



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**PROYECTO DE TESINA PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA SALUD,
MENCIÓN LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

TEMA

***Cannabis sativa* EN ORINA UTILIZANDO MÉTODOS
CUALITATIVOS PARA DETERMINAR LA INCIDENCIA DE
CONSUMIDORAS TRABAJADORAS SEXUALES QUE SE
ATIENDEN EN EL LABORATORIO CLÍNICO DE LA
DIRECCIÓN PROVINCIAL DE SALUD DE CHIMBORAZO**

AUTORES:

**JHONNATAN NAPOLEÓN RIVERA LAFEBRE
GALO EDUARDO YAMBAY VILEMA**

DOCENTE TUTOR:

Dr. WILSON MONCAYO

2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

HOJA DE APROBACIÓN DE DEFENSA DE TESINA PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA
SALUD, MENCIÓN LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

.....

MIEMBRO 1

.....

MIEMBRO 2

NOTA.....

NOTA.....

.....

MIEMBRO 3

NOTA.....

DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotros; Yambay Galo y Rivera Jhonnatan, somos responsables de las ideas, criterios, resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado de una manera muy especial a Dios, por brindarnos las facultades y virtudes, esenciales para el desarrollo personal, así como a nuestras esposas e hijos quienes son el principal apoyo y motivación en la vida.

AGRADECIMIENTO

El principal agradecimiento a nuestra noble Institución, la Universidad Nacional de Chimborazo, sus autoridades, quienes nos han permitido ingresar y educarnos de la mejor manera, a los maestros que nos han inculcado el sentimiento de amor, respeto a esta profesión, así como los valores necesarios para desenvolvemos de forma excelente en la vida.

RESUMEN

El presente trabajo, el cual se pone a consideración está estructurado en base a los parámetros que ha facilitado la Universidad Nacional de Chimborazo, iniciando así con una introducción en la cual se topará de manera general los temas específicos relacionados a esta investigación, es decir se hará una reseña de los mismos, pasando por los objetivos planteados, que de forma general es hallar el principal metabolito del *Cannabis sativa* en la orina de la población sometida a estudio, planteando como problema la prevalencia de consumo existente en los últimos tiempos por parte de la población, convirtiéndose en un mal para la sociedad, también se investigó a nivel teórico todo lo concerniente al *Cannabis sativa* y su relación con la prostitución, para de esta manera realizar las pruebas de análisis correspondientes, finalizando por supuesto con la tabulación de datos. Se determinó finalmente que la incidencia de consumo en las trabajadoras sexuales es del 20.7 %. Además cabe mencionar que se agrego algunas fotografías relacionadas al tema en la sección de anexos. Se deja a vuestra consideración y criterio el análisis del presente trabajo esperando sea de gran ayuda para la realización de futuras investigaciones.

SUMMARY

The present work, which puts to your this consideration constructed on the basis of the parameters that there has facilitated Chimborazo's National University, initiating this way with an introduction which will run up in a general way the specific topics related to this investigation, that is to say will do a review of the same ones to itself, happening for the raised aims, which of general form it is to find the principal metabolito of the *Cannabis sativa* in the urine of the population submitted to study, raising as problem the prevalence of existing consumption in the last times on the part of the population, turning into an evil for the society, Also there had to be investigated to theoretical level everything relating to the Cannabis sativa and his relation by the prostitution, hereby realize the tests of corresponding analyses, finishing certainly with the tabulation of information. One determined finally that the incident of consumption in the sexual workers is 20.7 %. In addition it is necessary to mention that I add some photography's related to the topic in the section of annexes. There is left to your consideration and criterion the analysis of the present work waiting be of great help for the accomplishment of future investigations.

ÍNDICE

PORTADA	i
HOJA DE APROBACIÓN	ii
DERECHOS DE AUTORÍA.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
RESUMEN.....	vi
SUMMARY.....	vii
ÍNDICE.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiv
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xvi
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	xvii

INTRODUCCIÓN.....	1
-------------------	---

CAPITULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN.....	2
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.3. OBJETIVOS:.....	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	5

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO	7
2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	7

2.2.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
	TOXICOLOGÍA GENERAL.....	7
	CLASIFICACIÓN DE LOS TÓXICOS.....	8
	TOXICOCINÉTICA	10
	ABSORCIÓN.....	11
	VÍA DIGESTIVA.....	11
	VÍA RESPIRATORIA.....	12
	VÍA CUTÁNEA.....	12
	VÍA PARENTERAL.....	12
	VÍA MUCOSA.....	12
	DISTRIBUCIÓN.....	12
	BIOTRANSFORMACIÓN.	13
	ELIMINACIÓN O EXCRECIÓN.....	13
	INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA.....	14
	FACTORES QUE AFECTAN AL METABOLISMO DE LOS TÓXICOS.	16
	MUESTRAS PARA INVESTIGACION TOXICOLÓGICA....	19
	PRINCIPALES MUESTRAS PARA ANÁLISIS TOXICOLÓGICO.....	19
	ENVASADO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS...	21
	ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS	22
	DESCOMPOSICIÓN BIOLÓGICA	25
	NORMAS PARA LA RECOGIDA, PREPARACIÓN Y REMISIÓN DE LAS MUESTRAS	27
	MUESTRAS DE MAYOR INTERÉS PARA LA INVESTIGACIÓN.....	29
	EXTRACCIÓN DE TÓXICOS VOLÁTILES	29
	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN POR DESTILACIÓN	30
	REACCIONES DE COLORACIÓN.....	34
	REACCIONES DE PRECIPITACIÓN.....	35
	PRUEBA DE MICROCRISTALOGRAFÍA.....	35
	ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA	37

ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA.....	38
ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS.....	39
CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN...	40
CROMATOGRAFIA EN COLUMNA	41
CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF)	45
FACTORES IMPLICADOS EN LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA:	46
LOCALIZACIÓN DE LAS MANCHAS.	46
CROMATOGRAFÍA DE GASES (GLC)	48
TÉCNICAS INMUNOQUÍMICAS.....	49
TÓXICOS ORGÁNICOS.....	50
<i>Cannabis sativa</i>	52
HISTORIA.....	52
HISTORIA CRONOLÓGICA.....	52
CLASIFICACIÓN BOTÁNICA.....	54
COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	57
EXAMEN MICROSCÓPICO.	59
FARMACOLOGÍA.....	60
PROPIEDADES DE LOS CANNABINOIDES.....	61
CONSUMO.....	63
ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN.....	64
METABOLISMO Y EXCRECIÓN.....	67
CANNABINOIDES Y SU CONDUCTA ADICTIVA.....	71
SÍNTOMAS Y EFECTOS DERIVADOS DEL CONSUMO..	72
EFECTOS FÍSICOS DEL CONSUMO.....	74
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	74
SISTEMA RESPIRATORIO.....	77
SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	78
SISTEMA ENDÓCRINO.....	80
SISTEMA INMUNITARIO	81
REPRODUCCIÓN CELULAR.....	82
DOSIS TÓXICA.....	82

MÉTODOS SUGERIDOS PARA LA DETECCIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS CANNABINOIDES EN ESPECIMENES BIOLÓGICOS.....	83
LOS TIPOS COMUNES DE LOS PRODUCTOS DEL <i>Cannabis</i>	83
DESCRIPCIÓN DE LOS PRODUCTOS ILÍCITOS DE <i>Cannabis</i>	90
EL <i>Cannabis</i> CULTIVADO EN CLIMAS TROPICALES..	91
TOMA, PREPARACIÓN Y PROCEDIMIENTOS DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE 9 – CARBOXI-THC.	94
CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	97
LA PROSTITUCIÓN.....	105
PROSTITUCIÓN Y DELINCUENCIA.....	106
CONDICIONES LABORALES.....	106
RELACIÓN CON LAS DROGAS	107
ANÁLISIS REALIZADO EN NUESTRA INVESTIGACIÓN...	108
PROCEDIMIENTO	108
ACIDIFICACIÓN Y MEDICIÓN DEL pH	111
EXTRACCIÓN	113
PRUEBA CUALITATIVA DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.	116
PREPARACIÓN DE CAPILARES Y ESTANDAR	118
TRAZADO Y SEÑALIZACIÓN DE LAS PLACAS DE SILICA GEL	120
COLOCACIÓN DE LAS MUESTRAS Y EL ESTANDAR ...	122
REVELADO	124
RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANÁLISIS	127
BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA	131
USO DE LOS ELEMENTOS DE PROTECCIÓN PERSONAL.....	131

MANTENIMIENTO DE ELEMENTOS DE PROTECCIÓN PERSONAL.....	133
PROTECCIÓN OCULAR	133
PROTECCIÓN BUCONASAL Y FACIAL.....	134
PROTECCIÓN DE CUERPO Y EXTREMIDADES SUPERIORES.....	135
ESTERILIZACIÓN.....	136
ASEPSIA.....	136
MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN.....	136
MÉTODOS QUÍMICOS.....	136
MÉTODOS FÍSICOS.....	137
NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD	138
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	142
2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	146
2.4.1. HIPÓTESIS.....	146
2.4.2. VARIABLES	146
2.4.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	147

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO.....	148
3.1. MÉTODO.....	148
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	148
3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	148
3.4. TIPO DE ESTUDIO	148
3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	148
3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	149
3.6.1. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	149
3.7. DATOS ESTADÍSTICOS DE LA MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DEL ANÁLISIS.....	151

3.8. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	155
---	-----

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	156
--	-----

4.1. CONCLUSIONES.....	156
------------------------	-----

4.2. RECOMENDACIONES.....	157
---------------------------	-----

BIBLIOGRAFÍA.....	159
--------------------------	------------

ANEXOS.....	161
--------------------	------------

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO Nº.1.-

CLASIFICACIÓN DE LOS TÓXICOS.....	9
-----------------------------------	---

CUADRO Nº. 2.-

MUESTRAS DE MAYOR INTERÉS PARA LA INVESTIGACIÓN DE LOS TÓXICOS QUE SE ESPECIFICAN.....	29
---	----

CUADRO Nº. 3.-

CLASIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS SOBRE LA BASE DE DIFERENTES CRITERIOS.....	43
---	----

CUADRO Nº. 4.-

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.....	44
--	----

CUADRO Nº. 5.-

SISTEMAS DE DISOLVENTES.....	99
------------------------------	----

CUADRO Nº. 6.-

VALORES DE R _f DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA CROMATOGRÁFICO No. 1.....	100
---	-----

CUADRO Nº. 7.-

VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 2..... 101

CUADRO Nº. 8.-

VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 3..... 102

CUADRO. Nº. 9.-

VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 4..... 103

CUADRO Nº. 10.-

VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 5..... 103

CUADRO Nº. 11.-

VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 6..... 104

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO Nº. 1.-	
MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR DESTILACIÓN.....	30
GRAFICO Nº. 2.-	
COLUMNA CROMATOGRÁFICA.....	42
GRAFICO Nº. 3.-	
CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	47
GRAFICO Nº. 4.-	
<i>Cannabis sativa</i> EN ESTADO SILVESTRE.....	54
GRAFICO Nº. 5.-	
PARTES DE LA PLANTA DE MARIHUANA.....	56
GRAFICO Nº. 6.-	
PLANTA DE MARIHUANA.....	57
GRAFICO Nº. 7.-	
ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS DE <i>Cannabis sativa</i>	58
GRAFICO Nº. 8.-	
CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL <i>Cannabis</i>	59
GRAFICO Nº. 9.-	
SEMILLAS DE CÁÑAMO.....	60

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMAGEN Nº. 1.-	
MUESTRAS DE ORINA	108
IMAGEN Nº. 2.-	
HIDRÓLISIS DE MUESTRAS DE ORINA.....	110
IMAGEN Nº. 3.-	
ACIDIFICACIÓN Y MEDICIÓN DEL pH.	112
IMAGEN Nº. 4.-	
EXTRACCIÓN.....	114
IMAGEN Nº. 5.-	
CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	117
IMAGEN Nº. 6.-	
PREPARACIÓN DE CAPILARES Y ESTANDAR.....	119
IMAGEN Nº. 7.-	
TRAZADO Y SEÑALIZACIÓN DE LAS PLACAS DE SILICA GEL.	121
IMAGEN Nº. 8.-	
COLOCACIÓN DE LAS MUESTRAS Y EL ESTANDAR.....	123
IMAGEN Nº. 9.-	
REVELADO CON AZUL SÓLIDO B	
SISTEMA DE SOLVENTES A.	125
IMAGEN Nº. 10.-	
REVELADO CON AZUL SÓLIDO B.	
REVELADO SISTEMA DE SOLVENTES B	126

INTRODUCCIÓN

El tema escogido como base para la elaboración del presente trabajo tiene que ver fundamentalmente con un tópico de gran importancia para la sociedad, al ser un tema de gran trascendencia se iniciará hablando acerca de la importancia de la toxicología en general, tipos de extracción en muestras orgánicas, toxicocinética, y tipos de pruebas que se realizan para su estudio, además se detallará los parámetros fundamentales que conciernen al *Cannabis sativa*, nombre científico con el que se conoce a la marihuana, así se mencionará de forma amplia, su forma de cultivo, tipos de *Cannabis* existentes, metabolitos de gran importancia, desarrollo, aplicaciones y conjuntamente a esto todos y cada uno de los procedimientos que se realizan para su consumo.

De la misma manera se indicará los efectos que producen en el consumidor, trastornos psicológicos, sociales, intoxicaciones, y secuelas físicas a las que conlleva el consumo de este tipo de droga, finalizando con la estadística obtenida durante el desarrollo de esta investigación.

Como parte de las temáticas inmiscuidas en este trabajo se abordará de manera general lo que es la prostitución, enfocado fundamentalmente con el consumo de drogas y de manera específica su relación con el *Cannabis sativa*.

CAPITULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sin duda alguna el ***Cannabis sativa***, después del tabaco y el alcohol es la droga cuyo uso esta más extendido en el mundo. Las sucesivas encuestas que se realizan en nuestro país, tanto las dirigidas a la población general como a los escolares, así lo demuestran.

Las prevalencias de consumo son ciertamente importantes. Así por ejemplo, según la encuesta realizada por diario el Comercio en 21 ciudades del país 9 de la Sierra, 10 de la Costa y 2 del Oriente, entre las drogas ilícitas la **marihuana sigue siendo la más usada** por los consumidores con un 4.35 % seguida por la cocaína con el 1.3 % y la pasta de cocaína con el 0.8 % el mismo señala que el consumo de **marihuana** es más elevada en Quito que en Guayaquil es decir es mayor en la Sierra. En cambio el uso de cocaína es mayor en la Costa que en la Sierra y el consumo de drogas es 7 veces mayor en hombres que en mujeres.

La encuesta también revela que un total de 3.458.104 personas han consumido alcohol y en su gran mayoría hombres siendo la costa la región con mayor consumo.

Se calcula además que una buena parte de la población consume algún tipo de medicamentos psicotrópicos como estimulantes y tranquilizantes sin prescripción médica siendo las mujeres las mayores consumidoras de estas sustancias. La consulta la hizo la secretaria ejecutiva del Consejo

Nacional de Control de Sustancias Estupefacientes y Psicotrópicas (CONSEP) a personas de 12 a 65 años.

Para Flavio Mirella, los estudios demuestran que el consumo de drogas acerca a la población sudamericana peligrosamente a la realidad de EE.UU. y Europa. En Chile y Argentina hay un consumo de marihuana del 7%. Apenas tres puntos menos que EE.UU, en donde el consumo es del 12% y en España es del 11%.

En fin se podría decir que todavía es muy escasa la literatura científica que trata los problemas que plantea el uso del *Cannabis sativa* de forma rigurosa y objetiva, pese a los importantes descubrimientos que se han hecho en los últimos años en torno a esta sustancia.

La sociedad está ante una droga de consumo significativamente importante especialmente en algunos sectores, por lo que su uso representa además una indudable vía de acceso para muchos adolescentes y por lo tanto, un factor de expansión de esta problemática.

En el ámbito provincial y principalmente a nivel local no se han realizado investigaciones con respecto a este tema, pues el mismo es tratado todavía de manera escéptica aunque se puede mencionar que el problema día a día va formando parte de la sociedad. En las trabajadoras sexuales su consumo no se conoce exactamente, esta incidencia se quiere investigar y analizar desde los diferentes puntos de vista sociales como de salud.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Cuál es la incidencia de consumidoras de *Cannabis sativa* en trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo durante el periodo 01 de Julio, al 30 de Septiembre del 2009.

1.3. OBJETIVOS:

1.3.1.OBJETIVO GENERAL.

Determinar la incidencia de consumidoras de *Cannabis sativa* en orina mediante cromatografía en capa fina, en las trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo.

1.3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Determinar la presencia del principal metabolito de *Cannabis sativa* (9-Carboxi-THC), presentes en muestras de orina de las trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo.

Aplicar la técnica cualitativa de cromatografía en capa fina para confirmar la presencia del 9- Carboxi-THC en las muestras de orina sometidas para el análisis.

Conocer la incidencia de consumo de *Cannabis sativa* en las trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo.

1.4. JUSTIFICACIÓN

El consumo de *Cannabis sativa*, nombre científico de la marihuana, esta enfocado dentro de los problemas sociales y de salud mas frecuentes, dañinos en la actualidad para el ser humano.

La exagerada concurrencia por parte de individuos a los prostíbulos ha sido uno de los factores que se ha tomado en cuenta para esta investigación, ya que al existir un probable consumo por parte de las trabajadoras sexuales, se podría pensar que este sea uno de los agentes que inmiscuya al individuo cercano a este tipo de vida a consumir también dicho estupefaciente, creando en si una cadena de consumidores, alrededor de la misma.

En el caso de que las trabajadoras sexuales se administren la droga en mención, también sería necesario investigar en un trabajo posterior las principales causas del posible consumo, aunque de manera superficial se podría determinar que una de las motivaciones es el tipo de trabajo que estas realizan.

La Universidad Nacional de Chimborazo una de las instituciones pioneras en este tipo de investigaciones ha facilitado el desarrollo de la misma al enfocar la problemática real que esta tiene directamente con la sociedad, el lema de que, la investigación debe ser un valor primordial en la formación profesional, ha inculcado a ser partícipes no solo en la observación de los problemas sino también a ser parte de la solución de los mismos.

Al verificar estos puntos como los más importantes y no existir un trabajo relacionado o afín al tema es necesario el desarrollo de esta investigación para de esta manera conocer de forma real que tan frecuente es el posible consumo de este alcaloide en las trabajadoras sexuales que laboran fundamentalmente en los prostíbulos de la provincia de Chimborazo.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.

Nosotros, los autores de esta investigación queremos indicar que en el presente se utilizó como teoría del conocimiento el PRAGMATISMO, ya que al realizar este trabajo asociamos directamente la teoría con la práctica, fundamento específico de nuestra profesión.

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

TOXICOLOGÍA GENERAL

La Toxicología puede definirse como el estudio de los efectos adversos de los xenobióticos. El término xenobiótico proviene del griego, xeno (extraño) y biótico (vida) significa compuesto extraño para la vida o para los seres vivos¹.

Otro término empleado es Tóxico del griego, Toxicon (veneno). Como tal se define toda sustancia que, en contacto con el organismo y por mecanismos químicos o físico químicos, produce alteraciones funcionales y anatómicas incompatibles con la vida.

En general, todo fármaco es potencialmente tóxico, sobre todo por abuso de dosis; en cambio el término veneno es más restringido y debe reservarse para sustancias que en cualquier dosis resultan nocivas para el organismo humano.

¹ Medicina Legal. Eduardo Vargas Alvarado. Pág. 325 – 328.

En palabras de Gallo y Dull “como la medicina, la toxicología es ciencia y arte. Tiene de ciencia la fase de observación y datos, y de arte la fase de predicción. Con frecuencia estas fases se entrelazan pues los “hechos” generados por la ciencia toxicológica son utilizados para desarrollar extrapolaciones e hipótesis, sobre los efectos adversos de agentes químicos en situaciones en donde hay escasa o ninguna información”.

Los orígenes de la toxicología son remotos. Ya el papiro de Ebers (1500 años a.c) se refería a la cicuta, el aconito, el opio y metales como el plomo, el cromo y el antimonio.

Su radio de acción abarca el área biomédica, donde se estudian los mecanismos de acción de los tóxicos como causante de enfermedad; el área de fisiología y la farmacología, donde se emplean agente tóxicos para comprender fenómenos fisiológicos; el área industrial, donde evalúan los riesgos de exposición a tóxico; el área ambiental, donde se estudian los efectos adversos de las sustancias químicas sobre la flora y la fauna, y el área clínica, donde se desarrollan antídotos y tratamientos para las intoxicaciones y el trauma xenobiótico. La toxicología forense es una combinación de química analítica y principios toxicológicos fundamentales. Se refiere fundamentalmente a los aspectos médico-legales de los efectos nocivos de las sustancias químicas en los seres humanos y en los animales.

CLASIFICACIÓN DE LOS TÓXICOS

Los tóxicos pueden clasificarse por su origen, en estado físico, órgano blanco, composición química y mecanismo de acción.

CLASIFICACIÓN DE LOS TÓXICOS

CUADRO Nº.1

Por su origen	Tóxicos de origen mineral Tóxicos de origen botánico Tóxicos de origen animal Tóxicos sintéticos.
Por su estado físico	Tóxicos líquidos Tóxicos sólidos Tóxicos pulverulentos Tóxicos gaseosos
Por el órgano blanco	Hepatotóxicos Nefrotóxicos Hepatotóxicos.
Por su composición química	Aminas aromáticas Hidrocarburos Halogenados.
Por su mecanismo de acción	Inhibidores de sulfhídricos Inhibidores de la colinesterasa Productores de metahemoglobinemia.

FUENTE: MEDICINA LEGAL DE EDUARDO VARGAS ALVARADO

TOXICOCINÉTICA

La toxicocinética es el curso que toda sustancia toxicológicamente activa recorre en el organismo.

Las principales etapas que comprende son las siguientes:

- Absorción
- Distribución
- Biotransformación
- 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 esta la concentración de sustancia activa en el receptor. Este, con frecuencia, tiene una localización anatómica distinta del comportamiento central, donde se toma la muestra para análisis (por ejemplo, la sangre). 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 la sangre o el plasma de la mayoría de los tóxicos con eliminación predominante por vía renal. El compartimiento central esta representado por la sangre y los órganos de elevada perfusión (corazón, cerebro, riñón). A su vez, el compartimiento periférico esta constituido por tejidos de almacenamiento y órganos pobremente perfundidos. Para fines de cálculo, los fármacos y tóxicos son eliminados y absorbidos solamente en el compartimiento central.

En la práctica, los niveles en sangre de un tóxico suelen considerarse así:

Concentración terapéutica.- Nivel en la sangre después de administrar la dosis efectiva en humanos.

Concentración tóxica.- Nivel asociado con manifestaciones nocivas en humanos.

Concentración letal.- Nivel en que un tóxico causa la muerte de una persona.

ABSORCIÓN

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

VÍA DIGESTIVA.- Constituye la más importante vía de acceso de tóxicos. Para llegar a la vena 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 esta ionizada su absorción depende del pH, y cuando no, depende de la liposolubilidad.

Absorción convectiva.- Depende de la diferencia de presión hidrostática en la concentración en el intestino y la concentración en el plasma.

Transporte activo y facilitado.- La molécula se une a un transportador que suele ser proteico, para ser liberado una vez que atraviesa 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 vesícula por la membrana celular. 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 alveolo 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, el mejor ejemplo 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 (ácido sulfhídrico).

DISTRIBUCIÓN

El tóxico absorbido pasa al compartimento central (sangre) o al compartimento 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.

BIOTRANSFORMACIÓN.

La biotransformación tiene por objetivo eliminar al tóxico o convertirlo 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.

ELIMINACIÓN O EXCRECIÓN

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 y gases tóxicos, como el monóxido de carbono, el cianuro, sulfuro de hidrógeno, y de modo parcial el paraaldehido.

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 lo cual los tóxicos son excretados en la bilis y absorbido en el intestino delgado (caso de la digoxina y la espirolactona).

RIÑÓN.- Constituye la principal vía de eliminación de tóxicos o de sus metabolitos. Requiere que sean sustancias solubles en agua.

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, fenciclidina, anfetaminas) y ácidas (fenobarbital, aspirina).

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 cáusticos digestivos, cáusticos respiratorios, cáusticos cutáneos, etc.

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

INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA

Métodos cuantitativos fiables. Una vez que se sospecha la presencia de una sustancia por los test anteriores, su presencia debe confirmarse y cuantificarse al menos por dos técnicas analíticas independientes, basadas en principios químicos diferentes. Los resultados cuantitativos deben ser consistentes. Otros factores que hay que tener en cuenta en la cuantificación del tóxico son evitar al máximo las interferencias y conocer la precisión y exactitud del método utilizado. Esta necesidad de un resultado cuantitativo riguroso exacto caracteriza los análisis e

Toxicología forense, a diferencia de la Toxicología Clínica, donde no se requiere tal precisión.

Tiempo aproximado de análisis.

El tiempo aproximado de análisis define como el intervalo entre la llegada de la muestra al laboratorio y el momento en que se puede ofrecer el resultado analítico. En toxicología forense rara vez se requiere un resultado inmediato, lo que permite al analista emplear el tiempo necesario para realizar la investigación. Esta es una diferencia importante con la toxicología clínica, donde el análisis toxicológico debe ser realizado en el menor tiempo posible para ser útil al médico en el diagnóstico y tratamiento de un intoxicado. Solo en casos excepcionales, como, por ejemplo, una supuesta muerte por monóxido de carbono en una habitación, se exigiría un análisis inmediato para evitar más accidentes por aquella causa, o cuando la decisión judicial depende del dictamen, como en los casos de estupefacientes.

Interpretación de los resultados.

El dato numérico es solo una parte del análisis de toxicológico y, aunque es una parte esencial, no es la única que ha de considerarse en el proceso global. La interpretación requiere tener en cuenta, además, todas las circunstancias implicadas en el caso, la resolución del problema debe hacerse para cada caso en particular por una discusión razonada de todos los hechos y todas las partes que de alguna forma intervienen en la investigación médico-legal. Esta es también una diferencia con la Toxicología clínica, donde la interpretación del resultado analítico, aunque importante, no lleva a ser tan trascendente como en el análisis toxicológico forense.

FACTORES QUE AFECTAN AL METABOLISMO DE LOS TÓXICOS.

Son varios los factores que afectan el metabolismo de los tóxicos, con una influencia sobre su detección en los fluidos biológicos.

Asumen una especial importancia los siguientes:

Vía de entrada.- el metabolismo de un tóxico depende a veces de la vía de entrada, en particular cuando la administración se hace vía oral o intravenosa. Esto puede influir en los niveles de la sustancia y sus metabolitos en sangre, tejidos y excretas.

Un tóxico administrado por vía oral puede seguir una ruta metabólica distinta que el administrado parenteralmente y en especial por vía intravenosa. La razón está en que, al administrar oralmente el tóxico, se va a encontrar con:

- a) Acidez gástrica que puede modificar algunos compuestos.
- b) Enzimas gastrointestinales secretadas al intestino.
- c) Flora intestinal, que puede metabolizar algunos xenobióticos.
- d) Enzimas de la mucosa gastrointestinal durante la absorción.

En la administración intravenosa el compuesto llega al torrente circulatorio directamente y evita el metabolismo en el tracto gastrointestinal, a menos que posteriormente sea excretado por la bilis.

A continuación se exponen algunos ejemplos que ilustran la importancia de la vía de entrada:

- a) Ciertos tóxicos son inestables a las condiciones ácidas o alcalinas del tracto gastrointestinal. Algunas penicilinas se inactivan por el pH gástrico. La talidomida se descompone en numerosos productos de hidrólisis por el pH alcalino del intestino.

- b) La isoprenalina, por vía oral, es transformada durante su absorción gastrointestinal a sulfato de isoprenalina que es el principal producto de excreción. Sin embargo, administrada por vía parenteral, se elimina principalmente sin transformar y como derivado O-metilado tanto libre como conjugado.
- c) Cuando el propanol (bloqueante B-adrenergético) se administra por vía oral, aparecen grandes cantidades de plasma de propanol 4-OH-propanol (activo): sin embargo, si se administra por vía parenteral, no aparece el metabolito 4-OH en plasma.

pH Urinario.- algunos tóxicos originan en su metabolismo productos de conjugación muy polares, como glucorónidos, sulfatos y derivados de aminoácidos, que son ácidos fuertes, casi totalmente ionizados al pH corporal y fácilmente excretados por el riñón por una combinación de filtración glomerular, secreción tubular activa y poca o nula reabsorción pasiva. Su excreción es independiente del pH, pero en la mayoría de los casos los tóxicos son ácidos y bases débiles, y en función del pH urinario pueden reabsorberse, de manera que prolongan su permanencia en el organismo e intensifican su metabolización.

Excreción extrarrenal.- puede ser un factor muy importante. No es extraño que la recuperación en la orina de ciertas sustancias, administradas por vía oral, sea incompleta, apareciendo grandes cantidades de heces. Ocasionalmente este hecho puede deberse a una mala absorción, pero en general este fenómeno se observa aun más cuando el compuesto se administre por vía parenteral.

La excreción abundante de heces de muchos tóxicos es consecuencia normalmente de su excreción biliar, en tales casos aparecen altas concentraciones del tóxico en bilis, contenido intestinal y heces. Además

se almacenan elevadas concentraciones de metabolito en la vesícula biliar, lo cual puede ser de gran interés en la investigación post mortem.

Hay algunas implicaciones peculiares de la vía biliar-fecal:

- a) A consecuencia de la excreción biliar, un tóxico y sus metabolitos pueden perdurar en el organismo en virtud de un ciclo entero hepático (por ejemplo, estrógenos sintéticos, eritromicina, **THC**).
- b) Los glucorónicos excretados por bilis son hidrolizados frecuentemente en el tracto gastrointestinal por la B-glucuronidasa bacteriana y, en consecuencia el tóxico aparecerá en forma libre en heces.

Las vías más comunes de biotransformación son: la conversión sulfóxidos, probablemente con pérdida de actividad; desmetilación, igualmente con reducción de la actividad; hidroxilación, para dar un metabolito activo, y posterior conjugación con ácido glucorónico. En términos generales, del 40-60% de la dosis ingerida es eliminada por la orina en 24 horas.

Los metabolitos urinarios pueden clasificarse en dos grandes series:

- A. Metabolitos poco polares (20%), extraíbles por el diclorometano o dicloroetano, previa alcalinización de la orina.
- B. Metabolitos polares (80%), hidroxilados y conjugados, extraíbles por disolventes orgánicos polares, previa acidificación (pH de 2) y, eventualmente, después de hidrólisis enzimática.

Es evidente que en estos casos habrá que investigar la presencia de metabolitos polares (que son mayoritarios y activos) en la orina (principal

vía de excreción) previa hidrólisis de la muestra. La extracción se hará con disolventes orgánicos polares (por ejemplo, acetato de etilo) en medio ácido.

MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA

La selección de las muestras adecuadas para el análisis y su correcta conservación son requisitos indispensables en una investigación toxicológica.

Las muestras para el análisis toxicológico deben recogerse teniendo en cuenta las condiciones particulares de cada caso y las referentes a la distribución y metabolismos dispuestos en el apartado anterior.

PRINCIPALES MUESTRAS PARA ANÁLISIS TOXICOLÓGICO.

Las muestras usadas con mayor frecuencia son: contenido gástrico, orina, sangre, hígado, bilis, cerebro, riñones.

A continuación se describen algunas consideraciones que hay que tener en cuenta para cada una de ellas:

Contenido gástrico.

El aspirado gástrico, líquido del lavado gástrico (primero 500 ml) o bien el vómito son muestras que deben remitirse siempre que sean posible.

Sangre

Es una de las muestras más útiles para la identificación de tóxicos y especialmente para el análisis cuantitativo.

Orina

La orina representa una muestra idónea para realizar una gran variedad de ensayos preliminares en el screening de tóxicos. Las mayores ventajas de esta muestra son que la concentración de un tóxico en este fluido puede llegar a ser 100 veces mayor que en la sangre y, además, la orina está exenta de proteínas, por lo que las interferencias son mínimas.

Una desventaja es que muchos tóxicos se eliminan prácticamente en su totalidad como metabolitos que a veces son comunes, ya que numerosas ocasiones pertenecen al mismo grupo farmacológico (por ejemplo benzodiazepinas), por lo que en estos casos la identificación del tóxico requerirá el análisis de otro fluido o tejido. Por otra parte, si la muerte se produce rápidamente, como en el caso de la inyección de un analgésico narcótico o por inhalación de ácido cianhídrico, la detección del tóxico o de sus metabolitos en orina será imposible.

A pesar de todo, la orina sigue siendo muestra de detección de drogas de abuso, ya que puede obtenerse fácilmente y en cantidad suficiente, generalmente contiene concentraciones detectables de tóxicos, incluso cuando se han administrado dosis terapéuticas.

Es aconsejable no añadir conservadores que podrían interferir en el análisis posterior debiendo conservarse en frío hasta su análisis. En casos necesarios puede usarse fluoruro sódico o ácido zódico.

Humor vítreo

Su fácil accesibilidad, volumen suficiente (cada 2ml en cada ojo) no contener demasiadas proteínas, estar protegida de la circulación general, poseer pocas enzimas y ser más resistente a la contaminación bacteriana

con factores que hacen a este fluido sumamente útil para el análisis de alcohol y otras drogas.

Hígado

El hígado es un lugar donde se lleva a cabo la biotransformación de la mayoría de los tóxicos y, de hecho, los niveles de tóxicos en este tejido son en general superiores a los de la sangre.

Otros tejidos y fluidos biológicos

Además del hígado, otros tejidos muy utilizados son cerebro y riñón. El **cerebro** es muy útil cuando se trata de muertes por inhalación de disolventes (tolueno, cloroformo, etc.) debido a las altas concentraciones que alcanzan estas sustancias en el tejido cerebral, donde, además, son retenidas tras la muerte. El **riñón** es el tejido de elección en intoxicaciones por metales y otros tóxicos que se acumulan específicamente en él.

ENVASADO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Todas estas muestras deben ser introducidas en recipientes adecuados a ser posible de un solo uso, para evitar la contaminación. De no ser así, deben estar perfectamente limpios y secos.

Las muestras líquidas (sangre, orina, bilis) deben recogerse en tubos o envases de vidrio o plástico, con tapón o cierre de PTFE. Debe evitarse el uso de tapones de goma o material similar, ya que pueden absorber algunas sustancias o contaminar las muestras (Plastificantes). Cuando se sospeche o prevea que las concentraciones del tóxico vayan a ser muy bajas (<10 ng/ml.), es conveniente silanizar los recipientes de vidrio a fin de evitar la absorción del tóxico sobre las paredes de aquéllos.

Las muestras sólidas (hígado, riñón) pueden disponerse en envases de plástico provistos de boca ancha. El tamaño del recipiente debe estar en consonancia con el de la muestra al objeto de que el recipiente quede lleno. Esto tiene la doble finalidad de evitar la pérdida de componentes volátiles y reducir al mínimo la oxidación de los tóxicos por el oxígeno atmosférico. Las tapaderas deben cerrar siempre herméticamente y los recipientes, ir correctamente etiquetados.

Hay que insistir en las muestras destinadas al análisis toxicológico no deben contener conservantes que puedan interferir en el análisis posterior. No obstante, si se considera necesario utilizarlos, los conservantes ideales son la azida sódica (0,1 %, p/v) o el fluoruro sódico (1 % p/v); si se requiere un anticoagulante, el más recomendable es el oxalato potásico (0,5%, p/v). Como es obvio, no se utilizará ninguno de ellos cuando se sospeche una intoxicación por oxalato, fluoruro o ácida.

ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS DESCOMPOSICIÓN QUÍMICA Y BIOLÓGICA

Un tóxico presente en una muestra biológica pueden descomponerse durante el almacenamiento, por lo que ya no será detectado en el análisis. Este hecho es importante cuando no se conoce la identidad del tóxico o no se sabe si realmente existe algún tóxico en una muestra. Son muchos los tóxicos que pueden descomponerse durante el almacenamiento de las muestras de sangre o hígado a 4^o C. entre ellos se pueden citar: benzodiazepinas (clonacepam, nitracam, trizolam), cocaína, isoniacida, lisergida, metadona, metilfenidato, morfina, paracetamol, procaína. Entre los factores que intervienen en la descomposición química y los procesos de putrefacción figuran los siguientes:

Luz

Algunas sustancias tóxicas como los alcaloides del cornezuelo del centeno y las fenotiacinas son fotolábiles. Aunque en muestras sólidas (hígado) u opacas (sangre) suelen ser protegidas, como norma general deben protegerse de la luz. Las muestras de orina y las soluciones acuosas de tóxicos fotolábiles son muy sensibles a la luz, siendo recomendable recubrir con papel aluminio los envases e incluso los recipientes utilizados durante el análisis.

Oxidación

Para aquellos compuestos fácilmente oxidables (por ejemplo catecolamines, tiobarbitúricos), los envases deben estar llenos y perfectamente cerrados para excluir el oxígeno atmosférico. Se pueden adicionar antioxidantes como ácido ascórbico o metabisulfito sódico (1% p/v) para eliminar el oxígeno de la solución, pero estos agentes reductores pueden reducir los metabolitos oxidados de algunos tóxicos presentes en la orina transformándolos de nuevo en sus productos originales (fenotiacinas, antidepresivos triciclos, algunos antihistamínicos). Los compuestos fenólicos (paracetamol, morfina) se oxidan fácilmente a 4° C y aquellos que contiene azufre son también oxidados in Vitro en medio alcalino. Así, el tiopental puede convertirse en pentobarbital durante la re extracción de un disolvente orgánico en una solución acuosa básica y, además, oxidarse rápidamente a temperatura ambiente, tanto en soluciones acuosas como en orgánicas.

Un factor importante en los procesos exudativos es la presencia de iones metálicos que actúan como catalizadores. El efecto de los iones puede disminuirse adicionando una proteína, como la sercalbúmina bovina. Por esto, algunos compuestos lábiles son más estables en plasma que en soluciones acuosas.

Hidrólisis

Muchos tóxicos son ésteres (anestésicos locales, diacetilmorfina o heroína) que pueden ser fácilmente hidrolizados durante el almacenamiento a temperatura ambiente e incluso a bajas temperaturas por las esterasas presentes en la sangre y tejidos. De la misma manera, el pH alcalino durante la extracción puede promover la hidrólisis de algunos compuestos. La actividad esterásica se puede contrarrestar con la adición de fluoruro sódico (1%, p/v). La hidrólisis de los ésteres puede también reducirse llevando el pH de la muestra por debajo de 4.

Temperatura

Las bajas temperaturas favorecen la conservación de las muestras para el análisis toxicológico. En términos generales se recomienda almacenar las muestras a 4°C, siempre que vayan a ser analizadas en unos pocos días. Si van a almacenarse por más tiempo, deben congelarse a -20°C, pero teniendo la precaución de descongelarlas una sola vez antes de ser analizadas.

Durante la congelación-descongelación puede producirse la reducción de ciertos metabolitos (por ejemplo sulfóxidos, Óxidos formados durante el metabolismo de las fenotiacinas), con lo que habrá diferencias importantes entre la concentración inicial del tóxico y hallada en el análisis efectuado tras congelar-descongelar.

Si las muestras han de guardarse mucho tiempo, es recomendable la liofilización, sobre todo en el caso de muestras que vayan a ser usadas como patrones.

DESCOMPOSICIÓN BIOLÓGICA

La putrefacción causada por microorganismos puede ejercer efectos muy importantes en la conservación de muestras con vistas al análisis toxicológico. Algunos tóxicos pueden ser destruidos por la actividad microbiana y, por el contrario, se pueden generar sustancias como alcohol, sulfuro de hidrógeno y ácido cianhídrico, que pueden dificultar la interpretación de un resultado analítico.

Un ejemplo de especial interés es el del alcohol.

Para obtener un resultado fiable y distinguir entre la producción de alcohol ante y post mortem habría que tomar en varias muestras de sangre en diferentes sitios, así como del corazón derecho e izquierdo. Cada muestra se dividiría en dos partes, una de las cuales se guardaría sin ninguna adición y la otra, con fluoruro sódico al 1%. Si las muestras sin conservante o con el tienen concentraciones diferentes, será debido a la producción o destrucción de alcohol por los microorganismos en la sangre. Si ambas muestras arrojan el mismo resultado, puede descartarse la influencia de la putrefacción.

Los restos de alimentos presentes en el estómago de un cadáver pueden fermentar y producir alcohol que puede difundir a los tejidos circundantes del tracto gastrointestinal. Un intenso olor a fermentación al abrir el estómago puede sugerir que se ha ingerido una gran cantidad de alcohol antes de la muerte, aunque esto es una indicación poco fiable de la cantidad realmente ingerida. También puede formarse una pequeña cantidad de alcohol tras la muerte si se inhaló acetato de etilo, ya que este compuesto es hidrolizado rápidamente a alcohol y ácido acético.

Clásicamente se ha considerado que la glucosa de una muestra de sangre es convertida a alcohol; sin embargo, este hecho parece poco

probable, ya que en realidad el contenido de glucosa de una muestra sanguínea sin conservantes desaparece en unas pocas horas, mientras que la producción de alcohol post mortem requiere un mínimo de varios días, así como la presencia de microorganismos en cantidad suficiente.

Contaminación

La contaminación de la muestra consiste fundamentalmente en el paso a ésta de compuestos formados durante la putrefacción de los tejidos, así como componentes de los envases donde se disponen las muestras. Si se tiene en cuenta las precauciones expuestas con anterioridad, estas interferencias pueden evitarse prácticamente en su totalidad.

Interferencias causadas por la putrefacción

Un caso típico es la fenetilamina, base putrefactiva que aparece en tejidos, sangre y orina (por descarboxilación de aminoácidos) antes de los 5 días tras la muerte cuando las muestras no se han almacenado y/o conservado adecuadamente. Esta sustancia se detecta en cromatografía en capa fina y puede confundirse con la metanfetamina. Un toxicólogo forense experto es capaz de distinguir rápidamente estas interferencias.

Contaminantes procedentes de los envases

Fundamentalmente son plastificantes tipo ftalatos, procedentes de los envases de plástico o de los tapones de los recipientes que contienen muestras. También pueden tener su origen en las impurezas de los disolventes utilizados para la extracción. Asimismo son frecuentes los ésteres fosfóricos procedentes de los tapones de los envases. Por ello es conveniente conocer las posibles interferencias del material utilizado en los envases y comprobarlas en cada lote. Algunos de tales contaminantes pueden ser eliminados por tratamientos especiales del extracto o bien con

la utilización de algunas técnicas especiales que disminuyen su interferencia.

NORMAS PARA LA RECOGIDA, PREPARACIÓN Y REMISIÓN DE LAS MUESTRAS

El éxito de la investigación toxicológica se encuentra estrechamente ligado a la calidad, cantidad y grado de conservación de las muestras que se remitan. Las diversas actuaciones de la toxicología forense determinan el tipo de muestra y la investigación requerida en cada caso.

Muestras procedentes de un ser vivo

Los objetivos que se persiguen en el terreno médico-legal mediante el análisis de este tipo de muestras son los siguientes:

1. Establecer el diagnóstico de enfermedades que interesan con fines judiciales
2. Comprobar un estado tóxico y su pronóstico o circunstancias.
3. Detectar el consumo de drogas de abuso.

En la práctica las muestras para estas investigaciones se reducen a sangre y orina, que se remitirán en cantidad suficiente para llevar a cabo los análisis pertinentes y conservar una parte de aquellas en el laboratorio durante algún tiempo para futuras comprobaciones.

La normativa recomendable es la siguiente:

1. Sangre total sin coagular

- a) Agente conservante: dos gotas de heparina o de solución al 10% de fluoruro sódico o EDTA-K, por cada 5 ml sangre. Para la

determinación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica no se debe usar FNa, ya que interfiere en el análisis².

- b) Cantidad: como mínimo 20 ml para la investigación toxicológica general (screening) y la posterior confirmación y cuantificación del tóxico.

2. Orina:

- a) Agente conservante: no debe añadirse ningún conservante o en todo caso, azida sódica (1% p/v). conservar en frío.
- b) Cantidad: un mínimo de 50 ml para el screening general de tóxicos y posibles determinaciones especiales. En general no se requiere orina de 24 horas.

En el caso particular de las drogas de abuso debe vigilarse estrechamente la recogida de las muestras de orina y su envío al laboratorio para garantizar que la muestra analizada corresponde al individuo en cuestión y no ha sido adulterada en modo alguno.

² Toxicología General. Villanueva Cañadas. Pág. 694 – 696.

MUESTRAS DE MAYOR INTERÉS PARA LA INVESTIGACIÓN DE LOS TÓXICOS QUE SE ESPECIFICAN

CUADRO Nº. 2

Tóxico	Sangre	Orina	Contenido gástrico vómitos	Cerebro	Hígado	riñón	Bilis	Pelos	Sustancia Sospecho sa	Jeringuilla papelinas
Drogas de abuso	X	X			X	X	X	X	X	X
Alcohol etílico	X									
Disolvente orgánicos	X	X	X	X					X	
Medicamentos	X	X	X	X	X	X			X	
Plaguicida	X	X	X	X	X	X	X		X	
Metales	X	X	X	X	X	X		X	X	
CO y gases	X									

FUENTE: TOXICOLOGÍA GENERAL DE VILLANUEVA CAÑADAS

EXTRACCIÓN DE TÓXICOS VOLÁTILES

Destilación

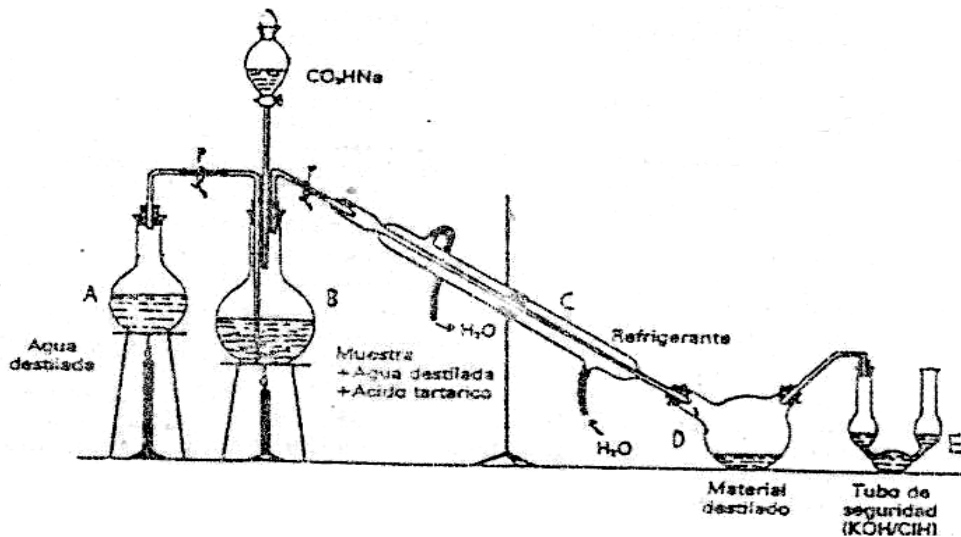
A través de la destilación simple y fraccionada pueden separarse sustancias volátiles de mezclas homogéneas. Pueden separarse sustancias solubles en el medio en que se encuentran, generalmente acuoso (tejido, orina, sangre, etc.). La destilación simple presenta aplicación limitada debido a que los puntos de ebullición de las sustancias a separar deben diferir por lo menos, 30°C y por otra parte, se requiere una cantidad de muestra considerable. En cambio, a través de la

destilación fraccionada pueden separarse sustancias cuyos puntos de ebullición se encuentren más cercanos.³

En Toxicología una técnica muy apropiada es la destilación con arrastre por vapor dado que proporciona varias ventajas con respecto a las anteriores. Es de suma importancia en el caso en que sea necesario separar una pequeña porción de un compuesto débilmente volátil de un material no volátil. Como técnica, puede ser directa o indirecta. En el caso de la destilación con arrastre por vapor directa, el vapor de agua se genera en el mismo recipiente que contiene la muestra, mientras que en la indirecta el vapor se genera en un recipiente y se hace burbujear en otro que contiene la muestra con el material biológico (por ejemplo, vísceras). Se recomienda el empleo de la destilación indirecta en el caso en que puedan registrarse proyecciones o carbonización de la muestra.

MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR DESTILACIÓN

GRAFICO Nº. 1



FUENTE: TOXICOLOGÍA GENERAL DE VILLANUEVA CAÑADAS

³ www.Wikipedia.com. Destilación de tóxicos volátiles.

Extracción de tóxicos minerales o inorgánicos.

Estos tóxicos en el organismo firmemente unidos a albúmina, lípidos o glúcidos, siendo requisito indispensable la destrucción de la materia orgánica para poder abordar su análisis⁴.

La destrucción de la materia orgánica y la consiguiente liberación del tóxico se consiguen mediante un proceso conocido como mineralización del cual existen dos modalidades:

- a. Vía seca: calcinación.
- b. Vía húmeda: tratamiento con oxidantes enérgicos (mezcla sulfonitro-perclórica).

Extracción de tóxicos orgánicos.

Se incluyen en este grupo todas las sustancias tóxicas orgánicas y no volátiles que pueden separarse mediante extracción con disolventes apropiados, en función de sus coeficientes de reparto entre dos líquidos no miscibles. Se incluyen aquí:

- a. Tóxicos de origen vegetal: glucósidos, aceites esenciales y **alcaloides**.
- b. Medicamentos.

Como norma general, estos tóxicos se extraen con disolventes orgánicos, pudiendo considerarse las siguientes modalidades:

- a. Con disolvente polar (etanol): utilizando en la clásica técnica de Stas-Otto.

⁴ Toxicología General. Villanueva Cañadas. Pág. 700 – 705

b. Con disolvente polar: que puede ser:

- Extracción directa: solo es aplicable a muestras biológicas <<limpias>>, como la orina, y también en el caso de vísceras para la extracción de tóxicos orgánicos de tipo ácido.
- Extracción con disolventes orgánicos, previa purificación de la muestra: normalmente las muestras que hay que analizar contienen gran número de sustancias (proteínas, lípidos) que interfieren y dificultan el análisis toxicológico. En consecuencia, se hace imprescindible aplicar un tratamiento especial dirigido fundamentalmente a eliminar las proteínas. Esto puede hacerse por tratamiento con distintos agentes precipitantes de las proteínas como:
 - Sulfato amónico (básicos)
 - Ácido túngstico (ácidos y neutros)
 - Ácido tricloroacético
 - Ácido clorhídrico diluido (digestión ácida)
 - Digestión enzimática.

Llevada a cabo la purificación, se procede a realizar la extracción con disolventes orgánicos, de los que los más frecuentes suelen ser: éter etílico, cloroformo y diclorometano. El paso siguiente será el fraccionamiento del extracto.

Fraccionamiento del extracto. La gran variedad de tóxicos orgánicos conocidos exige un fraccionamiento del extracto antes de proceder a su análisis.

Se pueden dividir los tóxicos orgánicos en:

- a. Ácidos: débiles (barbitúricos) o fuertes (salicilatos), unos y otros extraíbles con disolventes en medio ácido.**

- b. Básicos: extraíbles con disolventes orgánicos en medio básico (alcaloides, antidepresivos tricíclicos, etc.).
- c. Neutros: extraíbles con disolventes orgánicos indistintamente en medio ácido o básico (carbamatos).

Cada una de las fracciones obtenidas ya puede someterse al correspondiente análisis. En el caso de muestras complejas (vísceras), este proceso iría precedido de la consiguiente precipitación de proteínas, según se ha indicado anteriormente. Por otra parte, dado que muchos tóxicos se encuentran en los medios biológicos conjugados con ácidos glucurónicos u otros componentes, puede ser necesario someter las muestras a una hidrólisis previa a la extracción, con objeto de facilitar la detección de dichos tóxicos. La hidrólisis puede ser química (tratamiento con ácido clorhídrico en caliente) o enzimática (B-glucuronidasa), aumentando así la recuperación de tóxicos como la morfina, **Cannabis**, fenotiacinas, etc., aunque la primera de ellas puede ser perjudicial para algunos tóxicos lábiles, como la atropina, cocaína, etc., ya que puede hidrolizarse.

Técnicas instrumentales

En la actualidad existe una gran variedad de técnicas a disposición del toxicólogo que abarcan los clásicos, métodos no instrumentales (reacciones colorimétricas, test micro cristalinos, etc.) hasta los métodos instrumentales mas sofisticados.

En efecto, el análisis químico ha experimentado en los últimos años un considerable desarrollo, caracterizado esencialmente por el empleo de instrumentos, más o menos complejos, capaces de medir propiedades físicas o químicas, que permiten la identificación y la cuantificación de los compuestos químicos. Estas técnicas instrumentales presentan indudables ventajas sobre los métodos analíticos clásicos, aunque

también tienen ciertas limitaciones que concentran su campo de aplicación.

REACCIONES DE COLORACIÓN

Muchas sustancias producen colores cuando se ponen en contacto con diversos reactivos químicos⁵; en algunos casos el color producido con un reactivo particular puede ser específico para el compuesto que se está analizando, pero la mayoría de las veces la reacción de color no es específica para un compuesto simple, sino que es producida por un gran número de compuestos y algunas veces por sustancias que no están clasificadas dentro de este grupo.

En la mayoría de las pruebas el color está relacionado con aspectos particulares de la estructura de la sustancia, pero no es posible explicar el fenómeno que ocurre, y algunas veces, el por qué se presentan respuestas anómalas sin razón aparente.

En general se produce un amplio rango de colores difícil de discriminar ya que el concepto de color se considera una apreciación subjetiva. Por lo tanto, se ha adoptado un sistema de comparación en el cual se utilizan los 10 colores básicos: rojo, naranja, amarillo, verde, azul, violeta, rosado, café, gris y negro. Sin embargo, se pueden presentar variaciones por la combinación de colores; en este caso, se indican los dos colores que aparecen, colocando en último lugar aquel que predomina.

Los colores obtenidos pueden ser leves o intensos dependiendo de las condiciones de la prueba, la cantidad de sustancia presente y la presencia de materia extraña.

⁵ Guía de Técnicas de Análisis de Estupefacientes. Crisanta Alonso de Lizcano – Amparo Básquez. Pag. 14 – 18.

La decisión final sobre el resultado de una prueba se debe hacer por comparación de la sustancia desconocida con una sustancia de referencia bajo las mismas condiciones.

Los colores que se obtienen se refieren generalmente al ácido libre o a la base; en el caso de sales, los colores pueden modificarse por la presencia de otro radical presente. Las sales básicas de ácidos fuertes pueden desarrollar diferentes colores dependiendo del cambio del pH.

REACCIONES DE PRECIPITACIÓN

El fenómeno de precipitación consiste en un proceso de nucleación y de crecimiento cristalino. El primero ocurre cuando se forman partículas pequeñas de un sólido, capaces de crecimiento espontáneo a partir de una solución saturada. Tal crecimiento consiste en el depósito de iones de la solución sobre la superficie de la partícula.

PRUEBA DE MICROCRISTALOGRAFÍA

Cuando una sustancia reacciona con un reactivo apropiado [usualmente una sal de un metal pesado), las sustancias precipitan para formar cristales de color y forma característica, los cuales pueden ser observadas bajo el microscopio; la forma relativa y el tamaño de las moléculas influyen en la forma de los cristales.

En 1891, Lehman demostró que la cristalización de un compuesto orgánico es una característica física del compuesto. Los cristales son cuerpos sólidos conformados por caras, ángulos y aristas; los cristales de una sustancia presentan ángulos iguales entre caras y aristas, a la misma presión y temperatura. Las caras existentes o posibles en los cristales de una sustancia están ligadas entre sí geométricamente por números racionales y sencillos.

Cuando el cristal está bien conformado, la medición de sus ángulos es el medio más seguro para identificar la especie cristalina; de aquí salió la «Ley de la Constancia de los Ángulos», descrita y enunciada en 1669 por el danés Nicolás Stensen. Un siglo más tarde las mediciones realizadas por Romé de L'Isle, le dieron validez. En 1823, Mits Cheriich demostró que la ley se cumple si la temperatura se mantiene constante. Esto se debe a que los cristales térmicamente anisótropos manifiestan diferentes dilataciones por efecto de la temperatura. La influencia de la presión es menor que la de la temperatura.

El mecanismo de la cristalización es un proceso muy complejo ya que envuelve los fenómenos de difusión, formación de núcleos y crecimiento de cristales. Para que se produzca la cristalización se requiere sobresaturación, esto es: que la solución contenga al menos momentáneamente más soluto que el valor de saturación para las condiciones dadas de temperatura, presión y composición.

La sobresaturación puede producirse de tres maneras:

- Variando la temperatura de modo que disminuya la solubilidad, puesto que la solubilidad de casi todas las sustancias suele aumentar al elevarse la temperatura.
- Eliminando el solvente por evaporación.
- Cambiando la naturaleza de la solución por adición de una sustancia que, por reacción, produce una sustancia insoluble en el disolvente.

Entre las condiciones de una buena cristalización tenemos:

- Se deben obtener cristales característicos.
- Los cristales deben ser fácilmente reconocibles.
- Deben obtenerse con facilidad.

- Deben obtenerse dentro de un amplio rango de concentraciones.
- Deben ser estables.
- Deben mantener su forma, aún en presencia de otros materiales.
- La presencia de contaminantes no debe influir en la cristalización.
- Se prefieren las pruebas que generen cristales coloreados.
- El reactivo [blanco], no debe cristalizar en forma que puedan generar dudas con el analito.
- Se prefieren los reactivos permanentes.
- Se prefieren los reactivos que evaporen lentamente.

ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA

El espectro de absorción de una sustancia se obtiene al hacer pasar una radiación electromagnética seleccionada a determinada longitud de onda, a través de una celda del espectrofotómetro, instrumento que permite hacer las determinaciones. Dependiendo de la estructura de la sustancia se produce una absorción de luz, que se denomina *absorbancia A*, y equivale al logaritmo de la relación de intensidades entre el rayo de luz emitido I y el rayo de luz incidente I_0 .

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

El porcentaje de transmitancia, %T, se define como:

$$\%T = I / I_0 \times 100$$

$$A = 2 - \log \% T$$

En la espectrofotometría ultravioleta (UV) se produce en la molécula excitación electrónica debida a la recepción de la luz UV entre 200 y 300 nm, la cual promueve electrones sigma o pi y electrones no compartidos a niveles superiores. Sin embargo, el espectro UV de una función varía por

la presencia de grupos adicionales dentro de la molécula y por esa razón se utiliza menos para identificar estructuras.

Para obtener el espectro UV se acostumbra disolver la sustancia en un solvente apropiado que no presente absorción alta en la región escogida. El problema fundamental de esta técnica es la interferencia espectral de compuestos, por lo que debe ser utilizada conjuntamente con otras técnicas químicas e instrumentales para tener seguridad en la identificación y cuantificación final del compuesto.

ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA

En la espectroscopia infrarroja [IR] se hace pasar la luz por un prisma que va cambiando de posición y en consecuencia varía su longitud de onda. Luego pasa por la muestra en donde se producen fenómenos de absorción y emisión de luz, y por último, se determinan los cambios en un aparato de registro automático que produce el espectro característico.

La absorbencia de energía en determinadas longitudes de onda se debe a las vibraciones que presentan los enlaces, que son de dos tipos: las vibraciones de tensión, en las cuales los enlaces se encogen y se alargan, y las vibraciones de deformación, en las que se produce la deformación del plano que forman los núcleos del enlace, y por lo tanto el plano se dobla.

Al aplicar energía a los enlaces en la región de luz infrarroja (IR), estos aumentan la amplitud de la vibración. Al regresar la molécula de su estado excitado al estado normal emite el exceso de energía en forma de calor y así lo registran los termopares que posee el espectrómetro.

Cada tipo de enlace, cada función, cada anillo, y en general cada estructura, producen un tipo de bandas de absorción determinadas en

longitudes más o menos fijas y así es posible su identificación dentro de una molécula.

Por otra parte la existencia y la ubicación de estas bandas se puede predecir desde el punto de vista teórico mediante consideraciones de simetría y cálculos a partir de ecuaciones cuánticas de las moléculas.

ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas es la técnica analítica instrumental más extraordinaria y completa que existe hoy en día. Entre las características que ofrece están:

- Identificación. Puede identificar cualitativamente de forma inequívoca casi cualquier tipo de sustancia desde átomos o compuestos sencillos, hasta moléculas extremadamente complejas y lábiles.
- Es cualitativa y cuantitativa. No solo es capaz de identificar la sustancia analizada proporcionando un espectro que es la "huella dactilar" de la molécula, sino que también puede cuantificar y medir la concentración de la misma.
- Posee gran sensibilidad. Puede detectar prácticamente cualquier elemento en concentraciones del orden de los picogramos.
- Es universal y específica, es decir, puede analizar sustancias o mezclas de sustancias sólidas, líquidas o gaseosas, y también es capaz de detectar y separar una sustancia concreta en presencia de una matriz compleja.
- Puede proporcionar información estructural de la molécula analizada, energía de enlaces, información cinética, fisicoquímica, etc.
- Es una técnica muy rápida, puede realizar un espectro en décimas de segundo.

Cuando una solución que contenga el analito a analizar se inyecta en el espectrómetro de masas, se ioniza. El sistema de ionización más usado es de impacto electrónico (EI) que bombardea la molécula con una cierta energía, capaz de provocar la emisión estimulada de un electrón de la molécula y así ionizarla.

Además de moléculas ionizadas o iones moleculares $[M^+]$, también se forman iones fragmentos debido a la descomposición de iones moleculares con exceso de energía. El tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de la molécula analizada y de las condiciones del proceso de ionización y se denomina patrón de fragmentación.

Una vez las moléculas de la muestra se han ionizado, se aceleran mediante campos eléctricos que comunican una misma energía cinética a todos los iones formados.

Los iones seguirán una trayectoria de la cual serán desviados mediante campos eléctricos o magnéticos. La desviación será mayor o menor dependiendo de la masa y velocidad del ion.

La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra produce el espectro de masas de una sustancia que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación inequívoca de la sustancia analizada.

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Esta técnica, conocida mundialmente con la sigla HPLC [*High Performance Liquid Chromatography*], es un método de separación con detectores

altamente sensibles, alta velocidad de separación y una alta eficiencia.⁶ La separación se realiza básicamente por equilibrios dinámicos entre la fase móvil y la estacionaria. Tiene la ventaja, sobre otras cromatografías, de que los compuestos no-volátiles o térmicamente inestables pueden ser analizados sin descomposición.

La fase estacionaria se encuentra en una columna de acero inoxidable rellena de material de soporte consistente en pequeñas partículas (10 micras o menos de diámetro) que tienen un centro sólido y una superficie porosa. Esta fase también puede ser un líquido, un polímero o un sólido, recubierto con una fina película que reduce la resistencia a la transferencia de masas, para así establecer más rápido el equilibrio entre la fase móvil y la fase estacionaria.

La fase móvil está constituida por un líquido o una mezcla de solventes con una polaridad determinada, dependiente de la polaridad de la columna y de los componentes de la mezcla que se va a separar.

Los otros componentes del equipo son: un detector de alta sensibilidad, una bomba de alta presión, un inyector para introducir la muestra y un sistema de integración de datos.

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA

Se emplea para la separación de muestras o purificación de sustancias a escala preparativa. Como fase estacionaria se usa generalmente gel de sílice o alúmina dentro de una columna. La elección del solvente es crucial para una buena separación. Dicho disolvente pasa a través de la columna por efecto de la gravedad o bien por aplicación de presión. La

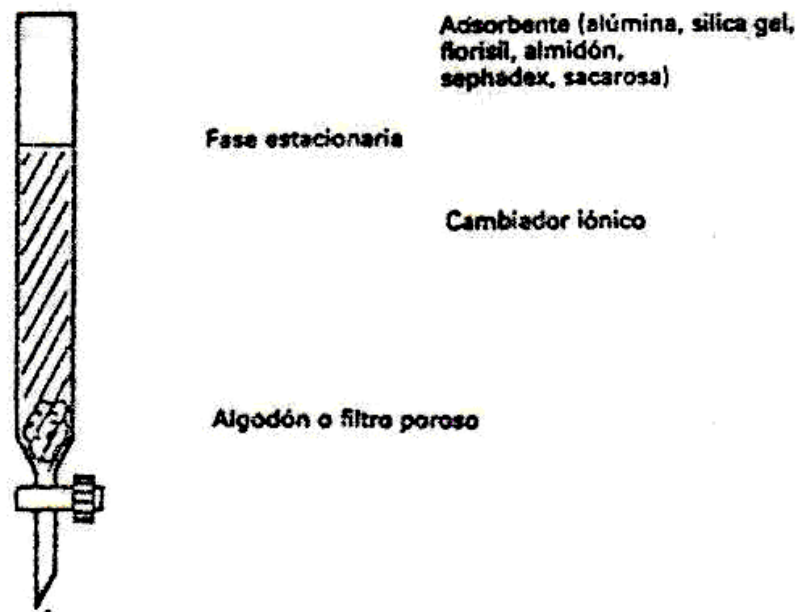
⁶ Guía de Técnicas de Análisis de Estupefacientes. Crisanta Alonso de Lizcano – Amparo Básquez. Pág. 20 – 21.

columna se prepara mezclando el soporte con disolvente y se rellena la columna poniendo en el fondo de esta un poco de algodón o lana de vidrio, para evitar que la sílica o la alúmina queden retenidas en la columna y que el disolvente se enrase hasta el nivel de soporte. A continuación se introduce la muestra por la parte superior de la columna y se eluye con el disolvente elegido, recogién dose por lo general en tubos de ensayo. Una columna cromatográfica es un tubo de vidrio relleno con una sustancia sólida de propiedades adsorbentes constituidas por pequeñas partículas gel de sílice y alúmina.

Este relleno es lo que se conoce en cromatografía como la fase estacionaria. A través de la columna se hará pasar una corriente de un disolvente o mezcla de disolventes denominada eluyente y / o fase móvil.

COLUMNA CROMATOGRÁFICA

GRAFICO Nº. 2



FUENTE: TOXICOLOGÍA GENERAL DE VILLANUEVA CAÑADAS

CLASIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS SOBRE LA BASE DE DIFERENTES CRITERIOS

CUADRO Nº. 3

Atendiendo a la naturaleza de la fase móvil y la fase estacionaria	Cromatografía líquida:	<ul style="list-style-type: none"> - Cromatografía - líquido –líquido - Cromatografía - líquido – sólido
	Cromatografía gaseosa	<ul style="list-style-type: none"> - Cromatografía - gas – líquido - Cromatografía - gas - sólido
Atendiendo a la naturaleza de la fase móvil y la fase estacionaria	Cromatografía líquida:	<ul style="list-style-type: none"> - Cromatografía - líquido –líquido - Cromatografía - líquido – sólido
	Cromatografía gaseosa	<ul style="list-style-type: none"> - Cromatografía - gas – líquido - Cromatografía - gas – sólido
Atendiendo el tipo de soporte sobre el que se dispone la fase estacionaria	Cromatografía en columna	<ul style="list-style-type: none"> - Convencional - Gases - CLAR.
	Cromatografía en papel	
	Cromatografía en capa fina	
Atendiendo al tipo de interacciones entre el soluto y el lecho cromatográfico	Cromatografía de reparto	
	Cromatografía de adsorción	
	Cromatografía de intercambio iónico	
	Cromatografía de filtrado sobre gel.	
	Cromatografía sobre fases químicamente ligadas.	

FUENTE: TOXICOLOGÍA GENERAL DE VILLANUEVA CAÑADAS

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.

CUADRO Nº. 4

Cromatografía	Fase móvil	Fase estacionaria	Interacción soluto	Ventajas	Desventajas
En columna (CC)	Líquido	Sólido Líquido	Absorción Reparto Intercambio iónico Exclusión molecular	Equipo y espacios mínimos facilidad de operación	Poca eficacia Mucha muestra Lentitud
En papel (CP)	Líquido	Líquido	Reparto	Poca muestra Sencillez	Mala resolución Lenta
En capa fina (CCF)	Líquido	Líquido Sólido	Reparto Absorción Intercambio iónico Exclusión molecular	rapidez Sencillez Buena resolución Especificidad Equipo y espacio mínimos No requiere personal especializado	Dificultad en la cuantificación
De gases (GLC)	Gas (A presión)	Líquido Sólido	Reparto Absorción	Rapidez Excelente resolución Identificación y cuantificación Poca muestra	Equipo costoso Requiere personal especializado No aplicable sustancias alterables térmicamente o de PM elevado
Líquida de alta resolución (CLAR)	Líquido (a presión)	Sólido Líquido	Reparto Absorción Intercambio iónico Exclusión molecular Fases químicamente ligadas.	Las de GLC y, además: Mayor rapidez Mejor resolución Aplicable a mayor número de sustancias	Equipo costoso Requiere personal especializado

FUENTE: TOXICOLOGÍA GENERAL VILLANUEVA CAÑADAS

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF)

Esta variedad es particularmente adecuada para cualquier laboratorio, grande o pequeño, por su rapidez, facilidad de operación, buena resolución y especificidad. Además, requiere un equipo y espacio mínimo, no se necesita personal especializado y permite la determinación simultánea de varias muestras. Es una excelente solución intermedia entre la cromatografía en papel (mas barato, pero que requiere mucho tiempo para su realización) y la cromatografía de gases (más sensible, pero más cara).

La cromatografía en capa fina es semejante a la cromatografía en papel en muchos aspectos. Aquí se utiliza una fina capa de absorbente que se aplica sobre una placa de vidrio o poliéster. La capa fina (fase estacionaria) puede llevar una sustancia, como sulfato cálcico, que asegura la fijación del material sobre el soporte. El absorbente puede contener también compuestos orgánicos fluorescentes que sirven como indicadores de la presencia de sustancias incoloras.

La capa de absorbente puede sacarse al aire o a temperatura elevada, si necesita calor para su activación, La aplicación de la muestra y el desarrollo en una cubeta se hacen como en el caso de la cromatografía en papel. El desarrollo se consigue en 45-90 min. Una vez seca la placa, pueden detectarse las manchas por métodos físicos o químicos.

Un aspecto que hay que destacar en la cromatografía en capa fina es su gran capacidad para separar sustancias procedentes de artefactos biológicos que son extraídos conjuntamente por los procedimientos de extracción. Otro de sus atributos es la seguridad que ofrece a analista: si el resultado es negativo, esta información puede ser tan significativa como un resultado positivo.

FACTORES IMPLICADOS EN LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA:

- a. **Absorbentes:** sílica gel (es el material de elección en Toxicología). Alúmina (óxido de aluminio), kieselguhr (tierra de diatomeas), silicato magnésico, resinas cambiadoras, sephadex, celulosa.
- b. **Ligantes:** sulfato cálcico, almidón, carboximetil celulosa.
- c. **Colocación de la muestra:** extractos de la muestra en etanol, cloroformo, acetona o éter. Aplicación con tubo capilar o micropipeta. Las muestras se colocan a unos 2 cm. por encima del borde de la placa, procurando que la mancha no supere un diámetro de 5 mm.
- d. **Desarrollo:** unos 10-12 cm. Las placas suelen ser de 20 x 20 cm. Que se desarrollan en cubetas de 22 x 22 x 4 cm. Se necesita un volumen de disolvente de 100 ml.

LOCALIZACIÓN DE LAS MANCHAS.

Una vez seca la placa, se examina a la luz ultravioleta: si el absorbente contenía un indicador fluorescente, o después de pulverizar con spray de fluoresceína, se pueden detectar algunas muestras: otras sustancias absorben la luz ultravioleta indicando así su presencia. Existe un elevado número de reveladores para cromatografía en capa fina, entre los que se pueden destacar:

- e. Luz UV (254 nm – absorción – y 360 nm – fluorescencia -)
- f. Reveladores específicos de grupos para tóxicos ácidos y tóxicos básicos, en nuestro caso:
 - Reactivo de Dragendorf = manchas naranja (benzodiazepinas) o marrón rojizo (alcaloides).

Identificación.

Después de cada pulverización se anotan los Rf de las manchas que aparecen, así como el color, que constituyen la base de la identificación. El Rf (<<relación frontal>>) se define como el cociente entre la distancia recorrida por la mancha problema y la que ha recorrido el frente del disolvente ($R_f = R_x/R_s$). No siempre es posible la identificación absoluta por cromatografía en capa fina, lo que hace aconsejable determinar los valores de Rf con dos o tres sistemas de disolventes.

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

GRAFICO N°. 3



FUENTE: WWW.EMAGISTER.COM

CROMATOGRAFÍA DE GASES (GLC)

En este sistema la fase móvil es un gas inerte (hidrógeno, argón, nitrógeno) que fluye a través de una columna que contiene la fase estacionaria; ésta puede ser un absorbente (cromatografía gas – sólido) o un soporte inerte cubierto por un líquido relativamente poco volátil (cromatografía gas – líquido). El tubo de la columna tiene entre 3 y 6 mm de diámetro y puede ser de cobre, aluminio, acero inoxidable, vidrio o cuarzo. Está lleno de un soporte finamente tamizado que puede haber sido lavado con un ácido o una base y tratado con un silano como el hexametildisilazano para reducir los sitios de absorción. La silanización reemplaza los hidrógenos del soporte por el radical trimetil-silil. El soporte, tratado o no, está recubierto con una fase estacionaria adecuada⁷.

Para gases y solutos no polares de alta volatilidad puede usarse cromatografía gas-sólido. Así no se requiere ningún líquido sobre la gran área superficial del absorbente de relleno. Técnicas recientes han eliminado la necesidad de empaquetar con un soporte sólido, al utilizar un tubo capilar cuyas paredes están recubiertas con la fase estacionaria líquida.

La columna es solamente una parte del sistema cromatográfico. La unidad debe disponer, además, de un horno perfectamente regulado que albergue la columna; un inyector a través del cual se puede introducir la muestra en la columna; un detector (también con temperatura regulable); un medio de programar y regular el flujo de la fase móvil y cualquier otro gas que pueda necesitar el detector, y un medio adecuado para amplificar y registrar aquello que el detector <<descubre>> en el efluente. En la práctica se introduce una muestra en el inyector, donde es volatilizada inmediatamente y de donde es recogida por el gas portador y

⁷ Toxicología General. Villanueva Cañadas. Pág. 714 – 716

transportada a través de la columna. Los componentes de la mezcla se mueven a través de la columna a velocidades distintas que dependen de su volatilidad relativa y su solubilidad en la fase estacionaria. Los componentes más solubles son retenidos más tiempo en la fase estacionaria y los menos solubles atraviesan con mayor rapidez la columna.

Cada componente de la mezcla es detectado a un tiempo específico y característico en unas determinadas condiciones de trabajo (tiempo de retención, T_3).

Posteriormente, la señal es amplificada electrónicamente y registrada como una serie de picos, obteniéndose así un cromatograma. El análisis cualitativo se basa en los tiempos de retención de cada pico, mientras que la intensidad de la señal (en área de pico o altura de pico) es función de la concentración de cada componente. Así es posible la cuantificación mediante la utilización de patrones de concentración conocida, en cualquiera de las modalidades normalmente empleadas (patrón interno, curva de calibración).

TÉCNICAS INMUNOQUÍMICAS

Todas ellas se basan en los procedimientos inmunoquímicos clásicos y utilizan como principio analítico la reacción antígeno- anticuerpo. Utilizan un complejo antígeno- anticuerpo donde el antígeno es el tóxico convenientemente marcado.

El ensayo consiste en el desplazamiento competitivo del este marcado del complejo antígeno- anticuerpo por el tóxico libre presente en la muestra analizada.

El tóxico marcado, liberado al medio se utiliza para determinar la presencia y/o concentración del mismo presente en la muestra problema.

Los métodos inmuno químicos más importantes para el análisis toxicológico son:

- Radioinmunoanálisis
- Enzimoimmunoanálisis
- Inhibición de la hemoaglutinación

TÓXICOS ORGÁNICOS

Este grupo es el más numeroso y el que con mayor frecuencia está implicado en intoxicaciones de todo tipo. Ello supone una mayor dificultad desde el punto de vista metodológico, ya que se necesita cubrir un amplio grupo de sustancias a veces con diferencias acusadas en sus propiedades físico-químicas.

Para el screening inicial tras la extracción con disolventes, según se ha descrito con anterioridad, se pueden utilizar técnicas sencillas, como cromatografía en capa fina y ensayos inmunoquímicos. La cromatografía en capa fina ha sido clásicamente la técnica de elección en razón a reunir características de sencillez, rapidez, bajo costo, capacidad para detectar simultáneamente varias sustancias presentes en una muestra y posibilidad de realizar el análisis en cualquier momento por no requerir instrumental complejo.

Mediante la utilización de una serie adecuada de patrones y medios de desarrollo, la cromatografía en capa fina pretende detectar en un tiempo razonablemente corto gran número de sustancias. Los valores de R_f en combinación con un revelado secuencial permiten detectar e identificar sin dificultades los componentes de los principales grupos terapéuticos de interés (barbitúricos, antidepresivos tricíclicos, etc.). Los inconvenientes que se atribuyen a esta técnica en cuanto a necesidad de múltiples extracciones, interpretación subjetiva de los resultados, falta de

sensibilidad, etc. Están actualmente superados, existiendo en el mercado kits que facilitan en gran medida el manejo de las muestras, de las que solo se requiere un volumen mínimo. Se consigue así reducir el modo considerable el tiempo de análisis; para la mayoría de los tóxicos la sensibilidad es de 1 mg/l.

El screening se puede complementar con el empleo de técnicas inmunoquímicas, para aquellos grupos de tóxicos orgánicos que requieran una especial sensibilidad o presenten características muy particulares.

Aunque el screening para estos puede abordarse también por técnicas como cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución, la cromatografía en capa fina representa una alternativa válida y accesible a cualquier laboratorio.

A continuación se describen algunos métodos de aplicación en el screening general de tóxicos orgánicos. Se puede aplicar a estos productos una serie de ensayos colorímetros de fácil ejecución o que permiten detectar los fármacos y drogas de abuso (cocaína, heroína, cannabis, etc.) más comunes.

Cannabis sativa

HISTORIA

La marihuana más antigua que se conoce relacionada con los humanos esta datada en miles de años de antigüedad, 789 gramos aparecieron en la tumba de una momia caucásica al oeste de China, en Shangai, desierto del Gobi, cerca de Turpán. Se trataba de un chamán de la cultura Gushi, vinculada con los Tocarios. No consta que en esa zona se utilizara el cáñamo como alimento o para confección. Se cree que era cultivada y utilizada de modo terapéutico o adivinatorio⁸.

De hace 1700 años son otros restos encontrados en Judea, donde se usaba como sedante en los partos inhalándola.

HISTORIA CRONOLÓGICA

Aunque hoy la marihuana es una droga prohibida y perseguida, esto no siempre fue así. De hecho, hay registros de uso del *Cannabis* básicamente medicinales desde hace 4000 años en lugares tan distantes como China, India y Oriente Medio. Para el siglo XIX se la empleaba extensivamente en toda Europa y paradoja máxima en EE.UU. era de venta libre y se la promocionaba como cura para una amplia variedad de desórdenes.

A continuación algunas fechas claves que marcan la particular evolución en la consideración pública de esta sustancia.

⁸ www.wikipedia.com

- 2800 A.C: Primer uso documentado en medicina. Se la usaba en China para la constipación, la gota, la malaria y el reumatismo.
- 1000 A.C: El Bhang, una preparación de *Cannabis* se usaba como anestésico
- 500 A.C: Se usaba en medio oriente como analgésico y antiséptico. Se extiende a África y a Europa.
- 1800: El *Cannabis* se usa ampliamente en Europa como sedativo y calmante. Y se registran los primeros casos de uso "estimulante".
- 1928: La prohibición comienza en Gran Bretaña.
- 1937: Se la pone fuera de la ley en todos los EE.UU.
- 1964: Se aísla el hoy estudiado componente activo: el tetrahidrocannabinol (THC).
- 1970: Primeros estudios científicos controlados sobre los efectos del THC.
- 1988: Se descubre que las células cerebrales tienen receptores naturales específicos para el THC.
- 1992: Se encuentra que el metabolismo del ser humano produce sustancias similares al THC, como la anandamida.
- 1992: Se autoriza el uso de THC sintetizado en laboratorio para tratar las náuseas en pacientes con sida.
- 1997: Se aísla un segundo componente natural del cerebro, estrechamente emparentado desde la bioquímica con el THC. Se denomina 2-AG.
- 2005: Primer medicamento farmacéutico producido en base a marihuana procesada, el Sativex, está a punto de ser aprobado por las autoridades médicas canadienses.

El *Cannabis sativa* es una especie herbácea con propiedades psicoactivas. Es una planta anual originaria de las cordilleras del Himalaya, Asia, sus usos van desde la aplicación textil o alimentaria en el

caso de las variedades sin contenido de THC (cáñamo), hasta como sustancia psicoactiva en las variedades bajo los nombres de marihuana (cogollo) o hachís (su resina). Debido a sus propiedades psicoactivas, es una de las pocas plantas cuyo cultivo se ha prohibido o restringido en muchos países. Marihuana es un término genérico empleado para denominar a los cogollos de ésta planta, que son su órgano reproductivo femenino, y al hachís, polen prensado de la flor, que contiene las concentraciones más altas tetrahidrocannabinol (THC).

***Cannabis sativa* EN ESTADO SILVESTRE**

GRAFICO Nº. 4



FUENTE: WWW. WIKIPEDIA.COM

CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

División: Espermatofita
Familia: Moráceas
Género: *Cannabis*
Especie: *sativa*

Orden: Urticales, Ruderslis
Clase: Angioespermae
Subclase: Dicotiledóneas
Variedades: indica, americana, sinsemilla
Sinónimos: C. clinensis, C. errática, C. índica⁹.

El cáñamo es una planta anual, semileñosa, dioica, con hojas palmeadas compuestas de cinco a once foliólos.

El fruto es en aquenio, pequeño, indehiscente, de color verde claro o pardo pálido, moteado.

Se dan plantas femeninas y masculinas. El cáñamo macho produce un ramillete muy complejo de flores masculinas, poco llamativas, verdosas, cuyos racimos nacen en la axila de las ramas inferiores; poseen cinco sépalos y cinco estambres de filamentos cortos y grandes anteras colgantes en su extremo. Las flores femeninas solo tienen un sépalo en forma de saco que alberga el ovario donde se forma la semilla, y por un extremo se asoman dos estigmas rojizos. Estas flores femeninas se aglomeran en las axilas de las ramas superiores y se desarrollan mucho después de ser fertilizadas.

Las flores y las resinas del cáñamo Índico y de otras variedades, son utilizadas desde hace muchos años en los países orientales para alcanzar efectos psíquicos, embriagantes y alucinógenos.

Los tallos son fibrosos, rectos y casi estriados. En los tallos y otras partes de la planta se abrazan millares de pelos unicelulares que presentan la forma de uña de gato al microscopio. Existen otros pelos redondeados denominados cistolitos, que no son de naturaleza glandular y contienen carbonato de calcio.

⁹ Guía de Técnicas de Análisis de Estupefacientes. Crisanta Alonso de Lizcano – Amparo Básquez. Pag. 23 – 27.

Es una planta cosmopolita que crece en diferentes lugares, pero especialmente en climas cálidos y secos, llegando a levantar tallos de tres a cinco metros de altura. El término «marihuana» se aplica a todas las partes de planta de *Cannabis sativa* desarrolladas o no, así como a sus productos conocidos como:

Hachís: Extracto alcohólico purificado de *Cannabis sativa*.

Ganja: Inflorescencias secas de plantas femeninas cultivadas.

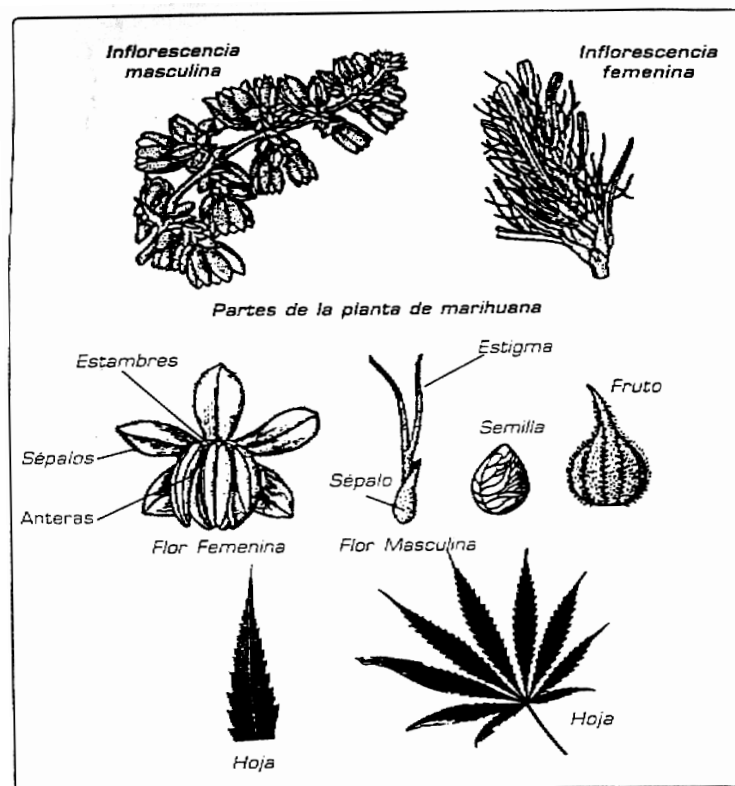
Bhang: Inflorescencias secas de plantas femeninas no cultivadas.

Charas: Resina pura de la planta femenina.

Cannabis Líquida: Aceite de hachís.

PARTES DE LA PLANTA DE MARIHUANA

GRAFICO Nº. 5



FUENTE: GUÍA DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ESTUPEFACIENTES. CRISANTA ALONSO DE LIZCANO – AMPARO BÁSQUEZ.

PLANTA DE MARIHUANA

GRAFICO Nº. 6



Planta Masculina

Planta Femenina

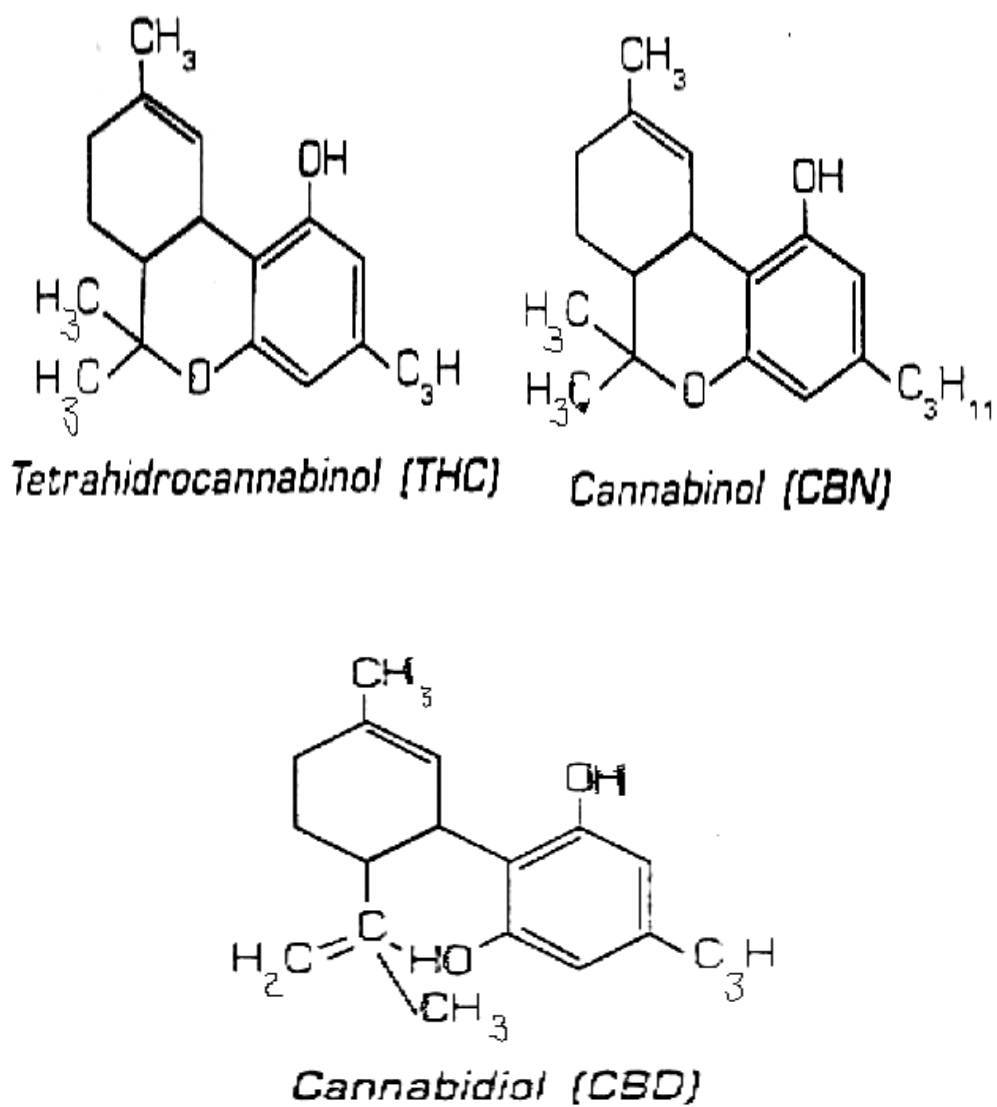
FUENTE: GUÍA DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ESTUPEFACIENTES. CRISANTA ALONSO DE LIZCANO – AMPARO BÁSQUEZ.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Según estudios realizados, se ha comprobado que la planta contiene alrededor de 419 compuestos, 61 de los cuales han sido identificados como los cannabinoides. Los principales son el ácido cannabidiólico [CBA], cannabidiol [CBD], tetrahidrocannabinol [THC] y el cannabinol (CBN).

**ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS DE
*Cannabis sativa***

GRÁFICO Nº. 7



**FUENTE: GUÍA DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ESTUPEFACIENTES. CRISANTA
ALONSO DE LIZCANO – AMPARO BÁSQUEZ.**

EXAMEN MICROSCÓPICO

Es el método más práctico para la determinación de marihuana cuando se presenta en forma de hojas secas, sola o mezclada con otras sustancias.

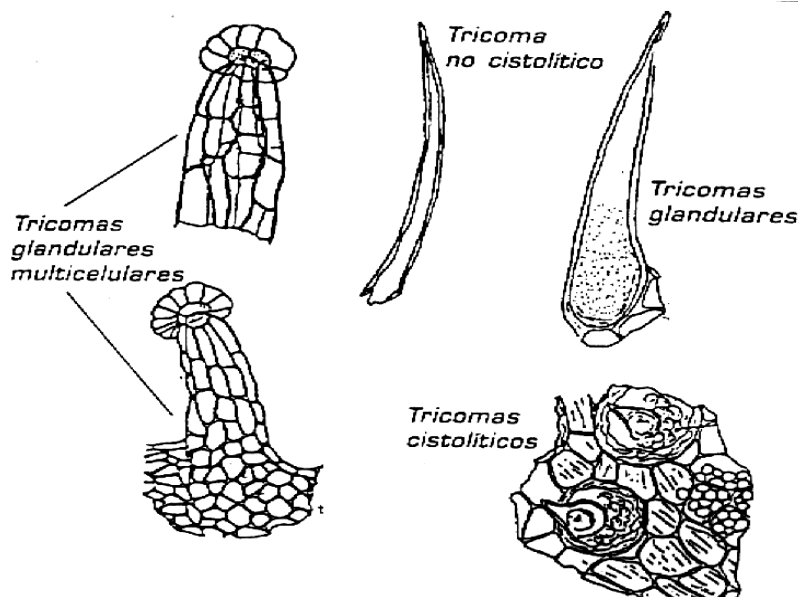
Muestra: material vegetal pulverizado.

Procedimiento:

Sobre un porta objetos, suspender la muestra en una gota de agua destilada, y observar con bajo aumento. Se observan los pelos o tricomas: el cistolito, uno de carbonato de calcio, uno unicelular de forma oblicua semejante a una uña de gato, y otro largo y pluricelular de naturaleza glandular, el cual segrega una resina amarillenta.

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL *Cannabis*

GRÁFICO Nº. 8



FUENTE: GUÍA DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ESTUPEFACIENTES.
CRISANTA ALONSO DE LIZCANO – AMPARO BÁSQUEZ.

FARMACOLOGÍA

Aunque la principal sustancia psicoactiva del *Cannabis* es el tetrahidrocannabinol (THC), la planta contiene en total cerca de 60 cannabinoides, entre éstos: cannabinoles, entre éstos: cannabinoles, cannabigerol, cannabicromeno, cannabiciclol), que se presenta en muchas variedades, siendo la más activa la delta-9-THC¹⁰.

Es empleada, en su forma natural, para el tratamiento del glaucoma, asma, cáncer, migraña, insomnio, náuseas y vómitos asociados a la quimioterapia anticancerosa, esclerosis múltiple, molestias ocasionadas por neuropatías periféricas y demás padecimientos neuromusculares.

SEMILLAS DE CÁÑAMO

GRAFICO Nº. 9



FUENTE: WWW.WIKIPEDIA.COM

¹⁰ www.monografias.com. Dependencia a la Marihuana. Nelson Salinas

El delta-9-THC se fabrica también de forma sintética como fármaco llamado dronabinol. La complejidad de esta planta ha producido especulaciones sobre los diferentes efectos en el organismo ya que, en opinión de algunos, se han encontrado algunos efectos beneficiosos mientras que otros sólo los consideran nocivos.

Otros cannabinoides principales son el CBD o cannabidiol (narcótico) y el CBN. Los porcentajes entre estos tres cannabinoides influyen en el cerebro humano.

El *Cannabis* silvestre contiene habitualmente entre 0,5 a 5% de THC dependiendo de los diferentes tipos de cultivo, que van desde el cultivo natural o en huerta, pasando por el cultivo en macetas (luz natural o artificial) hasta el cultivo hidropónico o aeropónico. Las variedades desarrolladas por los bancos de semillas tienen un nivel de THC más alto, llegando a alcanzar concentraciones de hasta un 24%. El contenido en THC depende de la genética de la planta y de las condiciones ambientales en las que se desarrolla, siendo los polihíbridos que se comercializan los que alcanzan mayores concentraciones de cannabinoides. Las plantas hembras que no son polinizadas se les llama comúnmente “marihuana sin semilla”. Éstas son las que contienen la mayor cantidad de THC, debido a que la no polinización produce un estrés en la planta, lo que hace que aumente la cantidad del mismo. Los machos normalmente son desechados del cultivo, salvo para poder polinizar y hacer semillas, pero las plantas polinizadas aportarán sobre todo semillas, en detrimento de la resina psicoactiva.

PROPIEDADES DE LOS CANNABINOIDES.

El 9-THC es el cannabinoide con mayor potencia psicoactiva, por lo que estas propiedades en una muestra de cannabis dependerán de su

contenido en este compuesto. El 9-THC presenta propiedades hidrófobas por lo que es muy soluble en lípidos. Esto le confiere unas características, en relación con su distribución en el organismo y con su eliminación, que le diferencian de otras drogas de abuso. Es bastante inestable, pudiendo ser degradado por el calor, la luz, los ácidos y el oxígeno atmosférico, lo que podría explicar la pérdida de potencia que se produce durante su almacenamiento. Los otros cannabinoides presentes en la planta de los que más datos se disponen son:

El **8-THC** que tiene un perfil farmacológico muy parecido al del 9-THC, aunque algo más bajo, por lo que se está investigando para el diseño de fármacos sin efectos psicoactivos. Sólo aparece en algunas variedades de la planta y su concentración es muy pequeña en comparación con la del 9-THC. El 8-THC podría estar implicado en el efecto cataléptico atribuido a los cannabinoides, ya que este compuesto, o alguno de sus metabolitos, presenta en ratones una buena correlación entre sus concentraciones y la aparición de catalepsia.

El **CBN** también tiene propiedades psicoactivas, entre las que se encuentran las relacionadas con los estímulos discriminativos del THC. Sin embargo, los resultados obtenidos en humanos fueron bastante contradictorios. Algunos autores han indicado que, tras su administración intravenosa, el CBN produce efectos similares a los descritos para el THC (Pérez-Reyes y cols., 1973), mientras que otros no los han encontrado cuando la administración fue por vía oral (Hollister, 1974). En comparación con el THC, el CBN presenta mayor afinidad por el receptor CB2 que por el CBN1.

El **CBD** es un compuesto bicíclico, al estar el anillo de tetrahidropirano escindido. Es un cannabinoide prácticamente desprovisto de propiedades psicoactivas. Sin embargo, a concentraciones micromolares, actúa como antagonista de los receptores cerebelares para cannabinoides, cuando se

utiliza GTPgS como índice de activación de este receptor. Al tratarse de una sustancia no-psicoactiva, se ha profundizado en la exploración de sus posibles efectos clínicos. Se ha descrito un caso en el que el uso oral del CBD (disuelto en aceite de maíz y empaquetado en cápsulas de gelatina) ha sido efectivo en un tratamiento a largo plazo de la psicosis.

Cuando se utiliza una mezcla de cannabinoides o el producto natural, el efecto antipsicótico podría estar enmascarado por los efectos indeseados del THC.

La única característica farmacológica del THC que parece compartir el CBD es la actividad anticonvulsivante, aunque posiblemente utilizando diferentes mecanismos de actuación.

CONSUMO

El cannabis es la droga ilegal más usada y la que más tempranamente se empieza a consumir. De los efectos que ejerce sobre la salud, la Organización Mundial de la Salud emitió un informe en 1981 que actualizó en 1997. Se sabe que su uso tiene efectos perjudiciales agudos y crónicos. Entre los agudos, alterar la cognición y la respuesta psicomotora, lo que aumenta el riesgo de accidentes de tráfico. Entre los crónicos, afecta selectivamente el aprendizaje y la memoria tanto en adultos como en hijos de madres consumidoras, causa lesiones en el sistema respiratorio y altera la respuesta de algunas células inmunitarias¹¹.

Se trata de una sustancia psicoactiva que se suele consumir por vía respiratoria (fumando), en forma de cigarrillo, aunque también es posible su consumo por vía oral sazonando con cannabis.

¹¹ Monografía. Cannabis. Julio Bobes García – Amador Calafat. Pág. 44

La marihuana o cáñamo se presenta en diferentes formas. La más conocida son las flores secas y enteras (los cogollos de las plantas femeninas) y en forma de tubo. Existe también aceite de *Cannabis*, en inglés honey oil (aceite de miel), que es un concentrado cuya extracción generalmente implica el uso de disolventes como el alcohol y filtrados con carbón activo, lo cual potencia los efectos, al estar más concentrado el tetrahidrocannabinol que es la principal sustancia psicoactiva de la marihuana.

La forma más usual de consumo es en forma de cigarrillo liado a mano: en estos casos se usan directamente los cogollos, secos y desmenuzados, o bien el hachís mezclado con tabaco rubio o negro. Otros métodos incluyen el uso de pipas comunes, también conocidos como one- hitters, y de narguiles o cachimbas (pipas de agua) para fumar el *Cannabis* mientras se enfría el humo o en el caso de los bongs quitando el alquitrán o las impurezas no deseadas. Actualmente es común el consumo por vaporización, el cual consiste en vaporizar los cogollos secos y curados, a una temperatura tal que solo extrae los cannabinoides y no aquellos productos nocivos que se generan con la combustión.

La posología es variable, como es natural, y depende del género consumido y de la persona, si bien algunos expertos en su consumo informan que no se registra intoxicación letal alguna (ni siquiera intoxicación aguda) por vía respiratoria. La intoxicación aguda por vía digestiva requiere grandes cantidades del producto.

ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN.

Los cannabinoides pueden ingresar en el organismo de varias formas:

- Por inhalación del humo procedente de pipas de agua o de cigarrillos, lo que produce una rápida absorción.

- Por ingestión oral de bebidas o alimentos sólidos, con una absorción mas lenta, lo que retrasa la manifestación de sus efectos.
- Por medio de aerosoles o pulverizadores, para evitar los efectos perjudiciales asociados al humo.
- En forma de gotas para el tratamiento ocular.
- Por administración rectal, para evitar los problemas de absorción y las primeras etapas de degradación asociadas a su ingesta oral.

Otra vía de administración es la intravenosa, que requiere la disolución del THC en alcohol y su mezcla con una infusión salina, lo que la convierte en poco práctica para la medicina general. Los preparados de la *Cannabis sativa* (hachís, marihuana), se consumen principalmente en forma de cigarrillos, por lo que son absorbidos por los pulmones, acompañados por los otros componentes del humo. El grado de absorción depende de diversos factores:

- a. Del tipo de preparación utilizada, lo que implica la presencia en mayor o menor cantidad de diferentes tipos de cannabinoides y de otros compuestos químicos.
- b. De la combustión de la mezcla, como demuestra el hecho de que los cannabinoides ácidos se descarboxilan con bastante rapidez cuando están expuestos al calor.
- c. Del tiempo empleado en fumarlo ya que la duración de la inhalación y de la retención del aliento tras la aspiración, dan lugar a diferentes tiempos de contacto entre las sustancias presentes en el preparado y las vías respiratorias del individuo que las consume.

Por ejemplo, en estudios realizados con fumadores de marihuana, se ha visto que el volumen contenido en una “calada” produce cambios significativos en los niveles plasmáticos de THC y en los efectos subjetivos psicotrópicos, y que estos cambios están relacionados más con

la dosis inhalada que con el tiempo que el humo permanece en los pulmones.

La ingestión de los cannabinoides por vía oral da lugar a unos niveles plasmáticos de THC inicialmente más bajos que cuando se inhala. Por vía oral, su biodisponibilidad se ve reducida por su sensibilidad a la acidez del jugo gástrico, por el metabolismo hepático e intestinal, así como por su acceso a la circulación entero hepática. Además, se ha visto que, tras la ingestión oral de THC, se produce un aumento gradual de su concentración en sangre durante un periodo de tiempo que puede durar varias horas, lo que retarda la aparición de sus efectos psicoactivos.

La administración del THC en supositorios se ha realizado en forma de la prodroga hemisuccinato de este metabolito. Tras la hidrólisis de este compuesto, se eleva rápidamente la presencia del mismo en sangre. Estos niveles son dosis dependientes y permanecen estables durante periodos prolongados de tiempo, que pueden llegar a alcanzar las 24 horas, lo que ampliaría el período entre tomas. Este tipo de administración parece la más idónea para aquellos pacientes que tengan náuseas y vómitos.

La administración ocular tópica de los cannabinoides ha presentado algunos problemas, debido al carácter hidrófobo de estos compuestos. Este problema ha sido solucionado con la reciente aparición de compuestos, como las ciclodextrinas, que permiten la solubilización de los lípidos en disolventes polares.

Los estudios sobre la biodisponibilidad del THC muestran considerables diferencias entre la vía pulmonar y la oral. Fumar parece ser el método mas eficaz de administrar la droga. La entrada del metabolito en sangre y la posterior distribución en tejidos son muy rápidas y presentan una cinética muy similar a la obtenida tras su administración intravenosa.

La administración oral conduce a unos niveles plasmáticos mucho más erráticos que los observados después de fumar.

Solo un 3% del THC presente en sangre esta en forma libre. Dadas sus propiedades hidrófobas, se une a diferentes componentes plasmáticos. Un 9% esta unido a las células sanguíneas. Otro 60% lo está a las lipoproteínas plasmáticas y el resto a albúmina.

En cuanto a su distribución en los tejidos corporales, el THC es captado del plasma en un 70% por los tejidos y el resto es metabolizado. Este reparto está limitado por la baja concentración de su forma libre en sangre, por lo que depende del flujo sanguíneo. Dada su alta lipofilicidad penetra rápidamente en los tejidos, encontrándose altas concentraciones en aquellos que están altamente vascularizados. Posteriormente se redistribuye al tejido adiposo, siendo este tejido junto con el bazo sus principales depósitos tres días después de su ingesta. La droga puede tardar varias semanas en ser totalmente eliminada tras el cese de su administración.

Como consecuencia de su retención en estos reservorios hidrófobos se enlentece la penetración del THC en el cerebro, donde su concentración y la de sus metabolitos es relativamente baja (aproximadamente un 1% de la concentración plasmática máxima). A nivel subcelular, el 9-THC está muy concentrado en fracciones particuladas como las mitocondrias y los sinaptosomas. Los trabajos realizados sugirieron que en un fumador crónico la vida media del metabolito está entre 3 y 5 días.

METABOLISMO Y EXCRECIÓN.

Permanencia en el organismo

Si bien los efectos de la marihuana duran unas horas, los resultados de la detección de marihuana en los análisis de orina permanecen positivos

durante varios días después del consumo, incluso en consumidores ocasionales. En los consumidores habituales, los resultados de los análisis pueden permanecer positivos más tiempo a medida que el Tetrahidrocannabinol se va eliminando lentamente de la grasa corporal. El tiempo que tarda es variable, dependiendo del porcentaje de THC y de la frecuencia del consumo. Cuanto mayor tiempo de consumo más tiempo es detectable. Los análisis de orina son un medio eficaz de identificar el uso de marihuana, pero una prueba de orina con resultado positivo sólo indica que la persona ha consumido marihuana, no prueba que el consumidor esté en ese momento con las facultades alteradas, es decir, no prueba que el consumidor haya consumido sustancias (droga) recientemente¹².

Los mecanismos de eliminación del 9-THC son bastante conocidos tanto en animales de experimentación como en el ser humano.

Solo una mínima cantidad de este compuesto es eliminada del cuerpo en su forma original, mientras que la mayor parte aparece en forma de metabolitos en heces (un 68%) o en orina (12%). La droga está también presente en otros tejidos y fluidos biológicos como el pelo, la saliva y el sudor. La mayor parte del metabolismo ocurre en el hígado, aunque también puede producirse en otros órganos como el pulmón y el intestino.

En los fumadores crónicos de marihuana hay un aumento significativo en la cantidad secretada por orina. En la orina hay una apreciable presencia de 11-OH-THC y una elevada concentración de ácido THC-11-oico, ambos en forma libre o conjugada. La concentración de ácido THC-11-oico presente en orina humana no muestra una correlación apreciable con la presente en sangre, aunque parece mejorar cuando se comparan los logaritmos de estas concentraciones.

¹² www.wikipedia.com.

Respecto a las reacciones implicadas en su catabolismo, 9-THC y 8-THC siguen un camino de degradación muy parecido. La primera enzima que actúa es el citocromo P-450 que oxida el correspondiente cannabinoide a derivados mono, di o trihidroxilados. Estos dos metabolitos son rápidamente hidroxilados a 11-hidroxi- 9-THC y 11-hidroxi- 8-THC, respectivamente, en el hígado. El patrón de hidroxilación refleja la distribución de isoformas del citocromo P-450. La hidroxilación puede producirse en más de ocho sitios diferentes (1', 2', 3', 4', 5', 8 y 11) cuya proporción relativa varía según especies, lo que puede estar relacionado con las diferencias existentes entre especies de los citocromo P-450. La hidroxilación en posición 11 es la reacción más importante del metabolismo del 9-THC en la mayoría de las especies incluido el ser humano. El 11-hidroxi- 9-THC tiene una actividad farmacológica y una potencia parecidas al 9-THC. Estos compuestos hidroxilados son transformados, posteriormente, en otros metabolitos más polares, por rotura de la cadena lateral y oxidación al correspondiente ácido carboxílico.

En algunos casos hay una epoxidación que produce 9,10-epoxihexahidrocannabinol. El que se haya encontrado CBN y sus derivados en orina y bilis de animales a los que se les administró 9-THC, parece indicar que el CBN es un metabolito del 9-THC.

Tras su administración por vía aérea, los niveles en sangre de THC aumentan rápidamente, alcanzando su máxima concentración antes de que finalice el consumo del cigarro.

La máxima concentración de 11-hidroxi-THC es más baja que la de THC y aparece cuando se deja de fumar. El ácido 9-THC-11-oico se detecta algunos minutos después del consumo y su concentración crece lentamente hasta que alcanza una meseta durante un periodo prolongado de tiempo, pudiendo llegar a superar los niveles de este metabolito hasta

5 veces. El máximo nivel se alcanza entre 30 minutos y una hora después de haberlo fumado.

Se ha descrito en algunas ocasiones un retraso de la aparición de los efectos psicológicos y cardiacos (taquicardia) del THC con respecto a la elevación de sus niveles en plasma. Al tratarse de un compuesto psicoactivo, su presencia en cerebro potenciaría los efectos iniciados por el THC. Tras su administración intravenosa, el máximo de psicoactividad se alcanza 15 minutos después del máximo de THC en sangre.

Este intervalo es más amplio tras la administración oral. Se produce 2 horas después de la administración de la droga y una hora después del máximo plasmático de THC.

El metabolismo del CBD es bastante complejo, habiéndose catalogado unos 83 metabolitos. Se forman derivados mono-, di- y trihidroxilados, y se produce la oxidación a ácidos y la pérdida de cadena lateral. El metabolismo del CBN es menos complejo que el de los otros cannabinoides.

Los metabolitos procedentes de la degradación de los cannabinoides son eliminados en forma de ácidos libres o conjugados con glucurónico o con ácidos grasos. Para poder realizar esta reacción de condensación es necesario que se produzca una esterificación entre los grupos hidroxilo de los cannabinoides y los grupos carboxilo de los compuestos con los que se conjugan. Los glucuronatos así formados se almacenan en el cuerpo durante períodos relativamente prolongados de tiempo y pueden llegar a ser detectados en la orina varias semanas después del consumo de los cannabinoides.

La conjugación también puede producirse en el grupo fenol, aunque esta ruta no se ha identificado en humanos. Un segundo tipo de conjugación

implica la esterificación del 11- hidroxí-THC con ácidos grasos de cadena larga como el oleico, el palmítico y el esteárico.

Durante el embarazo, los niveles presentes en los fetos corresponden aproximadamente al 10% de los niveles plasmáticos maternos. La exposición repetida a múltiples dosis produce la acumulación de dichos compuestos en los fetos, ya que éstos no parecen disponer todavía de los mecanismos necesarios para su degradación.

Los cannabinoides también son excretados en la leche materna durante la lactancia, lo que implica la exposición de las crías a este compuesto.

CANNABINOIDES Y SU CONDUCTA ADICTIVA

Quienes realizan análisis más sombríos afirman que algunas personas devienen dependientes de la marihuana por razones psicológicas. La postura antiprohibicionista afirma que si bien el consumo de marihuana desarrolla tolerancia, es decir, que en posteriores tomas inmediatas es necesario aumentar la dosis para conseguir los mismos efectos, los efectos de la abstinencia son muy leves en comparación con otras drogas, lo que permite revertir esa tolerancia y hacer que el consumo de marihuana sea controlable por el sujeto, siendo su potencial adictivo escaso¹³.

Los cannabinoides son compuestos psicoactivos presentes en el *Cannabis* y que actúan en el sistema nervioso a través de receptores específicos de membrana, los receptores CB-1. Estos receptores están situados en neuronas de muchos circuitos encefálicos, incluyendo el sistema de recompensa cerebral.

¹³ Monografía – *Cannabis*. Julio Bobes García – Amador Calafat. Pág. 48 – 50

Este sistema es clave para entender la conducta adictiva, y de él forman parte las neuronas dopaminérgicas mesotelencefálicas, así como algunas neuronas peptidérgicas de entre las que destacan las neuronas encefalinérgicas. Los cannabinoides, al igual que el resto de las drogas de abuso, activan las neuronas mesotelencefálicas y disminuyen el umbral de recompensa cerebral. Del mismo modo que la cocaína, los opiáceos o el etanol, estos compuestos inducen conductas de autoadministración en animales de experimentación y provocan condicionamiento de lugar preferencial.

La administración crónica de cannabinoides provoca tolerancia y dependencia, e induce neuroadaptaciones en el circuito de la recompensa que son idénticas a las inducidas por las principales drogas de abuso y que se pueden poner de manifiesto mediante el cese de la administración de estos compuestos (síndrome de abstinencia comportamental y bioquímico específico). Los cannabinoides actúan sinérgicamente con el sistema opioide endógeno, en especial con el sistema encefalinas- receptor- F - opioide, lo que les permite actuar como factores de vulnerabilidad en el desarrollo de la conducta adictiva. La existencia de una interacción opioide-cannabinoide permitirá abrir nuevas puertas terapéuticas para la adicción a heroína y a etanol.

SÍNTOMAS Y EFECTOS DERIVADOS DEL CONSUMO

La literatura acerca de los efectos psicoactivos del *Cannabis* no es unánime, y la descripción de los síntomas que produce su consumo, así como la valoración de las consecuencias a corto, medio y largo plazo varía enormemente en función de la actitud general que se toma ante esta droga. Así mismo, el análisis de tales posiciones debe inscribirse en la polémica prohibición/legalización (o derogación de la prohibición) que rodea a esta sustancia psicotrópica y a otras. Desde esta perspectiva, los supuestos efectos negativos descritos son discutidos por la experiencia

cotidiana de aquellos consumidores que tras largos periodos de consumo habitual no ven su salud afectada.

Los efectos subjetivos inmediatos varían dependiendo de las expectativas del sujeto, de la concentración del principio activo y del ambiente en que la sustancia sea consumida. Los efectos suelen aparecer de manera inmediata, y alcanzan su apogeo a la media hora y terminando en aproximadamente dos horas.

Según los defensores del consumo de marihuana, no sería una droga solamente euforizante, si no más bien visionaria, y en ocasiones los sujetos describen estados de exaltación. Como norma general el sujeto se ve envuelto en un estado de ensoñación placentero. El tiempo subjetivo se ralentiza y la memoria a corto plazo empeora. Quienes defienden su consumo recreativo afirman que los colores, los sonidos y las percepciones espaciales pueden distorsionarse y “mostrar aspectos de lo cotidiano hasta el momento desapercibidos”. El apetito aumenta, los colores pueden parecer más brillantes, los sonidos más intensos. La marihuana generalmente alivia la tensión y aporta una sensación de bienestar en muchos de los que la consumen; aunque en otros casos la experiencia es desagradable, y el sujeto puede padecer náuseas o reacciona vomitando (sin que por ello se reduzca así el principio activo), en cuyo caso la experiencia, lejos de ser buena, resulta negativa. Otro efecto es la generación de suspicacia hacia uno mismo. Desde un punto de vista social, produce desinhibición e hilaridad, aunque los estados de ánimo tienden al contagio y puede provocar silencio general y amodorramiento, siendo utilizada también para las actividades sexuales o la introspección.

Una característica de los efectos del consumo de psicotrópicos como la marihuana es el conocido como síndrome a motivacional, estudiado primeramente por R. H. Schwartz, caracterizado por abulia, apatía,

pasividad, indiferencia o irritabilidad, dificultad atencional y fatigabilidad fácil.

EFFECTOS FÍSICOS DEL CONSUMO

Un estudio finalizado en 2007 concluyó que el humo de las hojas secas de esta droga reduce el número de las pequeñas ramificaciones en los pulmones responsables del transporte de oxígeno a la sangre y evacuación de sustancias nocivas, concluyen que por esto los fumadores de marihuana suelen poseer más flema, tos y suelen experimentar la sensación de que se les cierra el pecho¹⁴.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Efectos nocivos agudos

Los efectos agudos que el THC produce en el sistema nervioso central (SNC) humano, conocidos desde hace años son, entre otros, euforia, aumento de la percepción sensorial, incremento de la sociabilidad, relajación, dificultades en la concentración y deterioro de la memoria, con persistencia de los efectos cognitivos después de cesar el consumo de este, despersonalización, cuya máxima intensidad se alcanza 30 minutos después de fumar.

En el aprendizaje, atención y memoria.

Los efectos cognitivos agudos del *Cannabis* afectan a todas las áreas del aprendizaje incluyendo los procesos asociativos y el rendimiento psicomotor, con excepción de la abstracción y el vocabulario. En la capacidad para manejar máquinas complejas. Los efectos perjudiciales

¹⁴ www.monografías.com/dependenciadelamarihuana

del *Cannabis* sobre una gran variedad de tareas neuropsicológicas junto a su frecuente presencia en sangre/orina, casi siempre asociada con alcohol y otras drogas, de víctimas de accidentes de tráfico justifica el interés de los investigadores sobre los efectos del *Cannabis* en la conducción.

Sobre los efectos de este en la conducción de vehículos a motor, un reciente estudio experimental en 60 voluntarios sanos demuestra que consumir un cigarrillo conteniendo 290 microgramos de THC por kilogramo de peso corporal altera, de forma inmediata, la percepción de la velocidad y la precisión.

Efectos neurofisiológicos.

El consumo de THC, en fumadores experimentados, es seguido de un significativo incremento bilateral del flujo sanguíneo cerebral que correlacionaba significativamente con el nivel plasmático de THC, grado de intoxicación y frecuencia cardíaca. En un estudio posterior, se constata de nuevo el incremento bilateral del flujo y velocidad de la sangre en el cerebro, especialmente en regiones frontales, que no pudo ser explicado por los cambios generales en la circulación ni en la respiración, ni por los niveles plasmáticos de THC, y que correlacionaba significativamente con cambios en el humor y la conducta. Flujo sanguíneo y funcionamiento cerebral están íntimamente ligados, por tanto es muy probable que los cambios en el flujo sanguíneo cerebral tras fumar THC correlacionen significativamente con los efectos del *Cannabis* sobre el humor y la conducta, especialmente el incremento bilateral del flujo en las regiones del córtex frontal, la ínsula y el giro singular.

Relación dosis-efecto.

La concentración plasmática de THC correlaciona significativamente con el número de aspiraciones (“caladas”) que se hacen del “porro” y la

cantidad de THC que contenga sin que influya en los efectos el tiempo que se retiene el humo inhalado, aunque sobre esto último hay investigaciones posteriores con resultados contradictorios.

Efectos nocivos crónicos

Este epígrafe se aborda en la triple perspectiva neuropsicológica, neurofisiopatológica y neurotóxica¹⁵.

Neuropsicológicos.

Durante los años 70 se realizaron en varios países (Grecia, Costa Rica, Jamaica, entre otros) estudios dirigidos a determinar qué efectos tenía el consumo crónico de THC en las funciones cognitivas de personas adultas, concluyendo que eran prácticamente inexistentes. Sin embargo, actualmente hay numerosas pruebas de que el consumo reiterado y prolongado en el tiempo del THC ocasiona sutiles y selectivas alteraciones del funcionamiento cognitivo.

La OMS considera que el consumo crónico (reiterado y prolongado) de *Cannabis* altera la capacidad de organización e integración de información compleja implicando la atención, memoria, aprendizaje verbal, ordenamiento de tarjetas/historietas, atención y discriminación auditiva y filtración de información irrelevante.

En pruebas de respuesta a estímulos auditivos cuyo tono varía aleatoriamente en localización, intensidad y duración, los consumidores crónicos de THC presentan rendimientos significativamente inferiores a los no consumidores en la atención focal y filtración de información irrelevante. Esta disminución es progresiva con la persistencia en el consumo, y si bien con la abstinencia de la droga se mejora algo puede

¹⁵ Monografía – *Cannabis*. Julio Bobes García – Amador Calafat. Pág. 118 – 125

prolongarse durante unas seis semanas después de interrumpir el consumo.

Frecuencia y tiempo de consumo del *Cannabis* influyen de forma diferente en la cognición. La capacidad para mantener centrada la atención y para filtrar información irrelevante se deterioran progresivamente en relación con el número de años de consumo de THC pero sin relación con la frecuencia del mismo; en tanto que la velocidad para procesar la información disminuye tanto cuanto mayor es la frecuencia del consumo sin influencia del tiempo que se lleve consumiendo.

Neurotoxicidad.

La neurotoxicidad del *Cannabis* ha sido durante mucho tiempo subestimada, sin embargo, estudios reciente demuestran que el THC induce la muerte celular con disminución del tamaño de las neuronas y fragmentación del ADN en el hipocampo.

SISTEMA RESPIRATORIO

Después de tabaco, el *Cannabis* es la sustancia más fumada en todo el mundo.

Además, en los fumadores de las dos sustancias un tercio empieza con la “marijuana” (cigarrillo sólo de *Cannabis* muy difundido en USA, también llamado “marihuana” o “tía”) antes que con el tabaco, y el 85 por ciento de los que dejan el tabaco continúan sólo con el *Cannabis*.

Con la excepción de la nicotina en el tabaco y de unos 60 cannabinoides en el *Cannabis*, el humo de estos dos de compuestos comparte muchos de los mismos carcinógenos e irritantes respiratorios. Incluso, la fase de

brea del humo de este tiene un 50 por ciento más de carcinógenos que una cantidad equiparable de humo de tabaco no filtrado.

Además, el humo del “porro”, sin considerar el contenido de THC, produce una considerablemente mayor carga respiratoria de monóxido de carbono y brea que fumando una cantidad similar de tabaco.

Efectos nocivos agudos

Parece ser que el único efecto agudo que el THC, tanto fumado como ingerido, tiene sobre el sistema respiratorio es una rápida broncodilatación y leve obstrucción cuando es fumado un mínimo de 4 días a la semana durante 6-8 semanas.

Efectos nocivos crónicos

Los estudios experimentales sugieren que la exposición prolongada al humo de *Cannabis* se asocia con bronquitis obstructiva y aumenta el riesgo de invasión maligna (cáncer) en forma similar al tabaco.

SISTEMA CARDIOVASCULAR

Efectos nocivos agudos

La taquicardia, incremento de la frecuencia cardíaca reflejado en el pulso, es el principal, y mejor estudiado, efecto agudo del THC sobre el sistema cardiovascular. En este efecto, fácilmente reproducible, dosis dependiente y correlacionada con la intensidad de la experiencia subjetiva tanto al fumar como al ingerir el *Cannabis*, están implicados tanto mecanismos simpáticos como parasimpáticos.

La taquicardia inducida por el THC puede ser modificada por diferentes sustancias. Por ejemplo, la cocaína la incrementa, y la indometacina la disminuye. Las sensaciones de vértigo y desmayo que suceden al consumo de una dosis alta de THC parecen deberse a la disminución de la velocidad sanguínea cerebral, medida en la arteria cerebral media, y de la presión arterial.

En adolescentes y adultos jóvenes, grupo de mayor prevalencia de consumo, los efectos cardiovasculares agudos de este metabolito son poco frecuentes; sin embargo, algunas comunicaciones de infarto de miocardio en jóvenes fumadores de *Cannabis* merecen especial atención.

Efectos nocivos crónicos

En un estudio sobre seis varones sanos, voluntarios retribuidos, que durante 13 días consecutivos fumaron un cigarrillo diario de marihuana (1.0 % de THC), seguido a los 15 minutos de infusión intravenosa de 52 microgramos/ minuto de THC atenuado durante 50 minutos, el único efecto estadísticamente significativo fue el incremento de la frecuencia cardíaca.

El consumo prolongado e intenso de *Cannabis* puede originar daños poco aparentes en el sistema cardiovascular, muy parecidos a la cardiotoxicidad del tabaquismo, pues THC y nicotina son similares en sus efectos cardiovasculares.

En un estudio realizado sobre una muestra de 5115 sujetos (blancos, negros, hombres y mujeres) comprendidos entre 18 y 30 años investigando la posible asociación entre hostilidad y riesgo de mortalidad por enfermedad coronaria, se demostró que las puntuaciones más altas en la escala de hostilidad de Cook-Medley se asociaban con fumar tabaco y marihuana, elevado consumo de alcohol y mayor ingesta de

calorías en todos los sujetos, sin distinción de sexo ni raza. Especialmente importante, tras el ajuste de las variables sexo y nivel educacional, se mostró la asociación hostilidad con fumar tabaco y marihuana que llegó a tener una prevalencia 5 veces mayor en el cuartil de máxima hostilidad respecto del cuartil menos hostil.

Fumar “porros” puede resultar peligroso para quienes padezcan hipertensión, enfermedades cerebrovasculares o aterosclerosis coronaria, por el aumento de frecuencia y gasto cardíaco producido por el THC.

SISTEMA ENDOCRINO

Los efectos del *Cannabis* sobre el sistema endócrino se estudian desde una doble perspectiva. De un lado, sobre las hormonas hipofisarias (luteinizante ó LH, folículo- estimulante ó FSH, prolactina ó PRL, somatotropina o GH) responsables de la síntesis periférica de las hormonas sexuales (estrógenos y testosterona) y reguladoras del desarrollo y funcionamiento del sistema reproductor sobre las que parece tener una acción principalmente inhibitoria. Y de otro, sobre el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.

Hormonas sexuales masculinas

En los estudios humanos, varones consumidores crónicos de *Cannabis*, se presentan resultados tan contradictorios como ningún efecto frente a alteraciones selectivas del control hipotalámico de LH.

Hormonas sexuales femeninas

El THC antagoniza el efecto que sobre la hipófisis tiene el estradiol, retrasa la aparición de la pubertad, disminuye el número de óvulos en el

primer día de la ovulación. Tras la pubertad, los ciclos menstruales son irregulares, disminuyen los niveles séricos de LH, progesterona y prostaglandinas, aumenta el tiempo de gestación, con incremento de nacidos muertos, aunque sin malformaciones.

Gónadas y conducta sexual

En modelos animales, el THC tiene efectos tóxicos directos sobre los ovarios y los testículos, suprime la elevación plasmática de LH y prolactina que siguen a la excitación sexual e inhibe la conducta sexual.

Eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal

Muchos estudios en modelos animales demuestran que el THC altera la secreción de algunas hormonas relacionadas con el estrés. Se reconoce como efecto agudo del THC la disminución de la adrenalina y noradrenalina en la médula adrenal, sin reducción de la actividad tiroxina-hidroxilasa, que desaparece con la administración repetida de *Cannabis*. Así mismo, eleva los niveles de corticosterona en suero.

SISTEMA INMUNITARIO

El TCH tiene efectos sobre el sistema inmunitario, modificando la función de diversas células, unas veces en el sentido de favorecerlas, otras al contrario, que parecen deberse a factores experimentales.

Pero el mayor interés actual se centra en la relación entre el uso de drogas sociales y el desarrollo de manifestaciones clínicas de SIDA, por lo que es importante que los seropositivos sanos que eviten el uso de "porros" y/o alcohol, aunque todavía sea pronto para estimar en qué medida esta advertencia impedirá el daño definitivo del sistema inmune, tanto más cuando estudios recientes formulan la hipótesis de que los

cannabinoides endógenos, principalmente a través de los macrófagos, pueden participar en el fracaso general del sistema inmune en personas seropositivas.

Recientemente se ha publicado que el THC y sus metabolitos disminuyen la producción tumoral del factor alfa cuya consecuencia es la reducción de la apoptosis, inhibe la producción de IL-1 y de gamma interferón, merma la competencia inmunológica de los macrófagos alterando su esencial papel trófico en el sistema nervioso central y, asimismo, estimula la producción de productos de degradación del ácido araquidónico por inhibición de la ciclo oxigenasa. Además, tiene efecto sinérgico con los retrovirus provocando anergia en los linfocitos-T citotóxicos o células K.

REPRODUCCIÓN CELULAR

El THC interacciona con el núcleo celular con efectos sobre la síntesis macromolecular, induce aberraciones cromosómicas, mutagenicidad y carcinogenicidad.

DOSIS TÓXICA

La toxicidad está relacionada con la dosis, pero allí existe mucha variabilidad individual, influida en parte si es primera experiencia y el grado de tolerancia. No se han reportado casos de muerte por consumo de marihuana inhalada únicamente. Los cigarrillos de marihuana típicos contienen entre 1-3% de THC, pero variedades más potentes pueden contener más de 15% del mismo.

MÉTODOS SUGERIDOS PARA LA DETECCIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS CANNABINOIDES EN ESPECIMENES BIOLÓGICOS

LOS TIPOS COMUNES DE LOS PRODUCTOS DEL *Cannabis*

Productos a base de plantas (marihuana)

Cannabis (*Cannabis sativa*) es una planta ampliamente distribuida en todo el clima templado y las zonas tropicales de todo el mundo y la mayoría de los países han informado del crecimiento ilegal y el tráfico de los productos herbarios. El cultivo ilícito de la planta se produce a gran escala en el norte de Sudamérica y el Caribe, África y Asia Sudoriental para hacer productos de esta hierba. La presentación del material a base de plantas en el tráfico ilícito no solo varía de una región a otra sino también dentro de los países de cada región¹⁶.

Es la creencia tradicional de que solo la fructificación y sumidades floridas y hojas de la planta de *Cannabis* contienen cantidades significativas de la psicoactivas (por ejemplo tetrahidrocannabinol), por lo que se conoce como la droga que contengan partes y en general es solo de estas partes de la planta que se venden el trafico ilícito .estas piezas pueden ser despojadas de la planta mientras que le sigue en aumento. El centro del tallo principal y tallos laterales de la planta se eliminan y no se tienen en cuenta la producción del producto ilícito de *Cannabis*. Como alternativa toda la planta puede ser removida para cortar el tallo principal o el punto mas bajo por debajo de la hoja. Los materiales a base plantas separadas o plantas enteras, se puede secar al aire libre, por lo general dispersado sobre todo el terreno, o en cantidad relativamente pequeña, al ser colocados en bandejas someras .Completas las plantas pueden secarse al mismo tiempo colgadas boca abajo y cuando se seca, las drogas que

¹⁶ Naciones Unidas. Métodos Recomendados para la Detección de Canabinoides. Pág. 24 – 37

contienen partes de la planta son despojadas de tallo principal y tallos laterales.

Una amplia gama de presentaciones a base de plantas se hacen en infusión posteriormente del proceso de secado .Las plantas pueden ser altamente comprimidas para hacer bloques de materiales a base de estas plantas (en el África occidental y el caribe el *Cannabis* es realizado de esta manera). Alternativamente este puede quedar como un material a base de hierbas a granel (en los países del África meridional y de los países del sur oeste y el sur de Asia oriental se encuentran a menudo en esta forma). Frecuentemente la presentación de este material se encuentra envuelto en gruesos vegetales (África central y del sur).

Si un producto es de alta calidad es necesario adoptar medidas provisionales para el tráfico de fructificación y sumidades floridas se usan solas. Ellos son mas a menudo en bastones; con frecuencia la floración y fructificación parte superior esta vinculada usando hilo central en torno a una caña de bambú tales palos pesan aproximadamente 2 gramos (en cifras brutas)y aproximadamente 8 cm de largo y son conocidos en el trafico ilícito como “el buda de palos”(Asia sudoriental). A menudo, cuando se incautan por el tráfico ilícito estos palos se encontraban en bundies de hasta 20 palos .Alternativamente la floración y fructificación es a menudo superior a un pequeño rollo envuelto en papel marrón (Sudáfrica. Estos rollos son considerablemente mas pequeños que el de tipo Asia sudoriental. Por lo general hay menos de 0.5gramos de *Cannabis* por rollo y en pocos casos las semillas dentro del material. Un producto de alta calidad puede ser realizado tamizando hierba para eliminar esa parte de la planta que contiene niveles relativamente bajos de canabinoides o no canabinoides. En esencia se puede eliminar las semillas pero lo más insignificante el material del tallo. Todo lo que pasa a través del proceso de tamizado se ha derivado de la floración y fructificación de las hojas del

Cannabis. El material se asemeja a base de hierbas finamente picado .En el trafico ilícito es conocido como “kif” .

Se trata de un producto característico del norte de África. Este tipo de material tiene un alto contenido de resina de *Cannabis* y se puede comprimir en losas que tienen ciertas semejanzas físicas con losas de resina de la misma región sin embargo cuando se someten a tales losas a un examen microscópico se comprueba que han mantenido esencialmente las características de la base de planta estos materiales ya sean sueltos o comprimidos en pequeños bloques tienen el mismo perfil de cannabinoides como losas de resina de *Cannabis* realizados en la misma legión. Un producto de alta calidad es sin semilla esta palabra deriva de dos palabras en ingles que significa “sin- semillas” para que se produzcan plantas sin semillas se debe eliminar la planta de Cannabis macho antes de la hembra antes que la planta masculina lance su polen .La hembra nunca será fertilizada por lo tanto no producirá semillas.

Se afirma que en este tipo de cultivo ilícito de su resina contiene un nivel más alto de psicoactivas productos químicos como por ejemplo el THC que no se encuentra en plantas que han sido fecundadas de forma normal.

El análisis forense apoya esta afirmación; sin semilla contiene un nivel más alto de canabinoides especialmente de THC.

Cabe señalar que la eliminación de las plantas macho del medio ambiente de las plantas femeninas antes de la fecundación ha sido practicado durante años se produce en Mayo, por ejemplo, el sudoriente indio. Se sabe que si esto no se hizo, las plantas femeninas tendrían semillas, y produciría un pobre rendimiento de la “Ganja”. Invariablemente sin embargo, algunas teorías semillas sumidades Estuvieron presentes en este tipo de material. Esto puede deberse a que, el *Cannabis* no es totalmente una planta dioica. En cualquier gran campo de plantas de

Cannabis, un número será monoico, que está dando flores femeninas y masculinas. Sin semilla sigue siendo un producto cultivado sólo en América, aunque las incautaciones de Sin semilla también se han realizado fuera de América. Sin embargo el material incautado en estos casos se cultivo en la América.

Productos de resina (hachís)

La producción de resina de *Cannabis* se centra en dos grandes regiones del mundo, Los países de todo el Sur y la parte oriental del Mediterráneo forman una región, y los países del subcontinente indio otra región. Una variedad de procesos se han utilizado en ambas regiones para hacer la resina del mismo. Sin embargo. Los países de una región utilizan en general técnicas similares. Esto ha dado lugar a dos "familias" de la resina de *Cannabis*, Los países de todo el sur y el este del Mediterráneo forman un grupo de productos de resina de esta planta, y los países del subcontinente indio producir un segundo grupo de productos.

Sin embargo, existe cierta similitud en los métodos utilizados para hacer la resina de *Cannabis* en ambas regiones, por ejemplo, hay métodos en ambas regiones en que el tamizado es una parte importante del proceso.

La resina de un solo país dentro de cualquiera de estas regiones muestra mucho más similitud en la apariencia física de resina de otro país de la misma región, más que a una resina de la otra región. (Puede haber diferencias significativas en el perfil de cannabinoides de resinas de una región).

Resina de *Cannabis* procedente de los países mediterráneos

El material a base de plantas es de tripa, a menudo contra una pared. Este proceso se realiza para separar la producción de resina de partes de

la planta de aquellas partes que no producen resina y por lo tanto son bajas en psicoactivas mandantes.

Las panículas de resina de hojas de *Cannabis*, así como sus semillas se desprenden de las partes más fibrosas de la planta. Esta última se descarta. El material se tamiza (semillas y partes fibrosas se eliminan).

El producto que queda es ahora incluso más alto en contenido de resina, en esta fase macroscópica a base de plantas características son prácticamente destruidos, pero microscópicamente el material todavía exhibe sus muchos rasgos. Físicamente se parece a un polvo fino y en este momento es comprimido en losas. En algunos países (Mediterráneo Oriental) el material es colocado en bolsas de tela antes de la compresión, en otros países (África del Norte) envoltorios de celulosa se añaden antes de la compresión. En una zona (Norte del Mediterráneo Oriental) el material se trafica en ocasiones como polvo fino sin que se haya realizado en losas.

La resina de *Cannabis* desde el subcontinente indio

Un enfoque diferente para la producción de resina de *Cannabis* se utiliza en los países del subcontinente indio. Las fructificaciones y sumidades floridas de las plantas de *Cannabis* cultivadas en los países del subcontinente indio contienen altos niveles de resina hasta el punto que hace que estas partes de la planta sean pegajosas al tacto. Cuando la fructificación y sanidades floridas de estas plantas se frotran entre las palmas de la mano la resina se transfiere desde la planta a la palma.

La producción de resina de *Cannabis* en los países del subcontinente indio es, por tanto sobre la base de un roce o amasado proceso en lugar de un proceso de la trilla. Una variedad de métodos que pueden ser utilizados para alcanzar este objetivo. Las descritas aquí pueden ser

tomadas como representante del proceso. Un lento y laborioso método para extraer la resina implica que se frote partes de la planta de *Cannabis* entre las palmas de la mano. El material se frota en las palmas de la mano y se forma como una fina capa de resina de *Cannabis*. Cuando toda la resina se ha transferido de las partes que se frota la planta se descarta (que pueda ser utilizado como un producto de segunda clase, por ejemplo, que se están realizando en una infusión similar (o té). La resina que se ha trasladado a las palmas de la mano es eliminada por raspado por el borde de un instrumento de metal. Podrá ser trasladado y recolectada en una bandeja y la siguiente parte de la planta de *Cannabis* está sujeta al proceso de frotamiento. Poco a poco, separada la resina de *Cannabis* se acumula en una bandeja o recipiente.

Una cantidad adecuada de la resina es entonces retirada de la taza y luego presiona en placas laminadas, varillas, bolas o cualquier forma se acostumbre en la localidad.

Un enfoque alternativo es frotar la floración y fructificación de las cimas de *Cannabis* contra láminas de caucho. La resina de *Cannabis* se Transfiere a las láminas de caucho y de este se puede raspar y recoger en cantidades adecuadas para la producción de losas. Este enfoque puede ser modificado por la persona que la cosecha de resina de *Cannabis* llevaba láminas de caucho, cuero o tela o similares .Siendo raspadas las láminas pueden ser recogidas limpias pudiendo producir losas, etc. sigue como se ha descrito anteriormente.

La floración y fructificación pueden ser recogidos de forma similar a la utilizada en la producción de hierba de *Cannabis*. Se trata de arrancar permitir que se seque y luego aplastar entre las manos hasta que se convierta en un polvo grueso. Este polvo es luego pasado a través de tamices de manera que alcanza finura similar a la obtenida en el Mediterráneo. El polvo fino, que todavía esta verde, se almacena en

bolsas de cuero de cuatro a cinco meses hasta que se seque con el tiempo. El polvo se expone al sol por un corto periodo de tiempo suficiente para que la resina se derrita. El polvo se sustituye por el de las bolsas de cuero de unos días, tras lo cual se elimina amasado y así por medio de varillas de madera de modo que una cierta cantidad de material aceitoso aparece en su superficie. Se continúa amasando hasta que un material adecuado para el prensado en tabletas se ha producido.

Por último, un método fundamentalmente diferente se utiliza en algunas localidades del subcontinente indio. Con poca cantidad, resina de *Cannabis* se hace de esta manera. El material vegetal, aparte de los tallos principales, se encuentra sumergida en agua hirviendo esto elimina la resina de la fructificación y sumidades floridas (similares a los desgarradores de la carne, cuando se hierve la carne del animal se eliminar las grasas de la carne). El *Cannabis* que se ha extraído se descarta (que pueda ser usado para fines culinarios), y cuando el líquido extraído se enfría, se solidificada en su superficie una capa de resina. Esta resina se podrá quitar y formar en losas o cualquier forma se ve favorecida. El problema con este método es que el agua se introduce en la resina. Esto se traduce en las placas de resina de inflexión mohosa con frecuencia a medida que envejecen.

Líquido *Cannabis* (hachís petróleo)

Es un líquido de extracto de hierba de *Cannabis*, ya sea material o de resina. La razón para hacer líquido el *Cannabis* es concentrar los ingredientes psicoactivas (por ejemplo. THC). Esto puede ayudar a evadir el traficante de interdicción porque psicoactivas más material puede ser contenido en el ocultamiento de un menor. Por otra parte, es fácil para sellar herméticamente el líquido *Cannabis*, superando así la posibilidad de detección de los olores emitidos por la materia. Líquido *Cannabis*, ya sea a partir de la resina a base de plantas o material, es preparado por un

proceso similar al utilizado para percolate café. Alternativamente el proceso puede considerarse como análoga a la extracción Soxhlei a cabo en los laboratorios químicos para extraer los productos químicos de materiales sólidos.

DESCRIPCIÓN DE LOS PRODUCTOS ILÍCITOS DE *Cannabis*

Los nombres y sinónimos de productos ilícitos de *Cannabis*

Hay tantos sinónimos utilizados para los distintos productos del *Cannabis* ilícito que está fuera del alcance de este manual para mencionarlos todos. Se remite al lector a la publicación de las Naciones unidas se ocupan de este tema.

El Diccionario multilingüe de Estupefacientes Sustancias Psicotrópicas sometidas a fiscalización internacional.

Productos ilícitos del *Cannabis*.

Producidos a partir de un variable producto natural, de un proceso discontinuo, capaz de gran variación, y posteriormente sometidos a procesamiento y transformación para el tráfico, no es de extrañar que los productos del *Cannabis* se produzcan en esa multitud de formas. Los que se describen aquí son sólo una selección, aunque los mas comunes. Dado que el material remitido para su examen forense no tiene ninguna relación física, a cualquier tipo descrito aquí, que no significa, por supuesto, que no es el *Cannabis* o un producto que contiene el mismo. Niveles típicos de THC en los productos del cannabis ilícito de los:

Hierba de *Cannabis*: 05-5%

De resina de *Cannabis*: 2-10%

Cannabis líquido: 10-30%

Cabe señalar que estos valores son sólo una guía de los niveles que puede encontrar un analista forense. Muchas muestras de hierbas, líquidos o resina de *cannabis* tendrán un contenido de THC fuera de estos límites.

Productos a base de plantas (marihuana)

El *Cannabis* cultivado en un clima templado

El cultivo de *Cannabis* en Europa, América del Norte y el hemisferio Sur es cada vez mayor; su color es verde brillante; después de la cosecha algunas muestras pierden su color verde y se ve amarillo o pocas veces de color marrón. En general la fructificación y sumidades floridas carece de resina a diferencia de hierba de *Cannabis* de el subcontinente indio no son pegajosos cuando se comprimen en la palma de la mano. Por la misma razón es difícil de comprimir este material en placas como se puede hacer con facilidad, por ejemplo, con el *Cannabis* de África occidental. Las semillas están invariablemente presentes, la planta Europea contienen mayor contenido que la de América del Norte, en la que fructificación y sumidades floridas predominan.

Características químicas; muy variables, ya que las semillas han sido importadas, a menudo ilícitamente, de diferentes regiones en las que crece de manera silvestre.

El *Cannabis* cultivado en climas tropicales

***Cannabis* del África Occidental y el Caribe**

Cada vez más, el material es de color verde, y en la cosecha y el secado, se convierte en marrón pero algunas muestras conservan su color verde, En general el del Caribe conserva su color verde como del África

Occidental. Es raro encontrar una muestra seca de *Cannabis* de África occidental que no es marrón. Aparte del color estos dos tipos son física y químicamente muy similares. En algunas muestras de África occidental la fructificación y sumidades floridas se han destruido en la tramitación: muchas semillas de color marrón oscuro son visibles en el comprimido en masa de materiales a base de plantas.

Hasta los últimos años el *Cannabis* del Caribe era de baja calidad, contiene muchos tallos que son bajos o totalmente desprovistos de los mandantes psicoactivas de este. Una tendencia reciente ha sido el intento de producir Sin semilla; aún no han sido detectados muestras totalmente libres de semillas, pero la cantidad de materia no psicoactivas que contengan en estas incautaciones se reduce significativamente, y la fructificación y sumidades floridas de algunas incautaciones son comparables a las que se encuentran en América del Norte Sin semilla.

Características químicas: Ambos tipos falta CDB y tiene un nivel bajo de THC.

El *Cannabis* de África Central

La mayoría de las muestras son similares al *Cannabis* de África occidental, pero algunas son similares a los producidos en la parte sur de África Características químicas: muestras marrón similar para el de África Occidental perfil en cannabinoides verde similar a las muestras del África Meridional.

***Cannabis* desde el sur de África**

Cuando esta seco y se ha preparado para el tráfico este material se asemeja en general al cultivado en zonas templadas, Es a la vez mucho más verde y contiene una mayor proporción de hojas que de África

occidental. Características químicas: No CDB y THC en aproximadamente cantidades iguales.

El *Cannabis* de América del Sur

Similar al del Caribe; sus muestras varían enormemente en la calidad de los productos que contienen alta proporción de fibra, no psicoactivas que contienen material sin semilla tipo de productos que sólo fructificación y sumidades floridas. Características químicas: Al igual que en el Caribe, la ocasional muestra contiene una pequeña cantidad de CBD.

***Cannabis* desde el subcontinente indio**

Tres tipos pueden ser víctimas de la trata de lo siguiente:

Marrón fructificación y sumidades floridas que tienen un alto contenido de resina pegajosa a la palma de la mano.

De color verde oscuro marrón material similar a algunas muestras de África occidental; Verde en gran medida el material carece de hoja de fructificación y sumidades floridas.

Características químicas:

CBD actual, THC aproximadamente iguales.

Se asemeja al de África Occidental

Bajos niveles de cannabinoides.

El *Cannabis* de Asia Sudoriental

Características químicas: Normalmente sólo el TCH, CBD.

TOMA, PREPARACIÓN Y PROCEDIMIENTOS DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE 9-CARBOXI-THC.

Precauciones

Ciertas precauciones también deben ser observadas cuando se trata de muestras de orina para el ensayo de 9-carboxi-THC. Degradación térmica de cannabinoides metabolitos se produce con relativa rapidez y el principal metabolito es el 9-carboxi-THC. Puede disminuir de manera significativa, incluso a temperatura ambiente después de la primera semana y por tanto como 45% después de 6 meses. La disminución depende de tales factores como la oxidación, la cantidad de orina en el recipiente y el tipo de recipiente utilizado. También se ha informado de que el 9-carboxi-THC absorbe irreversiblemente a diversos tipos de contenedores con lo que las pérdidas son considerables.

Preparación de la muestra de inmunoensayo

En general, poca o ninguna preparación de la muestra es necesaria para inmunoensayo.

Preparación de la muestra para cromatografía

(a) La hidrólisis

Más del 80% de la excreta cannabinoide metabolito. 9-carboxi-THC está presente en la orina en forma de glucurónido conjugado. Para liberar el metabolito es necesario hidrolizar la orina y esto puede realizarse ya sea por alcalinidad o hidrólisis enzimática. Hidrólisis alcalina es considerada más eficiente y reproducible.

Pipetear 10 ml de orina de su envase original en un vaso tubo tapón. Para los métodos que requieren de un patrón interno (GC, GC/ MS. HPLC), esto debería ser añadido al tubo.

Añadir 2 ml 10 N de hidróxido de potasio: cerrar el tubo e incubar durante 20 min. a 50°C agitando de vez en cuando.

En esta etapa. Una sola extracción con 20 ml de ciclohexano -acetato de etilo (7:1, v / v)

Análisis neutral, para eliminar las impurezas básicas.

(b) Extracción

El proceso de extracción debe ser eficiente y selectivo, Una buena recuperación es importante, ya que la cantidad total de los cannabinoides presentes es muy baja. La selectividad es importante para garantizar que las sustancias que interfieren, presentes en la orina se eliminan.

Extracción de 9-carboxi-THC hidrolizado de orina se lleva a cabo a pH ácido, para garantizar que el metabolito es soluble en los disolventes orgánicos utilizados. Los comúnmente utilizados disolventes o mezclas de solventes en la extracción líquido que se han publicado son el éter de petróleo, hexano, éter dietílico, cloroformo y combinaciones de hexano y acetato de etilo.

c) Líquido-líquido

Después de enfriar la muestra, luego de la hidrólisis, ajustar su pH a 2 con HCl 2 N o H₂SO₄ 2 N. Añadir 15 ml ciclohexano-acetato de etilo (7:1. v/ v) y extraer la solución con agitación mecánica durante 10 min. Retire la capa orgánica y pásela a través de una pequeña cantidad de sulfato de sodio seco en un tubo cónico, lavar el filtro.

Con 5 ml solvente se evapora a sequedad a temperatura ambiente con una corriente de aire o nitrógeno. Disolvemos el residuo en 0.2 ml metanol o acetonitrilo-metanol (3:1, v / v) por agitación o ultrasonidos.

d) Fase sólida

Como alternativa a la extracción líquido-líquido, puede ser utilizado químicamente la servidumbre de fase inversa (modificado de sílice) se recomienda absorbente y este debería ser usado de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La condición que las columnas se enjuaguen lentamente con 3ml de metanol y agua, por varias veces, así el agua, el metanol y el agua a su vez. Con 10 ml la jeringa de plástico que es un órgano adjunto a la columna ofrece un depósito. Aplicamos la debilidad de vacío para aumentar el flujo. Pasar el hidrolizado de orina (2 ml) a través de la columna y lavar con 10 ml de HCl 0,1 N y 50 ml de ácido fosfórico al 10% en acetonitrilo. Diluir 9- carboxi-THC con 1 ml de acetona. Evaporar el disolvente bajo una corriente de nitrógeno y disolver el residuo en 0,1 ml de metanol.

e) Preparación de soluciones patrón interno:

Preparar una solución stock en etanol absoluto que contiene 1 mg / ml de Cannabinol. Transferencia de 1 Kg. de la solución de un estándar de 200 en un matraz y llevar a dilución con etanol absoluto (1 ml de solución de patrón interno= 5 mg de cannabinol).

f) Norma solución

Dado que por lo general no hay necesidad de cuantificación. La disposición 9-carboxi- THC es una solución que se utilizará para la identificación del metabolito en la orina.

Los métodos de cribado

Métodos inmunoenzimáticos

Se recomienda que los laboratorios que tienen acceso a estas técnicas los inmunoensayos se deban utilizar para el cribado inicial. Varios son los inmunoensayos comercialmente disponibles para la detección de cannabinoides en orina todos los inmunoensayos detectan 9-carboxi-THC y con media o alta reactividad cruzada hacia otros metabolitos urinarios. Todos los resultados positivos obtenidos de pruebas de cribado inicial deben ser confirmados por un segundo ensayo de la muestra original utilizando métodos basados en técnicas y principios químicos diferentes de la prueba de detección inicial. Estos ensayos deberían ser más específicos y por lo menos igualmente sensibles.

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Norma técnica de TLC

Detalles de la norma TLC materiales y procedimientos se dan en el manual de las Naciones Unidas. Métodos recomendados para los controles de *Cannabis*, y estas son aplicables a los análisis de extractos biológicos para el 9carboxi-THC.

Placas de TLC

Revestimiento: Activado gel de sílice G; gel de sílice que contienen un aditivo que flúorese bajo luz, UV a la longitud de onda de 254 nm. También se puede utilizar capa de espesor: 025 mm

Tamaño de placas: placas de vidrio 20 X 20 cm.; 20 x 10cm o 10 x 5 cm.
El plazo máximo es de aproximadamente 10 cm.

Procedimiento

Solución reconstituida se aplica a la placa. Una solución estándar de 9-carboxi-THC también se aplica a la placa que luego se desarrolla utilizando uno de los sistemas de solventes expuestos a continuación¹⁷.

¹⁷ Fuente: Manual para Uso de Laboratorios Nacionales de Estupefacientes (Anexo a éste Documento)

SISTEMAS DE DISOLVENTES

CUADRO Nº.5

SISTEMAS DE DISOLVENTES	REACTIVOS	CANTIDADES ml
SISTEMA A	ACETATO DE ETILO	12
	METANOL	5
	CONC. AMONIACO	1
	AGUA	0.5
SISTEMA B	CLOROFORMO	70
	METANOL	30
	AMONIACO	2
SISTEMA C	TOLUENO	
SISTEMA D	ÉTER DE PETRÓLEO	80
	ÉTER ETÍLICO	20
SISTEMA E	ÉTER DE PETRÓLEO	50
	ÉTER ETÍLICO	50
SISTEMA F	HEXANO	75
	TOLUENO	25
	DIETILAMINA	5
SISTEMA G	CICLOHEXANO	52
	ÉTER ISOPROPÍLICO	40
	DIETILAMININA	8
SISTEMA H	HEXANO	70
	DIOXANO	20
	METANOL	10

FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE ESTUPEFACIENTES

Visualización

Las placas deben secarse antes de la visualización. Esto puede hacerse a temperatura ambiente, o más rápidamente. Con un horno a 20 °C durante 10 min. O por el uso de un soplador de aire caliente.

A continuación citamos algunos ejemplos del uso de reveladores en cromatografía en capa fina con los diferentes sistemas de solventes¹⁸:

Sistema cromatográfico No.1

Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G-254, de espesor 0,25 mm, activadas a 110 °C

Fase móvil: Éter de petróleo - dietil éter (80:20)

Reveladores:

- Solución de azul sólido B spray y vapores de amoníaco
- Solución de Duquenois spray y ácido clorhídrico

VALORES DE R_f DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA CROMATOGRÁFICO No. 1 CUADRO Nº. 6

Compuesto	Valor de R _f	Color azul sólido B	Color Duquenois
Cannabinol	21	Morado	Azul-violeta
Tetrahidrocannabinol	60	Rosado a rojo	Azul-violeta
Cannabidiol	85	Amarillo-naranja	Azul-violeta

FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE ESTUPEFACIENTES

¹⁸ Guía de Técnicas de Análisis de Estupefacientes. Crisanta Alonso de Lizcano – Amparo Básquez. Pag. 29 – 31.

Sistema cromatográfico No. 2

Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G-254, de espesor 0,25 mm, activadas a 110 °C

Fase móvil: Ciclohexano Reveladores:

- Solución de azul sólido B spray y vapores de amoníaco
- Solución de Duquenois spray y ácido clorhídrico

VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA CROMATOGRÁFICO No. 2 CUADRO Nº. 7.

Compuesto	Valor de Rf	Color azul sólido B	Color Duquenois
Cannabinol	15	Morado	Azul-violeta
Tetrahidrocannabinol	32	Rosado a rojo	Azul-violeta
Cannabidiol	46	Amarillo-naranja	Azul-violeta

FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE ESTUPEFACIENTES

Sistema cromatográfico No. 3

Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G-254, de espesor 0,25 mm, activadas a 110°C.

Correr la placa en dimetilformamida-tetracloruro de carbono [60:40]; secar a temperatura ambiente por 1 hora.

Fase móvil: Ciclohexano

Reveladores:

- Solución de azul sólido B spray y vapores de amoníaco
- Solución de Duquenois spray y ácido clorhídrico

**VALORES DE R_f DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 3**

CUADRO N^o. 8.

Compuesto	Valor de R _f	Color azul sólido B	Color Duquenois
Cannabinol	26	Morado	Azul-violeta
Tetrahidrocannabinol	36	Rosado a rojo	Azul-violeta
Cannabidiol	43	Amarillo-naranja	Azul-violeta

**FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE
ESTUPEFACIENTES**

Sistema cromatográfico No. 4

Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G-254, de espesor 0,25 mm, activadas a 110 °C

Correr la placa en dimetilformamida-tetracloruro de carbono [60:40]; secar a temperatura ambiente por 1 hora.

Fase móvil: Éter de petróleo - dietileter [80:20]

Reveladores:

- Solución de azul sólido B spray y vapores de amoníaco
- Solución de Duquenois spray y ácido clorhídrico

**VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 4**

CUADRO Nº. 9

Compuesto	Valor de Rf	Color azul sólido B	Color Duquenois
Cannabinol	26	Morado	Azul-violeta
Tetrahydrocannabinol	53	Rosado a rojo	Azul-violeta
Cannabidiol	66	Amarillo-naranja	Azul-violeta

FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE ESTUPEFACIENTES

Sistema cromatográfico No. 5

Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G-254, de espesor 0,25 mm, activadas a 110 °C

Correr la placa en dimetilformamida; secar a temperatura ambiente por 1 hora. Fase móvil: Éter de petróleo - dietileter [80:20]

Reveladores:

- Solución de azul sólido B spray y vapores de amoníaco
- Solución de Duquenois spray y ácido clorhídrico

**VALORES DE Rf DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA
CROMATOGRÁFICO No. 5**

CUADRO Nº. 10

Compuesto	Valor de Rf	Color azul sólido B	Color Duquenois
Cannabinol	23	Morado	Azul-violeta
Tetrahydrocannabinol	43	Rosado a rojo	Azul-violeta
Cannabidiol	56	Amarillo-naranja	Azul-violeta

FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE ESTUPEFACIENTES

Sistema cromatográfico No. 6

Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G-254, de espesor 0,25 mm, activadas a 110 °C

Fase móvil: Tolueno - Eter de petróleo - Dietilamina [40:55:1.5]

Reveladores:

- Solución de azul sólido B spray y vapores de amoníaco
- Solución de Duquenois spray y ácido clorhídrico

VALORES DE R_f DE CANNABINOIDES EN EL SISTEMA CROMATOGRÁFICO Nº. 6

CUADRO Nº. 11

Compuesto	Valor de R _f	Color azul sólido B	Color Duquenois
Cannabinol	18	Morado	Azul-violeta
Tetrahydrocannabinol		Rosado a rojo	Azul-violeta
Cannabidiol	35	Amarillo-naranja	Azul-violeta

FUENTE: MANUAL PARA USO DE LABORATORIOS NACIONALES DE ESTUPEFACIENTES

Reactivo en spray:

0.1% solución acuosa de Fast blue B sal. La solución debe prepararse una aceptable frecuencia una vez al día.

Es importante para el desarrollo del color que la placa se haga alcalina, Esto puede hacerse al exponer la placa a vapores de amoníaco o dietilamina después de la pulverización. La placa se seca usando un soplador de aire caliente. 9-carboxi-THC aparece como una rosa de color rosa o rojo al contacto y el mismo R_f como el estándar de 9-carboxi-THC

Nota: fast Blue B sal es reclamada por algunas autoridades al ser un potencial cancerígeno. Las mismas autoridades afirman que el tinte azul rápido BB es menos sospechoso como posible cancerígeno. Por lo tanto, como una alternativa, la placa puede ser rociados con una solución recién preparada de Fast Blue BB sal en 0,1 M de hidróxido de sodio (0.75 mg/10ml) y luego se seca para garantizar el desarrollo correcto del color y la estabilidad.

Concentración variación

La concentraciones de drogas en la orina puede estar influenciada por una serie de diferentes factores principalmente la ingesta de líquidos. La concentración de un fármaco en la orina pueden cambiar 10 veces en cuestión de horas. Esto significa que la prudencia debe ejercerse a la hora de interpretar un resultado positivo que ocurre. Por ejemplo, después de una función negativa en un régimen de muestreo diario. Esto es particularmente problemático en el caso de una droga como el THC con una larga vida media, donde es probable la detectabilidad a lo largo de varios días, pero la concentración varía de forma importante en torno a la línea de corte, Las muestras positivas siguientes no necesariamente indican efectos negativos adicionales al uso de la marihuana.

LA PROSTITUCIÓN

Se define como el acto de participar en actividades sexuales a cambio de dinero o bienes. Aunque esta actividad es llevada a cabo por miembros de ambos sexos, es más a menudo por las mujeres, pero también se aplica a los hombres en el contexto de la prostitución homosexual, travesti, transexuales y heterosexuales. El término genérico empleado es prostituta(s)¹⁹.

¹⁹ www.wikipedia.com

PROSTITUCIÓN Y DELINCUENCIA

La prostitución es hoy día una práctica ilegal en muchos países, propia de ambientes marginales y relacionada con otras formas de delincuencia. Muchas mujeres y niños son obligados a ejercerla por parte de individuos o bandas criminales organizadas, hasta el punto de que las Naciones Unidas, ya en 1949, promovieron una convención para el control de la prostitución y la lucha contra el tráfico de personas esclavizadas generado a su alrededor.

CONDICIONES LABORALES

En algunos países, principalmente del norte de Europa (Holanda y Alemania), la prostitución es un oficio regulado en el que sus trabajadores y trabajadoras pagan sus impuestos y no arrastran una imagen social tan degradada (éste es el llamado «modelo pro regulación»; sus partidarios consideran a las personas que ejercen la prostitución un tipo más de trabajador sexual). Sin embargo, en otros países del mismo entorno, como Suecia, se ha optado por permitir la prostitución penalizando el consumo, es decir, a los clientes (el llamado «modelo abolicionista»): allí, la prostitución se considera una forma de violencia contra las mujeres, y se penaliza a los hombres que las explotan al comprar sus servicios sexuales; en la mayor parte de los casos, las prostitutas son víctimas que requieren ayuda, y se intenta educar al público, pues se considera que la igualdad en el trato hacia ambos géneros (femenino y masculino) continuará siendo inalcanzable mientras haya hombres que compren, vendan y exploten a mujeres, niñas y niños, prostituyéndolos.

La figura de la prostituta está también estrechamente ligada a la del proxeneta, persona que recibe un porcentaje de los beneficios conseguidos por la misma. En principio el proxeneta recibe ese dinero como pago por un servicio, habitualmente el de actuar como mediador

entre la prostituta y el cliente, proveer la habitación o lugar donde tiene lugar el servicio sexual, etc. Sin embargo, cuanto más marginal es el tipo de prostitución, más se convierte el proxeneta en un mero extorsionador, que en su grado más bajo retiene a las prostitutas bajo su control mediante amenazas y abusos que llegan a la violencia física (secuestros). Esta situación es más habitual (prácticamente la norma) en países donde la prostitución es ilegal. Sin embargo, la legalización no es suficiente garantía para evitar este tipo de abusos; en países europeos donde la prostitución es legal, como España, las fuerzas de seguridad detectan e intervienen de manera periódica en locales en los que se retiene a mujeres por la fuerza, obligándolas a prostituirse víctimas de redes de trata de blancas.

RELACIÓN CON LAS DROGAS

Las prostitutas son consideradas como la población mas susceptible al consumo de algún tipo de droga, todo en dependencia del trabajo que desempeñan, así se podría decir que mediante una investigación realizada, son obligadas por sus empleadores en su mayor parte a consumir algún tipo de alcaloide, ya sea para soportar las largas jornadas de trabajo, así como en algunos casos el maltrato por parte de sus clientes, también para olvidar sus problemas, y para que obtengan un mejor desempeño con el cliente. Al ser estas las causas principales podemos decir que poco a poco si se comprueba creará algún grado de dependencia en la misma y se volverá una consumidora habitual, ya que sus problemas también son habituales, originándose de esta manera una vasta cadena de consumidores en su círculo de vida.

ANALISIS REALIZADO EN NUESTRA INVESTIGACION

PROCEDIMIENTO

Recolección de la muestra.- Las muestras fueron recogidas en envases estériles de polietileno, a las trabajadoras sexuales que llegan atenderse en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo, exclusivamente los días jueves y viernes de cada semana, esto se realizó en los meses de Julio, Agosto y Septiembre del 2009.

MUESTRAS DE ORINA

IMAGEN Nº. 1



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

Transporte y almacenamiento de las muestras.- Las muestras fueron transportadas utilizando las normas de bioseguridad correspondientes hasta el Laboratorio de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, pues estas deben llegar al laboratorio en el menor tiempo posible para realizar una buena identificación.

Hidrólisis de la muestra.- Para proceder a extraer el metabolito de las muestras de orina se debe realizar la hidrólisis respectiva, para lo cual previamente se prepara el siguiente reactivo. KOH 10 N.

a) Preparación del reactivo KOH 10 N.

$$\frac{10 \text{ eq-g KOH}}{1000 \text{ ml sol KOH}} \times \frac{50 \text{ ml sol KOH}}{1 \text{ eq-g KOH}} \times \frac{1 \text{ mol KOH}}{1 \text{ mol KOH}} \times \frac{56.10 \text{ g KOH}}{1 \text{ mol KOH}} = 28.05 \text{ gKOH}$$

b) Una vez preparado el reactivo realizar la hidrolisis para lo cual se pipetea 10 ml de orina en una probeta y luego poner en un vaso de precipitación.

c) A continuación se coloca 2 ml de KOH 10 N en la muestra y cerrar.

d) Muestras en proceso de hidrólisis.

e) Incubar a 50 grados centígrados en el interior de la estufa por el lapso de 20 minutos.

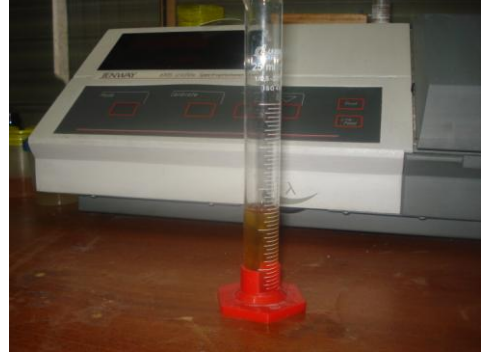
HIDRÓLISIS DE MUESTRAS DE ORINA

IMAGEN N° 2

a



b



c



d



e



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

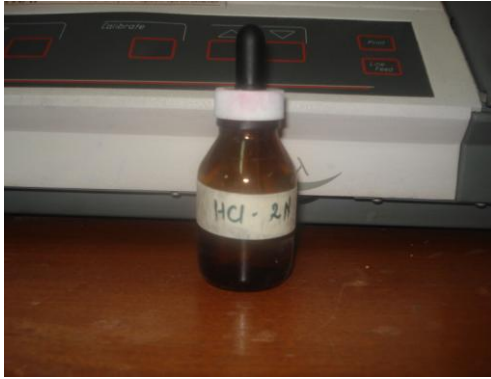
ACIDIFICACION Y MEDICION DEL pH

- a) Acido Clorhídrico 2N (8 ml de HCl en 50 ml de H₂O).
- b) Aplicación de HCl 2N en las muestras hidrolizadas.
- c) Insertar la tira indicadora de pH en las muestras de orina.
- d) Sumergir la tira en la muestra.
- e) Medir y observar que esté a un pH 2 las muestras analizar.

ACIDIFICACION Y MEDICION DEL pH.

IMAGEN N° 3

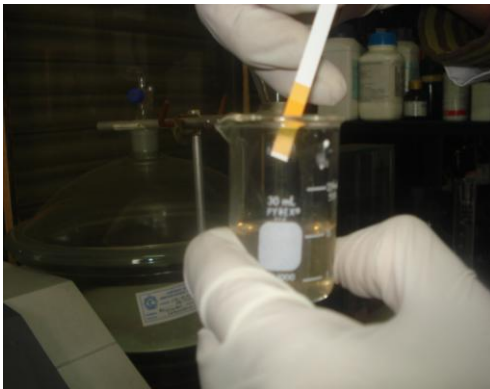
a



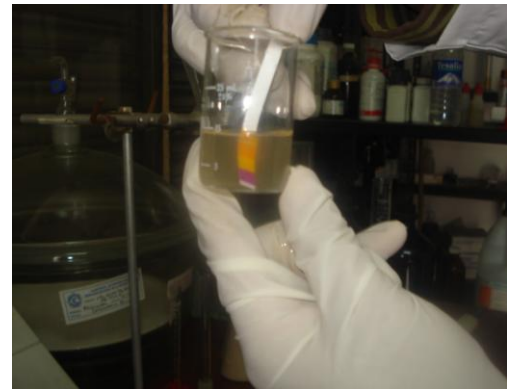
b



c



d



e



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

EXTRACCIÓN

- a) Reactivos para la preparación del sistema de solventes extractores, Ciclohexano, Acetato de Etilo.
- b) Preparar el sistema de solventes extractor en proporción 7-1.
Para 100 ml de sistema de solventes de extracción.
Ciclohexano: 87.5 ml
Acetato de Etilo: 12.5 ml
- c) Armar el equipo de extracción.
- d) Colocar la muestra en el embudo de separación.
- e) A continuación poner el Sistema de Solventes extractor en el embudo de separación.
- f) Observar la formación de dos fases.
- g) Mezclar por medio de agitación mecánica
- h) Separar la primera fase, denominada de deshecho en un envase de polietileno.
- i) Obtener la segunda fase de interés por ser afín al metabolito 9-carboxi THC.
- j) Reposo
- k) Secado
- l) Muestras listas para el análisis por Cromatografía en capa fina.

EXTRACCIÓN

IMAGEN N° 4

a



b



c



d



e



f



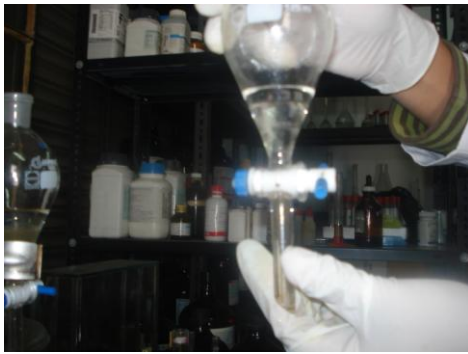
g



h



i



j



k



l



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

PRUEBA CUALITATIVA DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Se prepara el sistema de solventes respectivo. Se usó dos sistemas de solventes.

S.S: Sistema de solventes

Sistema A

Éter de petróleo	40 ml
Éter etílico	10 ml
Total	50 ml S.S

Sistema B

Hexano	37.5 ml
Tolueno	12.5 ml
Dietilamina	2,5 ml
Total	52.5 ml S.S

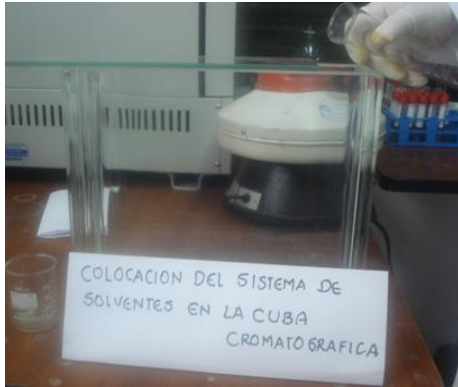
Realizado la medición correcta de los reactivos procedemos a preparar la cuba cromatográfica en la cual vamos a colocar los mismos, unos 20 minutos antes de colocar las placas, esto con el fin de que se sature o concentre el sistema de solventes empleado. Se trabajó con el **sistema de solventes A** las muestras 1 hasta la 36 y desde la 37 hasta la 58 con el **sistema de solventes B**.

- Colocar el sistema de solventes en la cuba cromatográfica para que estos saturen la misma.
- Disponer del material para medir y cortar la placa de sílica gel, fase estacionaria en este tipo de cromatografía.
- Placas de 5 cm de ancho por 10 cm de alto.
- Proceso de corte.
- Placas listas para la colocación de las muestras, el estándar y realizar el respectivo análisis

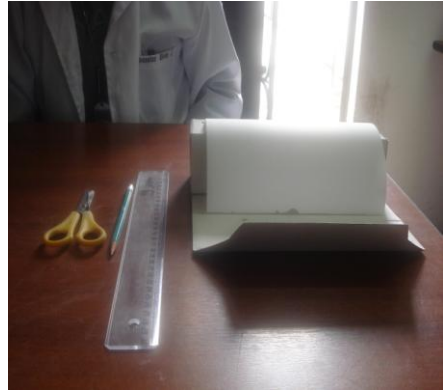
CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

IMAGEN N° 5

a



b



c



d



e

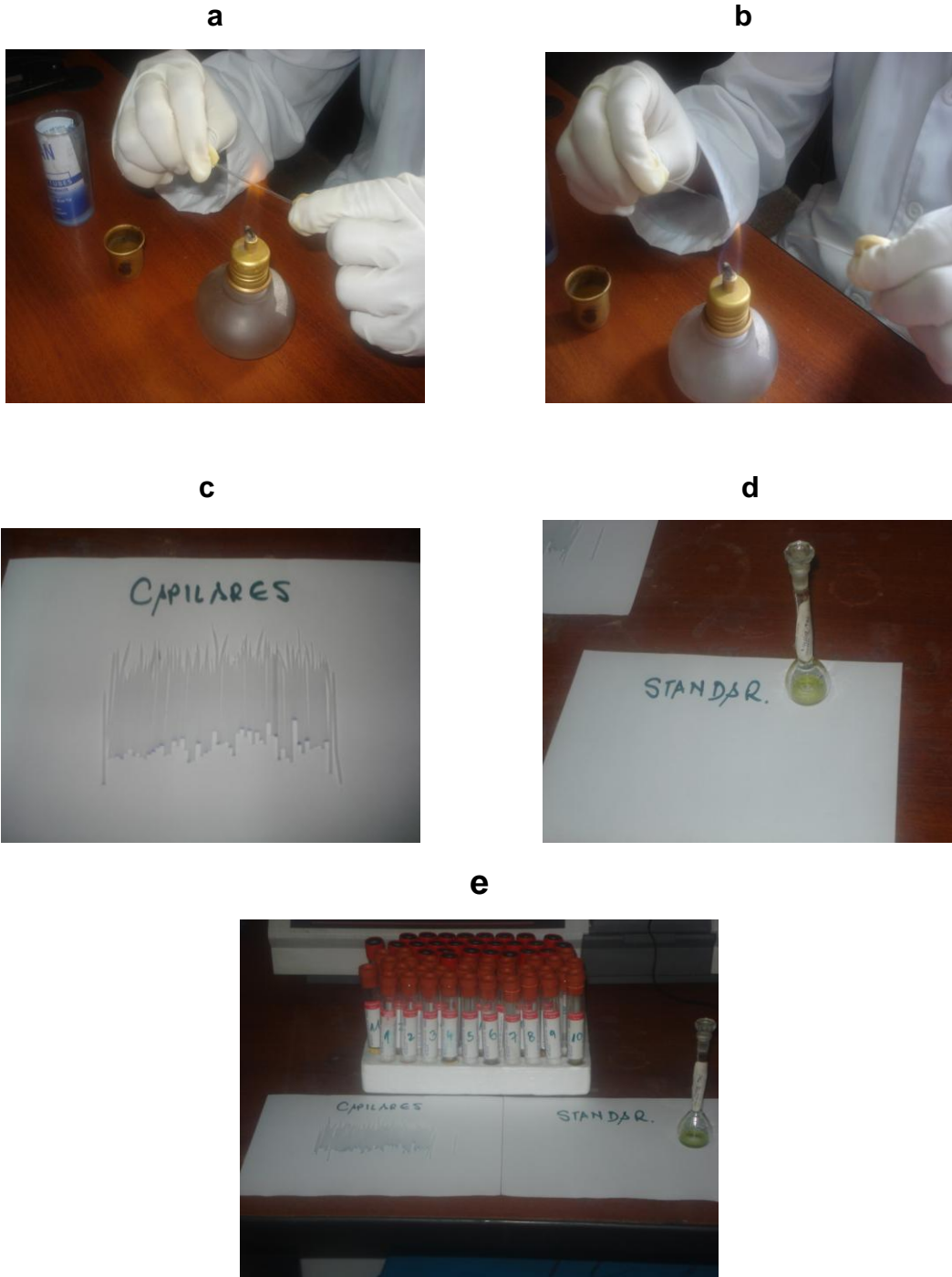


FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

PREPARACIÓN DE CAPILARES Y ESTANDAR

- a) Capilares sometidos a la acción del fuego con el fin de cortarlos.
- b) Proceso de corte del capilar.
- c) Capilares listos.
- d) Preparación del estandar.
- e) Muestras , estandar y capilares.

PREPARACIÓN DE CAPILARES Y ESTANDAR IMAGEN N° 6



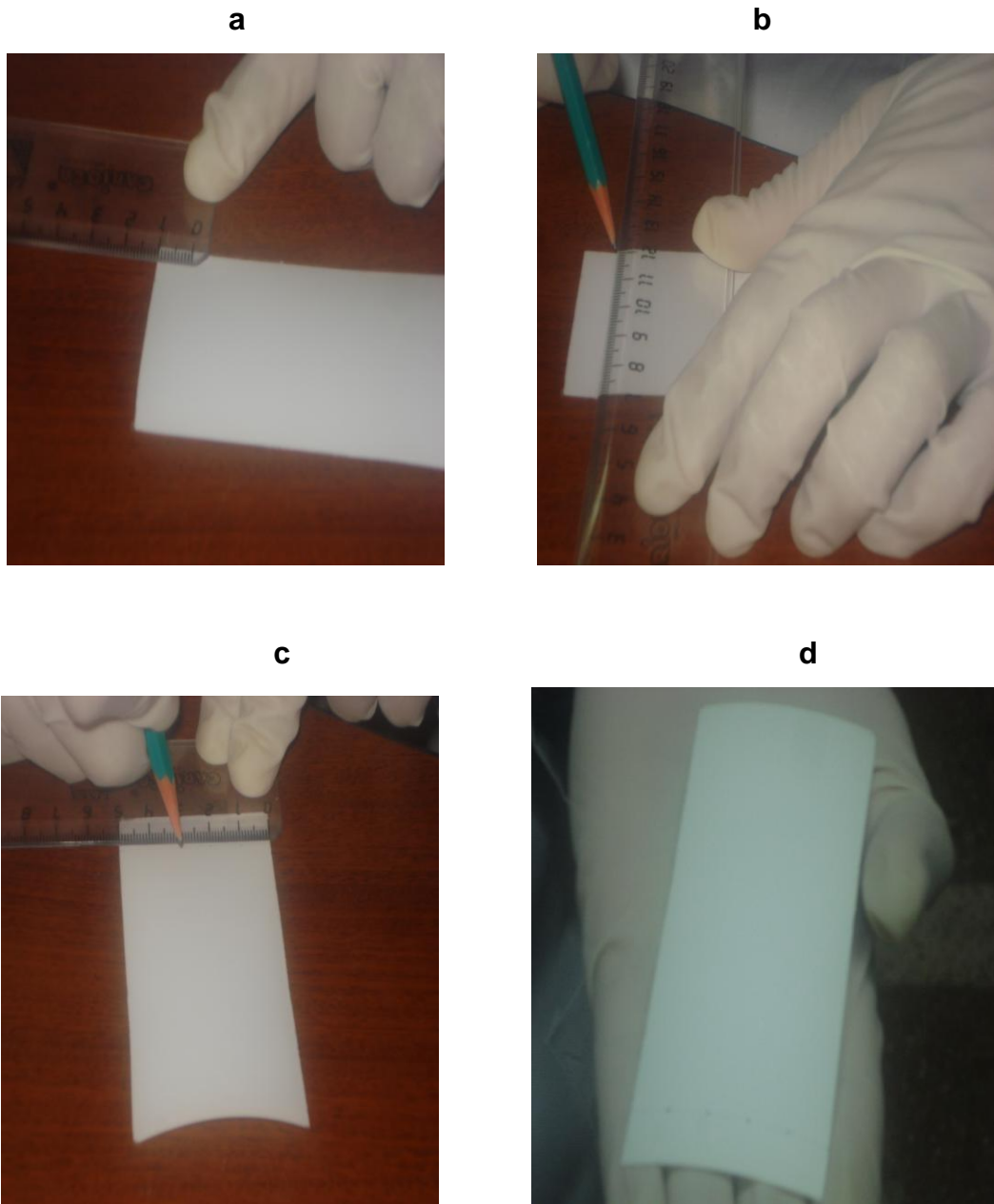
FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

TRAZADO Y SEÑALIZACIÓN DE LAS PLACAS DE SILICA GEL

- a) Señalar cada una de las placas a un centímetro y medio de distancia desde la base.
- b) Realizar el trazado
- d) Medir e indicar mediante un punto a 1 cm. de distancia en la línea trazada anteriormente con el propósito de colocar la muestra y el estándar respectivamente.
- e) Placa de sílica gel señalada correctamente.

TRAZADO Y SEÑALIZACIÓN DE LAS PLACAS DE SILICA GEL

IMAGEN N° 7



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

COLOCACIÓN DE LAS MUESTRAS Y EL ESTANDAR

- a) Colocar primeramente el estandar en el centro, así como las respectivas muestras en la placa de silica gel.
- b) Introducir las placas en la cuba cromatográfica.
- c) Proceso cromatográfico.
- d) Recorrido por capilaridad y adsorción durante el proceso cromatográfico.

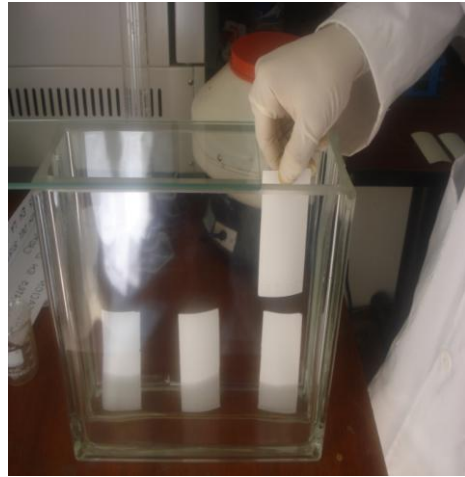
COLOCACIÓN DE LAS MUESTRAS Y EL ESTANDAR

IMAGEN N° 8

a



b



c



d



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

REVELADO

Terminado el proceso cromatográfico, secar las placas a temperatura ambiente para posteriormente realizar el revelado.

Para la realización de esta prueba se necesita preparar el revelador, en este caso se usa la sal de azul solido B, la cual se prepara de la siguiente manera.

Reactivos

Sal Azul Solido B

NaOH 0.1 N

Preparación del NaOH 0.1 N

$$\frac{0.1 \text{ eq-g NaOH}}{1000 \text{ ml Sol NaOH}} \times 50 \text{ ml Sol NaOH} \times \frac{1 \text{ mol NaOH}}{1 \text{ eq-g NaOH}} \times \frac{40 \text{ g de Na OH}}{1 \text{ mol NaOH}} = 0.2 \text{ g Na OH}$$

Pesar 0,2 g de NaOH y aforar con H₂O hasta 50ml en un balón aforado.

Preparación del Reactivo Sal Azul Solido B

Para esto pesar 50 mg de Sal Azul Solido B y colocar en 20 ml de NaOH 0.1 N. el revelador estará listo.

REVELADO CON AZUL SOLIDO B.

Dos pruebas positivas y una negativa. Estándar respectivo (centro).

REVELADO CON AZUL SOLIDO B. SISTEMA DE SOLVENTES A

IMAGEN N° 9



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

REVELADO CON AZUL SÓLIDO B.

REVELADO SISTEMA DE SOLVENTES B

IMAGEN N°10



FUENTE: GALO YAMBAY; JHONNATAN RIVERA

RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANÁLISIS

MUESTRA	RESULTADO	MUESTRA	RESULTADO
1	NEGATIVO	2	NEGATIVO
3	NEGATIVO	4	POSITIVO
5	NEGATIVO	6	NEGATIVO
7	NEGATIVO	8	NEGATIVO
9	NEGATIVO	10	POSITIVO
11	POSITIVO	12	NEGATIVO
13	NEGATIVO	14	NEGATIVO
15	NEGATIVO	16	POSITIVO
17	NEGATIVO	18	POSITIVO
19	POSITIVO	20	NEGATIVO
21	POSITIVO	22	NEGATIVO
23	NEGATIVO	24	NEGATIVO
25	NEGATIVO	26	NEGATIVO
27	NEGATIVO	28	NEGATIVO
29	NEGATIVO	30	NEGATIVO
31	NEGATIVO	32	NEGATIVO
33	NEGATIVO	34	NEGATIVO
35	NEGATIVO	36	NEGATIVO
37	NEGATIVO	38	NEGATIVO
39	NEGATIVO	40	POSITIVO
41	NEGATIVO	42	NEGATIVO
43	NEGATIVO	44	NEGATIVO
45	POSITIVO	46	NEGATIVO
47	NEGATIVO	48	NEGATIVO
49	NEGATIVO	50	POSITIVO
51	POSITIVO	52	NEGATIVO
53	NEGATIVO	54	NEGATIVO
55	NEGATIVO	56	NEGATIVO
57	POSITIVO	58	NEGATIVO

Cálculos de Rf de las muestras positivas de orina.

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del sistema de solventes}}$$

Muestra 4

$$Rf = \frac{3.50}{7.2} = 0.48$$

Muestra 10

$$Rf = \frac{4.00}{7.50} = 0.53$$

Muestra 11

$$Rf = \frac{3.90}{7.50} = 0.52$$

Muestra 16

$$Rf = \frac{4.25}{8.10} = 0.52$$

Muestra 18

$$R_f = \frac{4.40}{8.10} = 0.54$$

Muestra 19

$$R_f = \frac{3.95}{6.90} = 0.57$$

Muestra 21

$$R_f = \frac{4.00}{6.90} = 0.57$$

Muestra 40

$$R_f = \frac{2.10}{7.50} = 0.28$$

Muestra 45

$$R_f = \frac{2.00}{7.50} = 0.26$$

Muestra 50

$$R_f = \frac{1.80}{7.80} = 0.23$$

Muestra 51

$$R_f = \frac{2.00}{7.80} = 0.25$$

Muestra 57

$$R_f = \frac{2.00}{8.00} = 0.25$$

BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA

Son todos los procedimientos y acciones que garantizan una mejor calidad de vida, del profesional, del paciente tanto en lo clínico como en lo forense y medio ambiente²⁰.

USO DE LOS ELEMENTOS DE PROTECCIÓN PERSONAL

Los elementos de protección personal son un complemento indispensable de los métodos de control de riesgos para proteger al trabajador colocando barreras en las puertas de entrada para evitar la transmisión de infecciones. Sin embargo debe recordarse que muchos de los elementos de protección personal en instituciones de salud no fueron diseñados para ese propósito sino para evitar la contaminación de campos quirúrgicos y la transmisión de microorganismos de paciente a paciente a través del personal de salud, por lo cual tienen esa doble función.

De acuerdo con el procedimiento a realizar, se determina el uso de elementos de protección específicos tales como:

Uso de mascarilla y protectores oculares en los procedimientos que se generen gotas de sangre o líquidos corporales. Con esta medida se previene la exposición de mucosas de boca, nariz y ojos, evitando que se reciban inóculos infectados.

- Uso de mascarilla buconasal: protege de eventuales contaminaciones con saliva, sangre o vómito, que pudieran salir del paciente y caer en la cavidad oral y nasal del trabajador. Al mismo tiempo, la mascarilla impide que gotitas de saliva o secreciones nasales del personal de salud contaminen al paciente, debe usarse en los pacientes en los cuales se halla definido un plan de aislamiento de gotas.

²⁰ Manual de Normas y Procedimientos de Bioseguridad. COVE. Pág. 15 – 18

- Uso de braceras: para evitar el contacto del antebrazo y brazo con sangre o líquidos corporales en procedimientos invasivos como partos normales, cesárea, citología y odontología, medicina forense, entre otros.
- Uso de guantes: Reducen el riesgo de contaminación por fluidos en las manos, pero no evitan las cortaduras ni el pinchazo. Es importante anotar que el empleo de guantes tiene por objeto proteger y no sustituir las prácticas apropiadas de control de infecciones, en particular el lavado correcto de las manos. Los guantes deben ser de látex bien ceñidos para facilitar la ejecución de los procedimientos. Si se rompen deben ser retirados, luego proceder al lavado de las manos y al cambio inmediato de estos. Si el procedimiento a realizar es invasivo de alta exposición, se debe utilizar doble guante. El guante se diseñó para impedir la transmisión de microorganismos por parte del personal de salud a través de las manos; por tal motivo cuando se tengan los guantes puestos deben conservarse las normas de asepsia y antisepsia. Para personal de oficios varios y el encargado de manejo de residuos, los guantes deben ser más resistentes, tipo industrial.
- Delantal de caucho: Es un protector para el cuerpo; evita la posibilidad de contaminación por la salida explosiva o a presión de sangre o líquidos corporales; por ejemplo, en drenajes de abscesos, atención de heridas, partos, punción de cavidades y cirugías, entre otros.
- Polainas: Se utilizan para trabajadores de la salud que estén expuestos a riesgos de salpicaduras y derrames por líquidos o fluidos corporales.
- Gorro: Se usa con el fin de evitar en el trabajador de la salud el contacto por salpicaduras por material contaminado y además evita la contaminación del paciente con los cabellos del trabajador de salud.

MANTENIMIENTO DE ELEMENTOS DE PROTECCIÓN PERSONAL

Los elementos de protección personal se clasifican según el área del cuerpo que se quiere aislar. Este tipo de protección puede ser: ocular, buconasal y facial, de extremidades superiores y cuerpo.

PROTECCIÓN OCULAR

Monogafas de seguridad.

Usuarios:

Cirujanos, Obstetras, Médicos, Instrumentadoras quirúrgicas, personal de Enfermería que realice procedimientos con factor de Riesgo Biológico, personal de oficios varios, lavandería, laboratorio clínico, toxicología y de patología, personal en entrenamiento como médicos residentes, internos y estudiantes.

Características de las monogafas:

- Poseer Ventilación indirecta mediante rejillas laterales, lo que las hace antiempañantes.
- Permitir el uso de anteojos prescritos.
- Absorber los rayos ultravioleta.
- Tener lentes resistentes al impacto.

Mantenimiento:

- Lavar los protectores oculares con agua y jabón de tocador.
- Utilizar un pañuelo facial para secador; no emplear otro tipo de tela o material abrasivo, tampoco frotarlas con las manos.

- Evitar dejar caer las monogafas o colocarlas con los lentes hacia abajo porque se pueden rayar fácilmente.
- En lo posible deben ser guardadas en el estuche respectivo.
- Almacenarla en un lugar seguro y en óptimas condiciones de aseo.
- No utilice soluciones cáusticas para su lavado o desgerminación.
- No esterilice las monogafas en autoclave.

PROTECCIÓN BUCONASAL Y FACIAL.

Mascarilla

Usuarios:

Todo el personal expuesto a factores de riesgo biológico.

Características de la mascarilla:

- Es un elemento de protección personal y desechable por turno.
- Protege desde el puente nasal hasta el inicio del cuello; especial para cubrir la barba.
- Debe mantenerse alejada de líquidos inflamables y ácidos porque el roce con estas sustancias o la humedad, puede deteriorar la mascarilla.

La mascarilla específica para manejo de paciente con diagnóstico de TB debe tener las siguientes características:

- Filtro tipo Referencia 1860
- Resistente a los fluidos.
- Para usarse en concentraciones que no superen la concentración de 10X

PROTECCIÓN DE CUERPO Y EXTREMIDADES SUPERIORES:

Delantales

Usuarios:

Cirujanos, Personal médico, de enfermería e instrumentadoras quirúrgicos que realicen procedimientos invasivos con de riesgo de contacto con líquidos corporales. Igualmente los odontólogos, personal de laboratorio clínico, toxicología, lavandería y oficios varios. Las características del delantal varían según el oficio a realizar.

Características del delantal:

- Película flexible a base de cloruro de polivinilo o material similar para el delantal quirúrgico. Para oficios varios y lavandería se utiliza un delantal industrial en el mismo material pero de un calibre más resistente.
- Es de bajo peso.
- Por su impermeabilidad, puede ser usado por debajo de la ropa quirúrgica, para evitar el contacto del cuerpo con fluidos corporales.
- No es desechable.

Mantenimiento:

- Envíelo a la lavandería en bolsa roja.
- En el proceso de desinfección, utilice solución de hipoclorito de sodio, luego lávelo con abundante agua para evitar que el hipoclorito residual debilite el material.
- Seque el delantal al medio ambiente, evitando que presente quiebres.
- Dóblelo con cuidado y envíelo a los servicios en el menor tiempo posible.

Guantes

Deben ser estos desechables.

ESTERILIZACIÓN

Proceso mediante el cual se eliminan todas las formas de vida de los microorganismos de un objeto o de una sustancia para evitar su reproducción.

ASEPSIA: Libre de microorganismos.

MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN

Comprende todos los procedimientos físicos, mecánicos y preferentemente químicos, que se emplean para destruir gérmenes patógenos. A través de esta, los materiales quirúrgicos y la piel del enfermo alcanzan un estado de desinfección que evita la contaminación operatoria. Hay varias formas de esterilizar como²¹:

MÉTODOS QUÍMICOS

Estos métodos provocan la pérdida de viabilidad de los microorganismos.

Hipoclorito de Sodio: Es el más utilizado por su fácil adquisición y por su efectividad en la desinfección. Vida media 20 minutos.

Oxido de etileno: Destruye todos los microorganismos incluso virus.

Aldehídos: Son agentes alquilantes que actúan sobre las proteínas. Estos compuestos destruyen las esporas.

²¹ www.monografias.com. Manual Básico de Laboratorio Clínico.

Glutaraldehído: Este método tiene la ventaja de ser rápido y ser el único esterilizante efectivo frío.

Formaldehído: Las pastillas de formalina a temperatura ambiente esterilizan en 36 horas.

Gas-plasma de Peróxido de Hidrógeno: Es proceso de esterilización a baja temperatura la cual consta en la transmisión de peróxido de hidrógeno en fase plasma.

Alcohol: Esteriliza superficies, pero se evapora fácilmente.

MÉTODOS FÍSICOS

Calor: La utilización de este método y su eficacia depende de dos factores: el tiempo de exposición y la temperatura. Todos los microorganismos son susceptibles, en distinto grado, a la acción del calor. El calor provoca desnaturalización de proteínas, fusión y desorganización de las membranas y/o procesos oxidantes irreversibles en los microorganismos.

Calor Húmedo: El calor húmedo produce desnaturalización y coagulación de proteínas.

Autoclave: Se realiza la esterilización por el vapor de agua a presión. El modelo más usado es el de Chamberland. Esteriliza a 121° C, 15Lb de presión, por 20 minutos.

Calor seco: El calor seco produce desecación de la célula, es esto tóxico por niveles elevados de electrolitos, fusión de membranas.

Estufa: Doble cámara, el aire caliente generado por una resistencia, circula por la cavidad principal y por el espacio entre ambas cámaras, a

temperatura de 170° C para el instrumental metálico y a 140° C para el contenido de los tambores.

Radiaciones: Su acción depende de:

- El tipo de radiación
- El tiempo de exposición
- La dosis

Rayos Ultravioletas: Afectan a las moléculas de DNA de los microorganismos. Son escasamente penetrantes y se utilizan para superficies, se utilizan para la esterilización en quirófanos. Rayos Gamma: Su empleo esta basado en los conocimientos sobre la energía atómica. Filtración: Se usan membranas filtrantes con poros de un tamaño determinado. El tamaño del poro dependerá del uso al que se va a someter la muestra.

NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA

- Mantener el lugar de trabajo en óptimas condiciones de higiene y aseo
- No es permitido fumar en el sitio de trabajo.
- Deberán ser utilizadas las cocinetas designadas por el hospital para la preparación y el consumo de alimentos, no es permitido la preparación y consumo de alimentos en las áreas asistenciales y administrativas.
- No guardar alimentos en las neveras ni en los equipos de refrigeración de sustancias contaminantes o químicos.
- Las condiciones de temperatura, iluminación y ventilación de los sitios de trabajo deben ser confortables.

- Maneje todo paciente como potencialmente infectado. Las normas universales deben aplicarse con todos los pacientes independientemente del diagnóstico, por lo que se hace innecesario la clasificación específica de sangre y otros líquidos corporales como “infectada o no infectada”.
- Lávese cuidadosamente las manos antes y después de cada procedimiento e igualmente si se tiene contacto con material patógeno.
- Utilice en forma sistemática guantes plásticos o de látex en procedimientos que conlleven manipulación de elementos biológicos y cuando maneje instrumental o equipo contaminado en la atención de pacientes. Hacer lavado previo antes de quitárselos y al terminar el procedimiento.
- Utilice un par de guantes crudos por paciente.
- Absténgase de tocar con las manos enguantadas alguna parte de su cuerpo y de manipular objetos diferentes a los requeridos durante el procedimiento.
- Emplee mascarilla y protectores oculares durante procedimientos que puedan generar salpicaduras o gotitas aerosoles de sangre u otros líquidos corporales.
- Use delantal plástico en aquellos procedimientos en que se esperen salpicaduras, aerosoles o derrames importantes de sangre u otros líquidos orgánicos.
- Evite deambular con los elementos de protección personal fuera de su área de trabajo.
- Mantenga sus elementos de protección personal en óptimas condiciones de aseo, en un lugar seguro y de fácil acceso.
- Utilice equipos de reanimación mecánica, para evitar el procedimiento boca.
- Evite la atención directa de pacientes si usted presenta lesiones exudativas o dermatitis serosas, hasta tanto éstas hayan desaparecido.

- Si presenta alguna herida, por pequeña que sea, cúbrala con esparadrapo o curitas.
- Mantenga actualizado su esquema de vacunación contra Hepatitis B.
- Las mujeres embarazadas que trabajan en ambientes hospitalarios expuestas a factor de Riesgo Biológico de transmisión parenteral deberán ser muy estrictas en el cumplimiento de las precauciones universales y, cuando el caso lo amerite, se deben reubicar en áreas de menor riesgo.
- Aplique en todo procedimiento asistencial las normas de asepsia necesarias.

Utilice las técnicas correctas en la realización de todo procedimiento.

- Maneje con estricta precaución los elementos cortopunzantes y deséchelos en los guardianes ubicados en cada servicio. Los guardianes deberán estar firmemente sujetos de tal manera que pueda desechar las agujas halando la jeringa para que caigan entre el recipiente, sin necesidad de utilizar para nada la otra mano.
- Cuando no sea posible la recomendación anterior, evite desenfundar manualmente la aguja de la jeringa. Deseche completo.
- No cambie elementos cortopunzantes de un recipiente a otro.
- Absténgase de doblar o partir manualmente la hoja de bisturí, cuchillas, agujas o cualquier otro material cortopunzante.
- Evite reutilizar el material contaminado como agujas, jeringas y hojas de bisturí.
- Todo equipo que requiera reparación técnica debe ser llevado a mantenimiento, previa desinfección y limpieza por parte del personal encargado del mismo. El personal del área de

mantenimiento debe cumplir las normas universales de prevención y control del factor de riesgo Biológico.

- Realice desinfección y limpieza a las superficies, elementos, equipos de trabajo, al final de cada procedimiento y al finalizar la jornada de acuerdo a el proceso descrito en el manual de limpieza y desinfección.
- En caso de derrame o contaminación accidental de sangre u otros líquidos corporales sobre superficies de trabajo. Cubra con papel u otro material absorbente; luego vierta hipoclorito de sodio a 5000 partes por millón sobre el mismo y sobre la superficie circundante, dejando actuar durante 30 minutos; después limpie nuevamente la superficie con desinfectante a la misma concentración y realice limpieza con agua y jabón. El personal encargado de realizar dicho procedimiento debe utilizar guantes, mascarilla y bata.
- En caso de ruptura del material de vidrio contaminado con sangre u otro líquido corporal los vidrios se deben recoger con escoba y recogedor; nunca con las manos.
- Los recipientes para transporte de muestras debe ser de material irrompible y cierre hermético. Debe tener preferiblemente el tapón de rosca.
- Manipule, transporte y envíe las muestras disponiéndolas en recipientes seguros, con tapa y debidamente rotuladas, empleando gradillas limpias para su transporte. Las gradillas a su vez se transportarán en recipientes herméticos de plástico o acrílicos que detengan fugas o derrames accidentales. Además deben ser fácilmente lavables.
- En caso de contaminación externa accidental del recipiente, éste debe lavarse con hipoclorito de sodio a 1000 partes por millón y secarse.
- En las áreas de alto riesgo biológico el lavamos debe permitir accionamiento con el pié, la rodilla o el codo.

- Restrinja el ingreso a las áreas de alto riesgo biológico al personal no autorizado, al que no utilice los elementos de protección personal necesarios y a los niños.
- La ropa contaminada con sangre, líquidos corporales u otro material orgánico debe ser enviado a la lavandería en bolsa plástica roja.
- Disponga el material patógeno en las bolsas de color rojo, rotulándolas con el símbolo de riesgo biológico.
- En caso de accidente de trabajo con material cortopunzante haga el auto reporte inmediato del presunto accidente de trabajo.
- Los trabajadores sometidos a tratamiento con inmunosupresores no deben trabajar en áreas de alto riesgo biológico.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

ABSTINENCIA._ Acción de abstenerse. Virtud que consiste en privarse total o parcialmente en satisfacer los apetitos.

ACIDIFICAR._ Dar propiedades ácidas a cuerpos que no la tienen.

ADICCIÓN._ Hábito de quienes se dejan dominar por el uso de una o algunas drogas.

ALCALOIDE._ Cada una de las bases nitrogenadas, parecidas a los álcalis, que se encuentran en las plantas; muchas de estas son usadas en terapéutica.

ANÁLISIS._ Examen, descomposición. Distinción y separación de las partes de un todo hasta llegar a conocer sus principios elementales.

BIOSEGURIDAD._ Métodos estandarizados de protección y cuidado en el manejo de especímenes biológicos.

BIOTRANSFORMACIÓN._ Procesos de síntesis y cambios de características específicas que ocurren en los seres vivos.

CÁUSTICOS._ Conjunto de sustancias que tienen la propiedad de quemar y desorganizar los tejidos animales.

CRIBADO._ Limpiar las semillas por medio de la criba, de polvo tierra neguilla y demás impurezas.

CROMATOGRAFÍA._ Es una técnica que sirve para la identificación de sustancias tóxicas en contenidos biológicos.

DROGAS._ Sustancias o preparados medicamentosos de efecto estimulante, depresivo, narcótico, o alucinógeno.

DROGADICTO._ Dícese de la persona habituada a las drogas.

ELUYENTE._ Disolvente. Sustancia que permite la dilución de otra sustancia.

ESTUPEFACIENTES._ Sustancias narcóticas que hacen perder o amortiguan la sensibilidad como la morfina, la marihuana.

EXTRACTO._ Sustancia espesa que resulta de evaporar hasta lograr determinada consistencia.

EXTRACCIÓN._ Acción y efecto de extraer, purificar algún tipo de sustancia.

FUMAR._ Aspirar y despedir el humo del tabaco, opio, marihuana, etc.

HIDRÓLISIS._ Desdoblamiento de la molécula de ciertos compuestos orgánicos, por exceso de agua, ya por la presencia de la corta cantidad de fermento o ácido.

HILARIDAD._ Expresión tranquila y plácida del gozo y satisfacción del ánimo.

INMUNOENSAYOS._ Procedimiento de análisis del sistema inmunitario.

IRRITABILIDAD._ Acción de irritar. Excitar vivamente otros afectos.

MARIHUANA._ Nombre del cáñamo indico, cuyas hojas fumadas como el tabaco, producen terrible efecto narcótico.

METABOLITOS._ Resultado del metabolismo, producto del cambio de materia y energía entre el organismo vivo y el medio exterior, en virtud de dos procesos, uno de asimilación y otro de desintegración, ambos simultáneos pero de muy diversa actividad según las fases de la vida.

NEUROTOXICIDAD._ Daño a nivel cerebral por la administración de algún toxico en dosis altas.

PROSTITUCIÓN._ Actividad de mantener relaciones sexuales a cambio de obtener bienes o dinero.

RESINA._ Sustancia sólida o de consistencia pastosa insoluble en agua, soluble en alcohol y en aceites esenciales, y capaz de arder en contacto con el aire.

REVELADORES._ Son aquellas sustancias físicas o químicas que hacen visible un resultado.

Rf._ Factor de retención, el cual se obtiene con la división entre la distancia recorrida de la muestra para la distancia recorrida del sistema de solventes.

SILICAGEL._ Es una placa que sirve para la realización de la cromatografía en capa fina.

TAMIZAJE._ Es un método de purificación que consiste en pasar una sustancia por el tamiz eliminando las impurezas presentes.

THC._ Es un metabolito producto del consumo de marihuana que aparece en la orina.

XENOBIÓTICO._ Sustancia tóxica externa que causa alteraciones en el ser vivo.

2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1.HIPÓTESIS

Existe un elevado consumo de *Cannabis sativa* en las trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo

2.4.2.VARIABLES

2.4.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Consumo de *Cannabis sativa* por parte de las trabajadoras sexuales

2.4.2.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Metabolito de *Cannabis sativa* en orina

2.4.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADOR	TÉCNICAS E INSTRUMENTO
VARIABLE INDEPENDIENTE Consumo de <i>Cannabis sativa</i>	Nombre del cáñamo cuyas hojas fumadas producen un efecto narcótico	Efecto narcótico	Marihuana Alucinógeno Sensaciones paranoides Insomnio Ansiedad	Observación Guía de observación
VARIABLE DEPENDIENTE Metabolitos en Orina	Productos del metabolismo desechados por la orina	Producto del metabolismo	9- Carboxi-THC	Observación

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. MÉTODO

Método deductivo, inductivo; de lo general a lo particular, pues se inicia de la toma de muestra a realizar el análisis para determinar si existe o no la presencia metabolitos de Cannabis sativa en orina de la población a investigar.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Descriptiva explicativa

3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Investigación de Campo

3.4. TIPO DE ESTUDIO

Transversal

3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

58 pacientes; trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Chimborazo.

3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.6.1. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Se realizó una entrevista al Jefe del Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo, Licenciado Paul Velázquez.

¿Qué días se ha destinado para la atención a las trabajadoras sexuales en esta casa de salud?

Los días que se ha destinado por parte de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo para brindar atención en lo que se refiere al control profiláctico de las trabajadoras sexuales son los días Jueves y Viernes de cada semana.

¿Qué tipo de análisis se realiza a las trabajadoras sexuales que asisten a recibir atención en esta casa de salud?

Como les mencionaba anteriormente lo que se realiza es un control profiláctico que consiste en análisis de sangre y secreción vaginal.

¿Cuál es el promedio de trabajadoras sexuales que asisten a realizarse este control profiláctico?

Se podría hablar que tenemos tanto jueves como viernes un promedio de 6 a 12 mujeres trabajadoras sexuales por día.

¿Con que frecuencia se ha destinado la concurrencia de las trabajadoras sexuales a esta casa asistencial?

La frecuencia depende del tipo de análisis que vamos a realizar, en el caso de análisis de secreción vaginal están citadas asistir una vez por mes, mientras tanto para realizar exámenes serológicos, como HIV, VDRL, se les llama una vez cada tres meses.

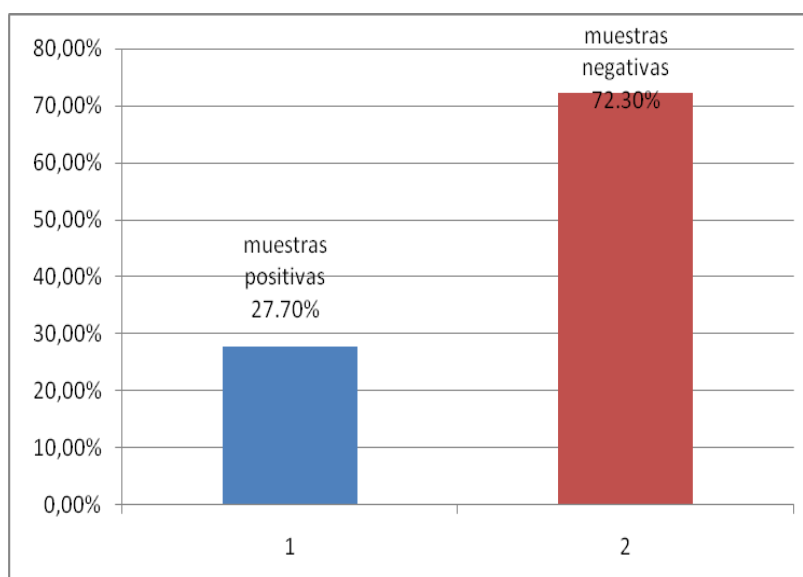
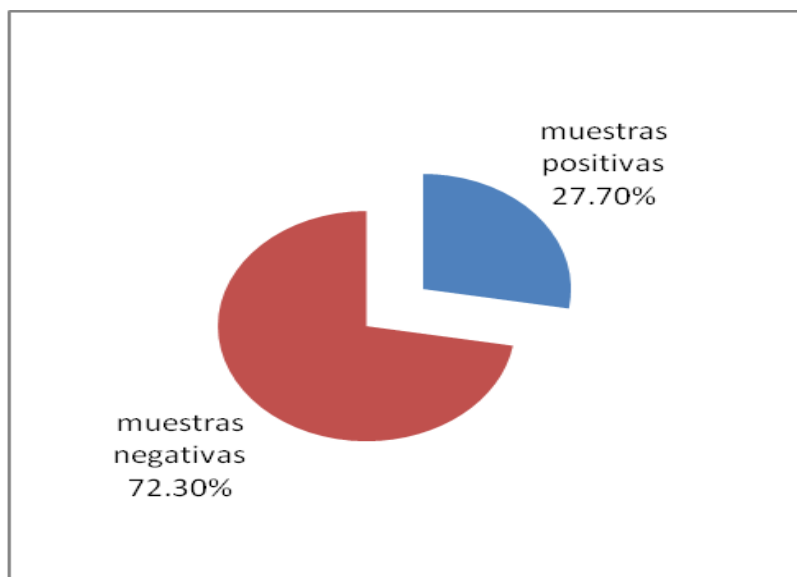
¿Alguna vez se ha realizado en este laboratorio algún tipo de análisis que guarde relación con el consumo de drogas por parte de las trabajadoras sexuales?

No, ninguno.

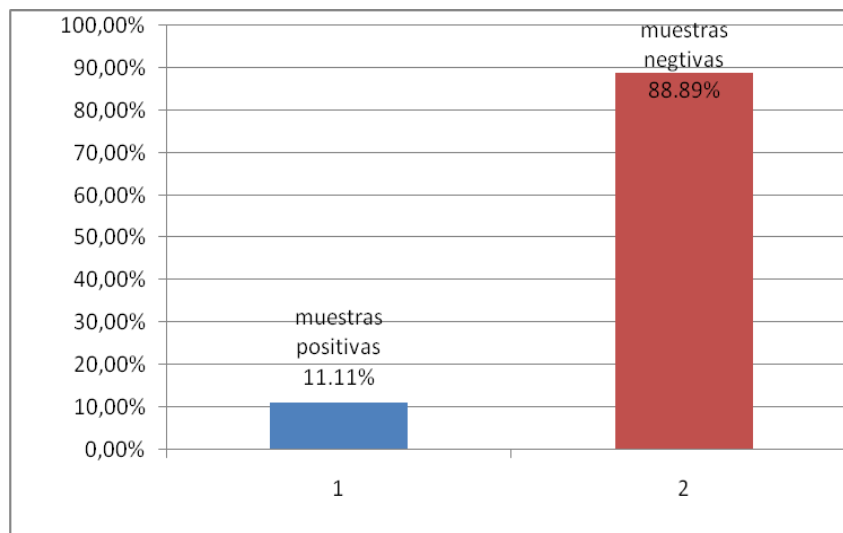
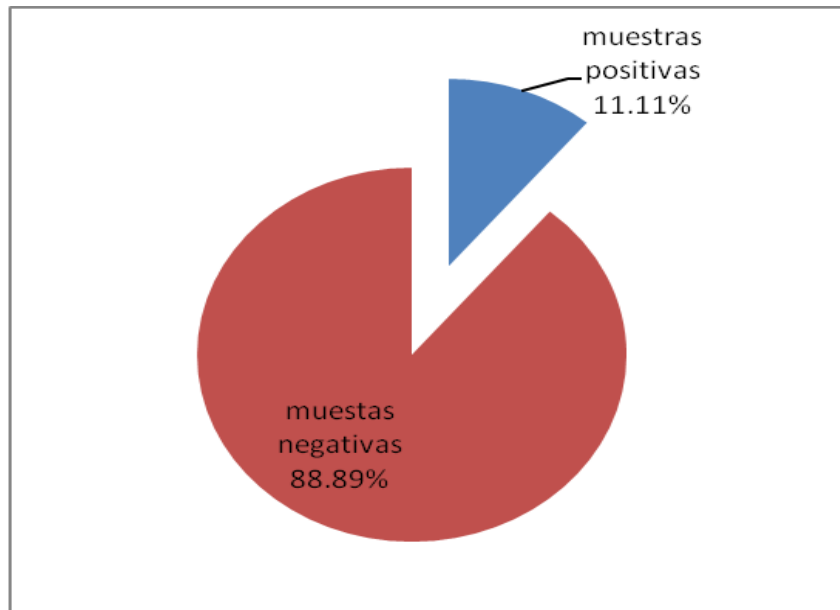
3.7. DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DEL ANÁLISIS.

Se colocaron cuatro muestras en cada placa de Silicagel las mismas que fueron introducidas en el sistema de solventes en lotes de seis es decir un total de 18 muestras.

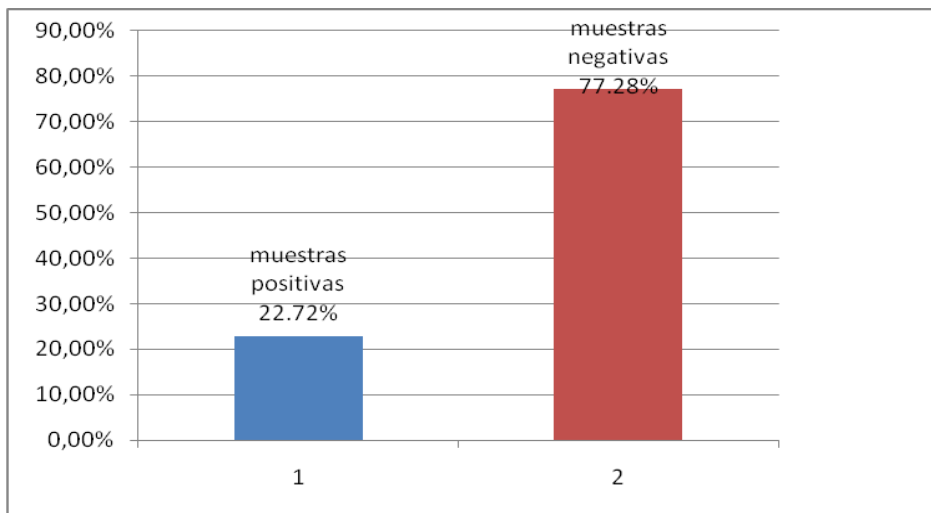
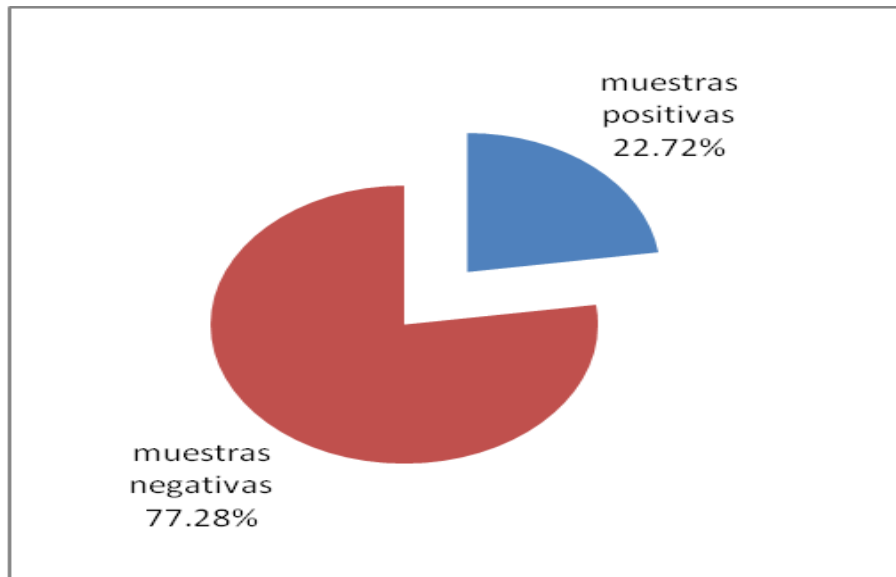
Muestras 1 – 18



Muestras de la 19 – 36



Muestras de la 37 – 58



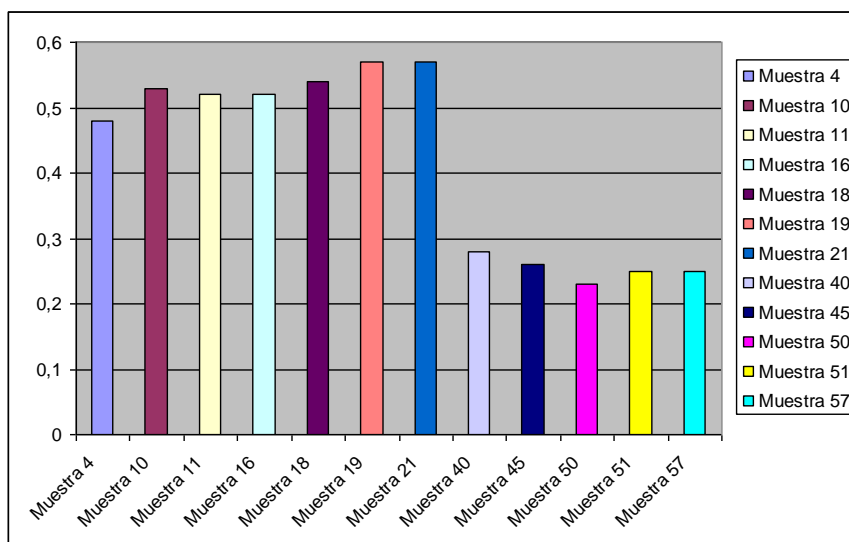
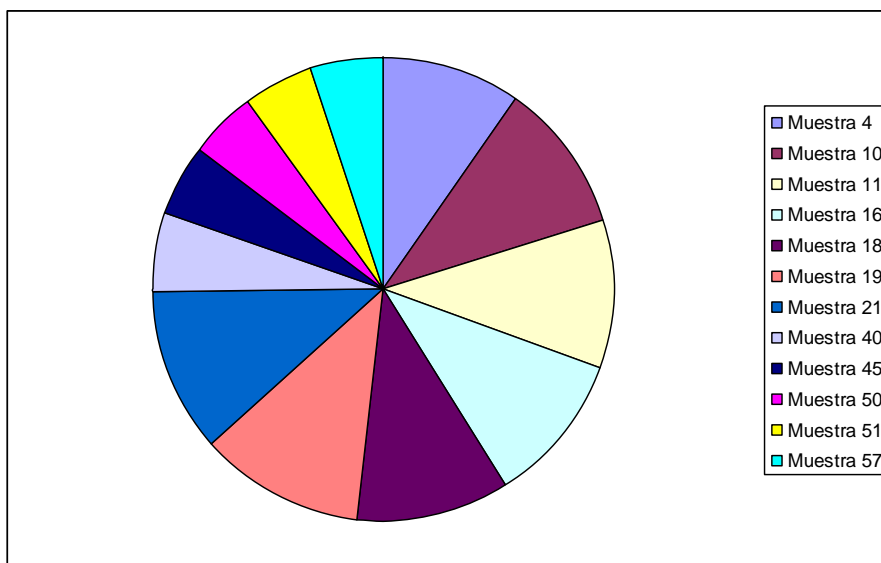
DATOS ESTADISTICOS DE Rf

Sistema de solventes A: Muestras 1 hasta 36

Éter de petróleo 40ml; éter etílico: 10ml = 50 ml

Sistema de solventes B: Muestras 37 hasta 58

Hexano 37.5 ml; Tolueno 12.5 ml; Dietilamina 2.5 ml = 52.5 ml



3.8. COMPROBACIÓN DE LA HIPÒTESIS

Una vez desarrollada la investigación en su totalidad, se realizó la respectiva tabulación de datos y se conoció que el índice de consumo de *Cannabis sativa* por parte de las trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo, es del **20.7 %** con lo cual se confirmó la hipótesis planteada acerca de un alto consumo de Cannabis por parte de la población sometida a estudio.

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Se determinó la existencia del principal metabolito de *Cannabis sativa* en las muestras sometidas al análisis.

Al realizar la prueba cualitativa de cromatografía en capa fina se confirmó la presencia del 9- carboxi THC en la orina de la población estudiada.

Se conoció que la incidencia de consumo de *Cannabis sativa* en las trabajadoras sexuales que se atienden en el Laboratorio Clínico de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo es del 20.7 %, con lo cual se cumplió exitosamente con los objetivos trazados al inicio de la misma.

4.2. RECOMENDACIONES

Verificar que el material y equipos para realizar la prueba cualitativa de Cromatografía en capa fina se encuentren en perfectas condiciones, examinando que los reactivos no estén caducados por lo cual es recomendable que estos sean preparados minutos antes del análisis, pues la estabilidad de los mismos no es amplia.

Manejar con mucho cuidado los reactivos ya que algunos son de aspecto cancerígeno como la Sal de Azul sólido B, acetaldehído, cloroformo, los cuales son muy peligrosos para nuestra salud.

Recolectar las muestras en recipientes adecuados para evitar su alteración y almacenarlas en óptimas condiciones como refrigeración (2 a 8 °C) y congelación (-4 °C), con el fin de evitar su descomposición.

Procesar las muestras de acuerdo al tiempo determinado para la realización de la técnica de cromatografía en capa fina, verificando que el estándar 9-Carboxi-THC se encuentre en óptimas condiciones, en lo que se refiere a su concentración y estabilidad para tener una buena referencia del metabolito en estudio.

Realizar los ensayos preferiblemente en tubos de vidrio, ya que si lo hacemos en tubos de plástico, estos pueden alterar el resultado, especialmente en las pruebas de coloración.

Aplicar estrictamente las normas de bioseguridad en el Laboratorio de Toxicología con el fin de evitar accidentes como intoxicaciones, quemaduras por la constante manipulación de sustancias altamente tóxicas para el ser humano.

BIBLIOGRAFÍA

- 1._ BOBES Garcia Julio, Monografía *Cannabis*. 2003
- 2._ COVE, Manual de normas y procedimientos de bioseguridad. 2000
- 3._ CRISANTA Alonso, Básquez Amparo, Guia de técnicas de análisis de estupefacientes, Santafé de Bogotá. 1996
- 4._ KLAASSEN, Curtis, WATKINS, John, Manual de Toxicología, Editorial McGraw-Hill Interamericana, 5ta edición. 2001
- 5._ MEDINA, Ofélia, CRISANTA, Alonso, Manual de técnicas de estupefacientes. Santafe de Bogotá. 1994
- 6._ NACIONES UNIDAS, Manual para uso de los laboratórios nacionales de estupefacientes, Nueva York 2da edición. 1988
- 7._ NACIONES UNIDAS, Métodos recomendados para la detección de Cannabinoides, Nueva York. 1995
- 8._ VARGAS Alvarado Eduardo, Medicina legal. 2002
- 9._ VILLANUEVA Cañadas, Toxicología general. 2005
- 10._ www.elcomercio.com.ec
- 11._ www.emagister.com
- 12._ www.monografias.com, Manual básico de laboratorio clínico

13- www.monografias.com , Salinas Nelson, dependência a la marihuana

14. [www. Wikipédia.com](http://www.Wikipédia.com)

ANEXOS

EDIFICIO DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA P.J DE CHIMBORAZO



DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA



**LABORATORIO DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE LA POLICIA
JUDICIAL DE CHIMBORAZO**



EDIFICIO DE LA DIRECCIÓN PROVINCIAL DE SALUD DE CHIMBORAZO



**PARTE POSTERIOR DEL EDIFICIO DE LA DIRECCIÓN DE SALUD DE
CHIMBORAZO**



**LABORATORIO CLINICO DE LA DIRECCION PROVINCIAL DE SALUD DE
CHIMBORAZO**



**AREA DEL LABORATORIO CLINICO DE LA DIRECCION PROVINCIAL DE SALUD
DE CHIMBORAZO EN DONDE SE REALIZA LA PROFILAXIS A LAS
TRABAJADORAS SEXUALES.**



SALA DE TOMA DE MUESTRAS PARA PROFILAXIS



**INTERIOR DEL LABORATORIO CLINICO DE LA DIRECCION PROVINCIAL DE
SALUD DE CHIMBORAZO**

