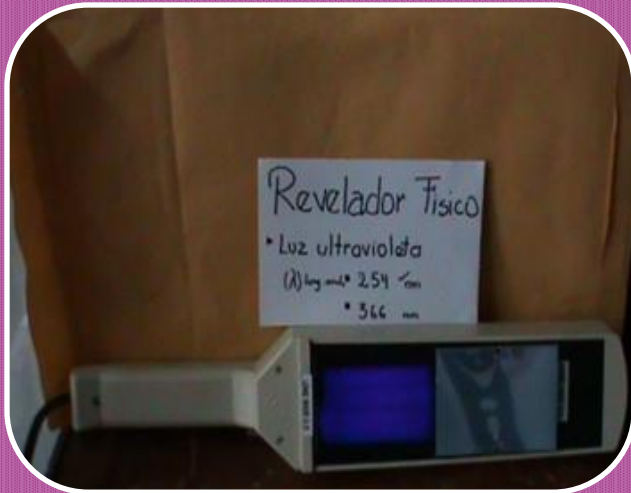


# CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.

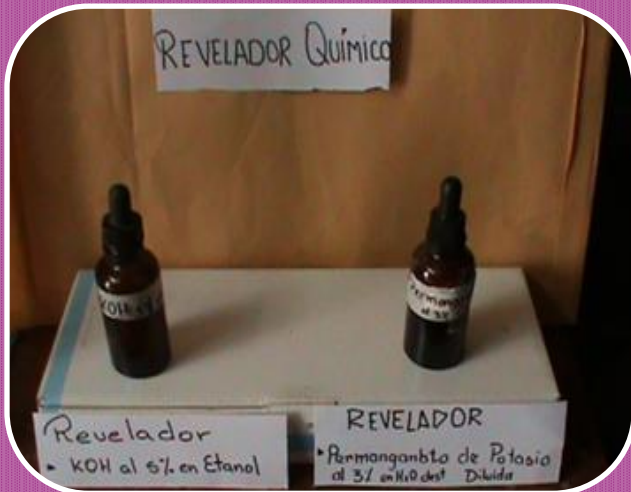
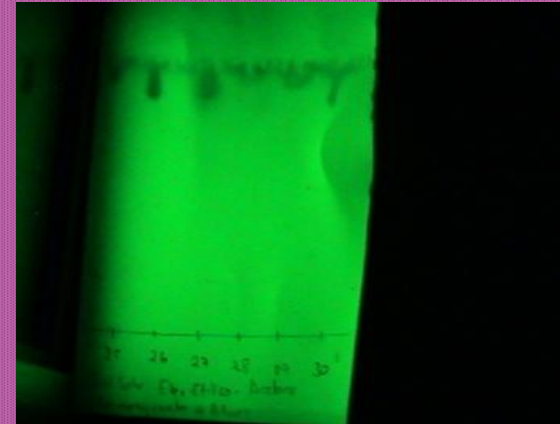




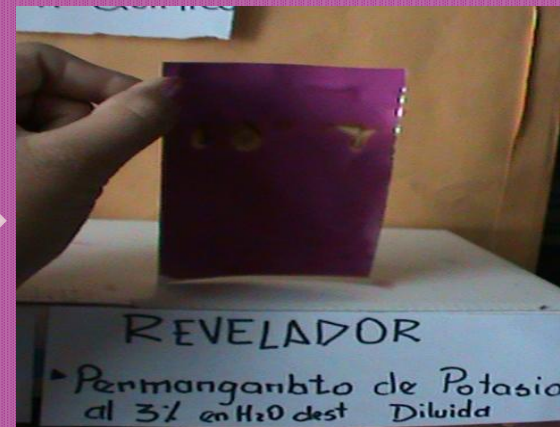
# REVELADORES:



• FÍSICO

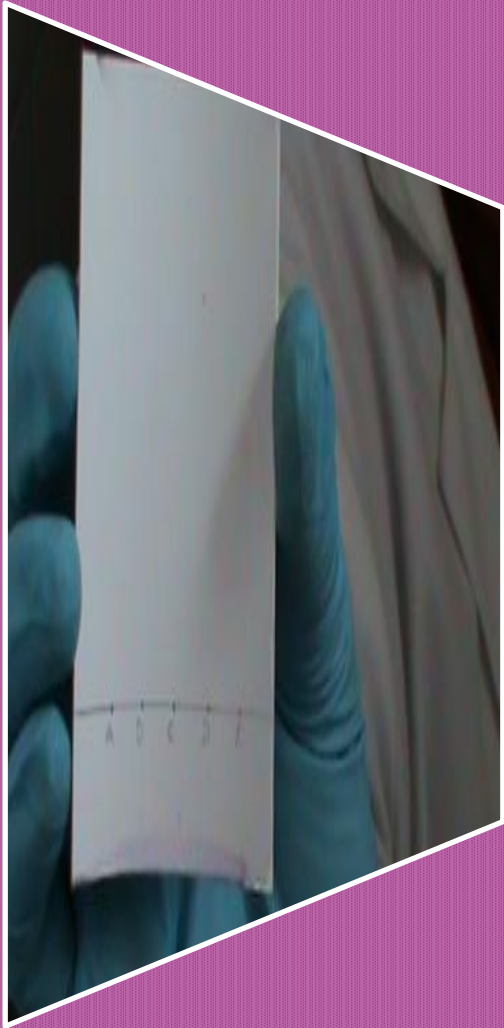


• QUÍMICO





# REVELADO QUÍMICO





# CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS FACTORES DE RETENCIÓN DE LAS MUESTRAS.

- RETENCIÓN (Rf):

Formula:

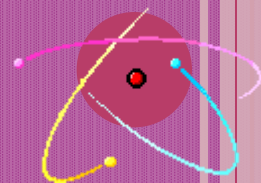
$$R_f = \frac{DS}{DM}$$

- DS: Distancia de la muestra(cm)
- DM: Distancia del sistema de solvente(cm).

$$R_f \leq 1$$

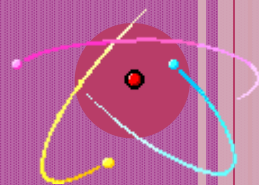
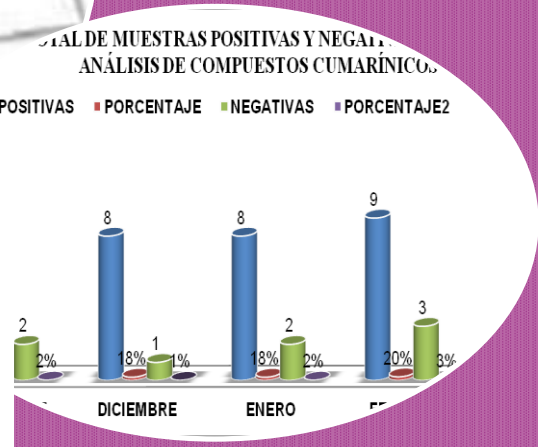
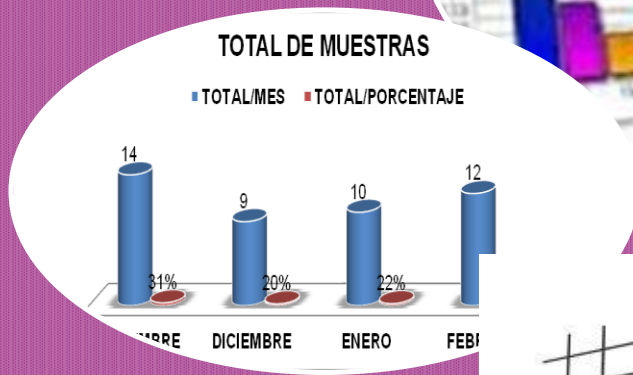
## CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS Rf DE LAS RESPECTIVAS MUESTRAS, MEDIANTE DIFERENTES SISTEMAS DE SOLVENTES.

<u>MUESTRA</u>	❖ Rf1	○ Rf2
01	= 0.71	
02	= 0.83	
03	= 0.82	
04	= 0.80	= 0.80
05	= 0.82	



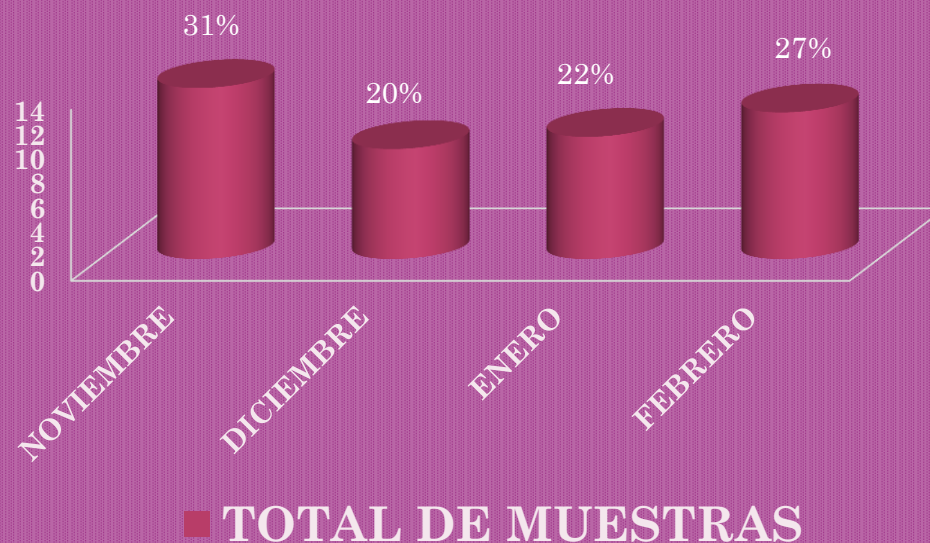


# DATOS ESTADÍSTICOS



# TOTAL DE MUESTRAS QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011

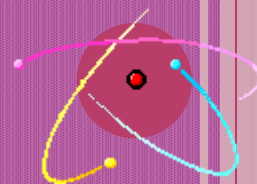
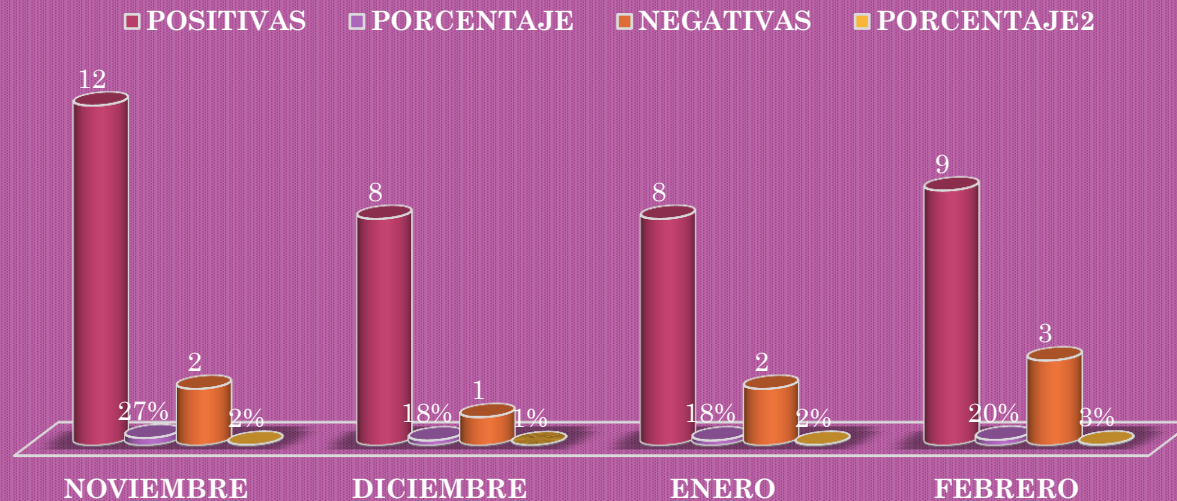
EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011		
MES	TOTAL /MES	PORCENTAJE/MES
NOVIEMBRE	14	31%
DICIEMBRE	9	20%
ENERO	10	22%
FEBRERO	12	27%
TOTAL	45	100%



# TOTAL DE LAS MUESTRAS DE CONTENIDO GÁSTRICO DE CADÁVERES QUE RESULTARON POSITIVAS Y NEGATIVAS PÁRA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS, DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2010 A FEBRERO DEL 2011

TOTAL DE MUESTRAS (CONTENIDO GÁSTRICO) QUE RESULTARON POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS						
MESES	TOTAL DE MUESTRAS	%	POSITIVAS	%	NEGATIVAS	%
NOVIEMBRE	14	31%	12	26.5%	2	2%
DICIEMBRE	9	20%	8	17.7%	1	1%
ENERO	10	22%	8	17.7%	2	2%
FEBRERO	12	27%	9	19.9%	3	3%
<b>TOTAL</b>	<b>45</b>	<b>100%</b>	<b>37</b>	<b>82%</b>	<b>8</b>	<b>8%</b>

## TOTAL DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS





# RESULTADOS

## TOTAL DE MUESTRAS (CONTENIDO GÁSTRICO) QUE RESULTARON POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS CUMARÍNICOS

MESES	TOTAL DE MUESTRAS	%	POSITIVAS	%	NEGATIVAS	%
TOTAL 4 MESES	45	100%	37	82%	8	8%

## INTERPRETACIÓN

Obtuvimos 45 muestras de cadáveres de los cuales:

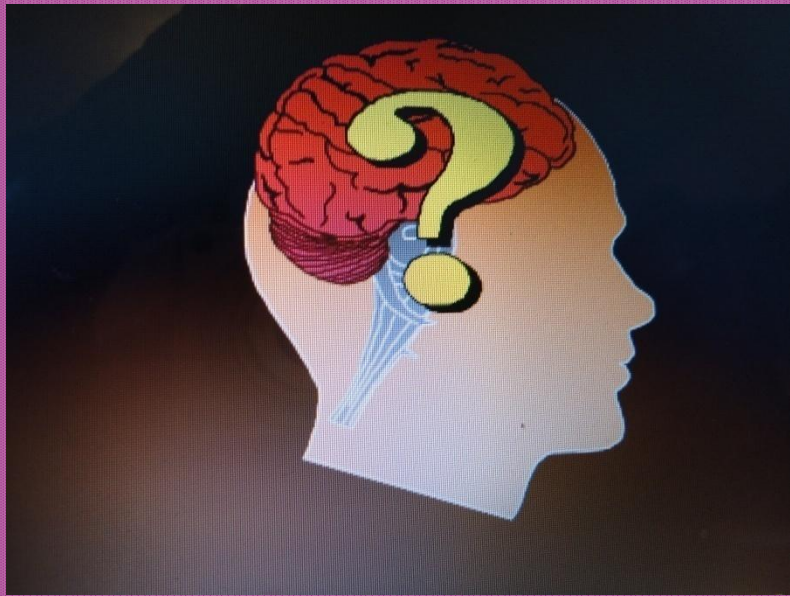
- ❖ Existen: 27 hombres  
18 mujeres

De los 27 hombres resultaron: 3 negativos y 24 positivos

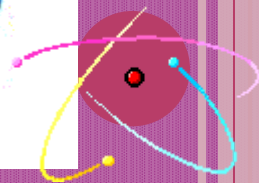
De las 18 mujeres resultaron: 3 negativos y 15 positivos

- ❖ De las 45 muestras el 82% son positivas y el 8% son negativas es decir que hay un alto porcentaje de intoxicación por compuestos cumarínicos





# CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES





# CONCLUSIONES

- Gracias a la investigación realizada se conoció la toxicocinética (mecanismo absorción, distribución, excreción y eliminación) de los compuestos cumarínicos que han ingresado en el organismo de la persona, para una buena purificación.
- Se conoció primero que mediante el método de extracción líquido-líquido se logró purificar los compuestos cumarínicos, empleando el solvente extractor éter etílico.
- Se identificó cualitativamente el tóxico a estudiar mediante el método de confirmación que es la cromatografía en capa fina en muestras biológicas (contenido gástrico) en cadáveres que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo.
- Al comparar los datos estadísticos que se obtuvo durante el trabajo investigativo de las 45 muestras (contenido gástrico) que se analizaron, las 37 muestras resultaron positivas que equivalen al 82% y las 8 muestras restantes salieron negativas que equivalen al 8%; mediante el método de cromatografía de capa fina.



# RECOMENDACIONES

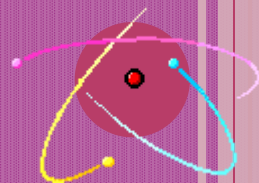
Para la debida determinación de compuestos cumarínicos en cadáveres la muestra ideal es el contenido gástrico, ya que el y tóxico se encuentra en altas concentraciones, porque no ha sufrido cambios de descomposición, conjugación o eliminación.

Es necesario saber las normas o barreras de bioseguridad antes de comenzar a realizar un procedimiento, ya sea con la muestra o con algún reactivo que son de alta peligrosidad, se debe tener un espacio amplio, esterilizado y con ventilación adecuada, y así cumplir con las medidas de protección.

Es de suma importancia al momento de la identificación colocar códigos de diferenciación en cada una de las muestras para que no haya confusión.

Trabajar con precaución el respectivo procedimiento, toma de muestra, extracción e identificación para obtener unos datos satisfactorios

Preparar correctamente los reactivos que se vayan a utilizar para no cometer errores posteriormente.





# GRACIAS POR SU ATENCIÓN



*En el Laboratorio la calidad la  
hacemos todos*

