

# **MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS TOXICOLÓGICOS PARA LABORATORIOS DE BAJA COMPLEJIDAD**

**Basado en:**

**Basic Analytical Toxicology**

**R.J. Flanagan; R.A. Braithwaite; S.S. Brown; B. Widdop and F.A. de Wolff**

**UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME  
INTERNATIONAL LABOUR ORGANISATION  
WORLD HEALTH ORGANIZATION**

**INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY  
Geneva, 1995**

**TRADUCCIÓN Y ADAPTACIÓN**

**Realizada por:**

**Gabriela Fiorenza Biancucci**

**Diana González**

**Adriana Pérez**

**Adriana Ridolfi**

**Analía Strobl**

**ARGENTINA, 2007**

	<b>ÍNDICE</b>	<b>Página</b>
<b>Introducción</b>		7
<b>Objetivos</b>		8
<b>CAPÍTULO 1</b>		9
Equipamiento y Reactivos		9
Seguridad en el laboratorio		9
<b>CAPÍTULO 2</b>		10
Aspectos clínicos		10
Diagnóstico de la intoxicación aguda		10
<b>CAPÍTULO 3</b>		12
Fase pre-analítica		12
Fase analítica		15
Fase post-analítica		15
<b>CAPÍTULO 4</b>		16
Introducción		16
Análisis de orina, sangre, contenido estomacal y residuos de la escena		16
Examen físico de las muestras		17
Pruebas cromáticas de screening		17
Reacciones cromáticas		18
Descripción de las reacciones cromáticas		19
Benedict		19
Bouchardat		19
Diazotación		19
Dicromato de potasio		19
Difenilamina		20
Ditionito		20
Dragendorff		20
Folin–Ciocalteu		20
Formaldehído-sulfúrico		20
Forrest		20
FPN		20
Fujiwara		20
Iodo platínico		21
Koppanyi–Zwicker		21
Liebermann		21
Mandelin		21
Marquis		21
Nessler		21
Ninhidrina		22
O-cresol		22
p-Dimetilaminobenzaldehído		22
Parry-Koppanyi		22
Permanganato de potasio		22
Simon		22
Tricloruro férrico		22
Trinder		23
Valser-Mayer		23
Zwicker		23
Ensayos inmunológicos (Screening en orina)		23
Microdifusión		24
Extracción y aislamiento		24
Extracción con Solvente		25
Extracción (L-L) en medio ácido y alcalino		25
En ampollas de decantación		25
Columnas de extracción líquido con soporte inerte		26
Extracción en fase sólida (SPE)		26
Soxhlet		27
Identificaciones		28

Espectrofotometría UV	28
Cromatografía en placa delgada	28
Adsorbente	29
Soportes	29
Solventes	29
Saturación de la cuba	30
Fase móvil	30
Etapas del procedimiento	30
Siembra	30
Desarrollo	31
Preparativa	32
Revelado	32
Evaluación	33
Reveladores	33
Reactivos de color	33
Reactivos particulares específicos	34
Reveladores de sustancias extraíbles en medio alcalino-neutro	34
Reveladores de sustancias extraíbles en medio ácido	35
Cromatografía secuencial para plaguicidas	35
<b>CAPÍTULO 5 - Monografías</b>	36
Acido salicílico y derivados	37
Acido fórmico y formiatos	42
Aminofenazonas	44
Anfetaminas	46
Anilina	48
Antidepresivos tricíclicos	50
Antimonio	53
Arsénico	55
Atenolol	58
Atropina	59
Barbitúricos	61
Bario	64
Benzodiazepinas	66
Bismuto	69
Bisulfuro de carbono	70
Boratos	71
Bromatos	73
Bromuros	75
Bromuro de metilo	76
Cafeína	78
Cannabis	79
Carbamatos	83
Carbamazepina	84
Cianuro	86
Cloratos	90
Cloroformo	91
Clorofenoxi Herbicidas	92
Cobre	93
Cocaína	95
Codeína	98
Cumarínicos	100
Dextropropoxifeno	102
Diquat	104
Efedrina	105
Estricnina	107
Etanol	109
Fenacetina	112
Fenitoína	114
Fenol	116

Formaldehído	117
Fósforo y Fosfuros	118
Hidrato de Cloral	119
Hidroxibenzonitrilo Herbicidas	120
Hierro	121
Hipocloritos	123
Iodatos	125
Iodo, Ioduros	126
Isoniazida	127
Lidocaína	128
Meprobamato	131
Mercurio	132
Metacualona	134
Metadona	135
Metanol	137
Monóxido de Carbono	141
Morfina	145
Nicotina	147
Nitratos	149
Nitritos	150
Nitrobenceno	152
Oxalatos	153
Paracetamol	154
Paraquat	158
Pentaclorofenol	159
Plaguicidas Organoclorados	160
Plaguicidas Organofosforados	161
Propranolol	164
Tetracloruro de Carbono	165
Tetracloroetileno	166
Tiocianatos	167
Tolueno	168
1,1,1-Tricloroetano	170
Tricloroetileno	171
<b>ANEXO 1- Reactivos</b>	173
<b>ANEXO 2- Guía de Toma de Muestra, Conservación y Transporte para Análisis Toxicológicos</b>	179
<b>ANEXO 3- Registro de análisis</b>	183
<b>Bibliografía</b>	184

## **Autores que contribuyeron**

Gabriela Fiorenza Biancucci

Bioquímica Especialista en Toxicología y Química Legal.

Docente Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral.

Docente de la Escuela de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional del Litoral.

Perito Bioq del grupo Técnico Criminalístico de la Policía de la Provincia.

Provincia de Santa Fe.

Diana González

Doctora en Bioquímica. Especialista en Toxicología Legal y Forense.

Profesora de Toxicología y Química Legal, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis.

Provincia de San Luis.

Adriana Pérez

Bioquímica, Profesora de Toxicología y Química Legal, Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia, San Juan Bosco.

Bioq. de la sección de Toxicología del Laboratorio Central del Hospital Regional de Comodoro Rivadavia.

Provincia de Chubut.

Adriana Ridolfi

Bioquímica Especialista en Toxicología Legal y Forense.

Profesora de Toxicología y Química Legal, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Analía Strobl

Bioquímica. Docente de Toxicología y Química Legal, Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia, San Juan Bosco.

Perito del Gabinete de Policía Federal, Comodoro Rivadavia.

Provincia de Chubut.

## **Agradecimientos**

**Las autoras del Manual de Procedimientos Analíticos Toxicológicos para laboratorios de baja complejidad desean agradecer:**

**A la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud por apoyar económicamente e institucionalmente este Manual.**

**Al Ministerio de Salud de la Nación Argentina, por incentivar esta iniciativa y colaborar significativamente para hacer posible nuestro trabajo.**

**A la Dra. Susana I. García, responsable del Programa Nacional de Prevención y Control de las Intoxicaciones, Ministerio de Salud de la Nación, por confiar desde el comienzo en nuestra capacidad y voluntad de trabajo y coordinar eficientemente las actividades que permitieron la culminación de este Manual, uniendo recursos humanos de provincias geográficamente distantes pero con un claro objetivo común.**

**A la Dra. Edda Villaamil, Profesora titular de Toxicología y Química Legal-Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad de Buenos Aires, por la inestimable labor de revisión y corrección de la versión final del Manual y por los valiosos aporte realizados.**

**A todos los colegas-amigos, de la Asociación Toxicológica Argentina (ATA) y de la Red Argentina de Toxicología (REDARTOX) por enriquecer con su experiencia, energía y conocimiento en forma interdisciplinaria a la Toxicología, contribuyendo a mejorar la calidad de vida de nuestras comunidades.**

## INTRODUCCIÓN

Durante muchos años, la Toxicología, fue la ciencia de los tóxicos e intoxicaciones, considerada como una rama de la ciencia forense y la criminología. Según Repetto, (1995) la Toxicología figura como ciencia independiente con el código 3214, dentro del grupo 32 de la Ciencias Médicas en el catálogo de Nomenclatura Internacional para los campos de la Ciencia y la Tecnología de la UNESCO. Hoy en día, está claro que el estudio de aplicación de la toxicología tiene tres áreas fundamentales: descriptiva, analítica, experimental; con sus distintas ramas: clínica, forense, ambiental, ecotoxicología, laboral, regulatoria, alimentaria, inmunotoxicología, toxicogenética.

La Toxicología Clínica incluye la prevención, diagnóstico y el manejo de las intoxicaciones. Los servicios de toxicología analítica proveen soportes para esta área de la Toxicología. Esta información emanada de la Toxicología analítica es variada y depende de la complejidad de los laboratorios.

En muchos países en vías de desarrollo tales servicios no están disponibles, ya que no cuentan con un equipo de salud completo. Es por eso, que algunos laboratorios de análisis clínicos han desarrollado perfiles mínimos para ayudar a la urgencia toxicológica.

En la actualidad, los laboratorios de toxicología forman parte de organismos privados o públicos: hospitales, universidades, centros de salud regionales, etc. En ocasiones, se encuentran a grandes distancias del lugar del suceso toxicológico para dar una respuesta a la urgencia por lo que existe la necesidad de establecer laboratorios de baja complejidad que puedan colaborar en la resolución del problema toxicológico, mediante métodos analíticas simples que no necesitan de equipamientos complejos y de alto costo. Tales pruebas podrían realizarse en laboratorios básicos que están habilitados en la mayoría de los hospitales. Este manual no hace referencia a procedimientos complejos como cromatografía gas-líquido (GC), cromatografía líquida de alta performance o resolución (HPLC), espectrofotometría de absorción atómica, espectrometría de masas, etc.

Entrenando al personal del laboratorio se podrían llevar a cabo estos procedimientos y proporcionar un servicio de análisis toxicológicos.

Los ensayos descritos en este Manual pueden ser aplicables a la investigación de sustancias tóxicas en forma de polvos, tabletas, líquidos y otros elementos encontrados en la escena o cerca del intoxicado, incluidos sus propios fluidos biológicos.

## OBJETIVOS

A lo largo de los años los docentes de Toxicología hemos apelado a recomendar a nuestros alumnos y colegas de laboratorios, diferente bibliografía, muy valiosa, pero que tratan solo algunos aspectos de la analítica toxicológica dirigidos a resolver problemáticas que involucran en forma particular a plaguicidas, o drogas de abuso, o específicamente intoxicaciones medicamentosas o aquellas relacionadas a problemas ambientales, abordando únicamente el tratamiento y determinación de compuestos tóxicos volátiles, productos de combustión y/o partículas, polvos, humos y vapores, u otras problemáticas particulares. Generalmente esta bibliografía implica instrumental de alta innovación tecnológica, insumos caros y de difícil acceso en nuestro país, ya que están dirigidos a laboratorios y establecimientos de países desarrollados que cuentan con los presupuestos adecuados. Si bien se trata de bibliografía muy recomendable, además de las dificultades antes señaladas, nos encontramos con ediciones que no están en idioma español, lo cual dificulta su practicidad.

El objetivo de este "MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS TOXICOLÓGICOS PARA LABORATORIOS DE BAJA COMPLEJIDAD" es poner a disposición de los profesionales bioquímicos que desarrollan su actividad en laboratorios de análisis de muestras biológicas, un conjunto de técnicas simples, sencillas y en general económicas, que puedan llevarse a cabo en laboratorios de rutina, para identificar y cuantificar aquellos compuestos que están mas frecuentemente relacionados a episodios de intoxicaciones agudas contribuyendo a dilucidar resultados de una manera rápida, ágil y accesible. Pretendemos contribuir a resolver las dificultades en el acceso al análisis toxicológico, con fines diagnósticos, como así también minimizar los problemas relacionados al déficit de equipamiento, falta de acceso rápido a la información y escasez de recursos humanos capacitados en Toxicología analítica, todo ello identificado como un problema y una necesidad por la Dirección de Promoción y Protección de la Salud.

Desde la creación de la Red Argentina de Toxicología, en el marco de los objetivos claramente establecidos por la conducción del Programa de Prevención y Control de las Intoxicaciones del Ministerio de Salud de la Nación y con logros de significación en beneficio de la comunidad, sus integrantes hemos trabajado en forma armónica y solidaria en nuestra capacitación y actualización permanente, intercambiando información y experiencias las cuales han sido volcadas, con vocación de servicio, en el presente manual enriqueciéndolo con la realidad cotidiana del trabajo en nuestros laboratorios. Pensamos que este aporte colaborará con la optimización de las unidades asistenciales de Toxicología Clínica (Centros de Información, Asesoramiento y Asistencia Toxicológica-CIAAT's, Laboratorios de Análisis Clínicos Toxicológicos-LACT's y otros) de Argentina y países hermanos.

Este humilde aporte nuestro a la Toxicología lo realizamos con el sentimiento de que no hay revelación que pueda producirse fuera de la propia acción, y en todo caso la imperfección del producto es también fruto de sabiduría nueva, incitando a seguir participando y trabajando por el bien de la comunidad.



# **CAPÍTULO 1**

## **EQUIPAMIENTO BÁSICO PARA EL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA DE BAJA COMPLEJIDAD**

### **1.1 EQUIPAMIENTO Y REACTIVOS**

#### **Equipamiento básico para el laboratorio de toxicología**

- ❖ Aparato de Gutzeit modificado
- ❖ Balanza
- ❖ Baño de agua eléctrico
- ❖ Cámara para microdifusión de Conway
- ❖ Campana con extractor
- ❖ Cápsulas de porcelana
- ❖ Centrífugas
- ❖ Cubas para cromatografía
- ❖ Destilador de agua
- ❖ Equipamiento adecuado de material de vidrio y volumétrico
- ❖ Espectrofotómetro Ultravioleta –visible
- ❖ Atomizador para aplicar reveladores de cromatografías
- ❖ Lámpara ultravioleta (254nm y 366nm)
- ❖ Microscopio óptico
- ❖ Pehachímetro
- ❖ Pipetas automáticas y semiautomáticas de diferentes volúmenes
- ❖ Placas cromatográficas: cromatofolios, cromatoplasmas
- ❖ Placas de toque
- ❖ Plancha calefactora
- ❖ Heladera para estándares
- ❖ Heladera para muestras
- ❖ Freezer
- ❖ Tubo de Gas nitrógeno
- ❖ Vórtex-mezclador u otra forma de agitador mecánico

### **1.2 REACTIVOS Y COMPUESTOS**

Una lista de reactivos y compuestos necesarios en un laboratorio básico de toxicología analítica se describen en el ANEXO 1.

### **1.3 SEGURIDAD EN EL LABORATORIO**

La manipulación segura con productos químicos presupone el conocimiento profundo de las propiedades del material y de los posibles peligros que emanan de él.

Este conocimiento ayuda a evitar errores y accidentes. Por ello uno debe informarse antes de cada técnica a desarrollar. Debe tenerse presente, que pueden producirse reacciones peligrosas inesperadas.

Los productos químicos están previstos exclusivamente para el trabajo en el laboratorio. Se presupone que las personas que los manejan conocen, debido a su formación profesional y experiencia, las medidas de seguridad necesarias en el manejo de productos químicos, sobre todo del material peligroso. Si se tienen en cuenta las indicaciones en las etiquetas sobre los riesgos y los consejos de manipuleo, se pueden disminuir considerablemente los riesgos para la salud.

#### **Recomendación general**

Cuando se trate de una sustancia cuyas propiedades toxicológicas se desconozcan, la misma ha de ser manipulada con los cuidados usuales para productos químicos peligrosos.

## CAPÍTULO 2

### ASPECTOS CLÍNICOS DE LA TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

#### 2.1 Aspectos Clínicos

Para un correcto estudio de toda situación, el profesional bioquímico debería tener en cuenta no sólo las acciones de los tóxicos sino la cinética en el organismo es decir: absorción, distribución, metabolismo y excreción. El conocimiento de todos estos aspectos es necesario para la discusión del caso con el profesional médico actuante y la factibilidad de la realización del análisis y su interpretación en el momento de generar un resultado.

#### 2.2 Diagnóstico de la intoxicación aguda

Ante el ingreso de un paciente en un servicio de toxicología, urgencia o guardia, el médico confecciona la historia clínica que incluye, en esta primera parte, anamnesis, examen físico, y la elaboración de un diagnóstico presuntivo. Si el paciente está en coma deberá averiguar en que circunstancias fue encontrado, si existen medicamentos u otros elementos en el lugar de la escena, recurriendo a familiares cercanos o personas que hayan estado en el lugar del hecho o hayan encontrado al paciente. Si el paciente está consciente se debe investigar si en la casa o en lugar de trabajo existen sustancias tóxicas. El pasado del paciente, su historia clínica, incluyendo las prescripciones médicas o cualquier enfermedad de base, ocupación, hábitos de vida, hobbies, pueden ser importantes para presumir exposición a un tóxico específico. **Una buena anamnesis ayuda al laboratorio para orientar la búsqueda analítica de la sustancia involucrada o de sus metabolitos.**

El examen físico del paciente puede orientar a presumir la presencia de un tóxico o a la clase de sustancias tóxicas involucradas. Los signos y síntomas asociados con algunos tóxicos se encuentran en la TABLA 2.1. Por ejemplo, la combinación de pupilas mióticas, hipersalivación, incontinencia y depresión respiratoria hace pensar en una intoxicación con un inhibidor de la colinesterasa como por ejemplo plaguicidas organofosforados. Sin embargo, el valor de este acercamiento es limitado si fueron ingeridos varios tóxicos con diferentes acciones. Es más, muchas drogas tienen efectos similares en el organismo, mientras que a veces la sintomatología puede ser el resultado de efectos secundarios como por ejemplo la anoxia. Así, si un paciente ingresa con depresión respiratoria y pupilas mióticas, esto hace pensar en intoxicación con opiáceos como dextropropoxifeno o morfina.

También deben considerarse otro tipo de diagnósticos como por ejemplo, el coma como causa de un accidente cerebro-vascular o diabetes no controlada además de la intoxicación. Disponer de los resultados de los análisis bioquímicos en el laboratorio de urgencia es importante en estas circunstancias. Finalmente, están las intoxicaciones con ciertos compuestos que producen en el paciente síntomas tardíos, por ejemplo: hepatitis (tetracloruro de carbono, paracetamol), diabetes (hipoglucemiantes, etanol en los chicos), parestesias (talio), neumonitis progresiva (paraquat), falla renal (etilenglicol), paro cardiorrespiratorio (cianuros).

**TABLA 2.1 Intoxicación Aguda: rasgos clínicos asociados con tóxicos específicos**

<b>SÍNTOMA O SIGNO</b>	<b>TÓXICO</b>
<b>SISTEMA NERVIOSO CENTRAL</b>	
Ataxia	Bromuros, carbamazepina, etanol, hipnóticos, sedativos, fenitoína, talio.
Coma	Alcoholes, hipnóticos, sedantes opioides, tranquilizantes, muchos otros compuestos.
Convulsiones	Antidepresivos tricíclicos, estricnina, orfenadrina, teofilina.
<b>APARATO RESPIRATORIO</b>	
Depresión respiratoria	Alcohol, hipnóticos, sedantes opioides, tranquilizantes
Edema pulmonar	Acido acetilsalicílico, herbicidas clorofenoxi, paraquat, gases irritantes, opioides, solventes orgánicos.
Hipernea	Ácido Acetilsalicílico, etilenglicol, metanol, herbicidas hidroxibenzonitrilos, isoniazida, pentaclorofenol
<b>CORAZÓN Y CIRCULACIÓN</b>	
Taquicardia	Anticolinérgicos, simpaticomiméticos
Bradycardia	Colinérgicos, $\beta$ -bloqueantes, digoxina, opioides
Hipertensión	Anticolinérgicos, simpaticomiméticos, etanol
Hipotensión	Hipnóticos, opioides, sedantes, tranquilizantes
Arritmias	$\beta$ -Bloqueantes, cloroquina, cianuro, digoxina, fenotiazinas, quinidina, teofilina, antidepresivos tricíclicos
<b>OJOS</b>	
Miosis	Inhibidores de la colinesterasa (plaguicidas organofosforados y carbamatos), opioides, fenotiazinas, fenciclidina
Midriasis	Anfetamina, atropina, cocaína, antidepresivos tricíclicos
Nistagmus	Carbamazepina, etanol, fenitoína
<b>TEMPERATURA CORPORAL</b>	
Hipertermia	Acido acetilsalicílico, plaguicida dinitrofenol, herbicidas hidroxibenzonitrilos, procaïn amida, pentaclorofenol, quinidina
Hipotermia	Monóxido de carbono, sedantes opioides, fenotiazinas, antidepresivos tricíclicos, etanol, hipnóticos
<b>PIEL, PELOS Y UÑAS</b>	
Acné	Bromuros, plaguicidas organoclorados
Pérdida de pelo	Talio
<b>APARATO DIGESTIVO</b>	
Hipersalivación	Inhibidores de la colinesterasa, estricnina, atropina
Sequedad de mucosas	Opioides, fenotiazinas, antidepresivos tricíclicos
Constipación	Opioides, talio, plomo
Diarrea	Inhibidores de la colinesterasa, ácido acetilsalicílico, laxantes, arsénico
Hemorragia digestiva	Ácidos/bases fuertes, compuestos cáusticos, cumarinas

# CAPÍTULO 3

## EL ROL DEL LABORATORIO EN LA TOXICOLOGÍA CLÍNICA

La mayoría de los pacientes intoxicados pueden tratarse exitosamente con la contribución de un laboratorio de Toxicología de baja complejidad, especialmente en aquellas intoxicaciones en que se necesita antídotos.

Los pasos a seguir en un análisis toxicológico son:

### 3.1 FASE PRE-ANALÍTICA

#### 3.1.1 Historia Clínica del paciente

Incluye cualquier evidencia circunstancial del tóxico, resultados bioquímicos y complementarios y si es posible, tomar las muestras apropiadas y decidir la urgencia del análisis. Un buen diálogo entre el médico y el bioquímico es de vital importancia para que los análisis toxicológicos sean de utilidad.

#### 3.1.2 Toma de muestra

En toxicología la muestra es considerada única en tiempo y espacio por lo tanto una buena comunicación debe comenzar desde la decisión de la toma de la muestra.

Las muestras para el análisis toxicológico deben ser claramente rotuladas, con el nombre del paciente, el día, la hora de recolección y la naturaleza de la muestra (ejemplo: suero, plasma, lavado gástrico, orina, etc.)

Para la recolección se incluye en el Anexo 2 la resolución del Ministerio de Salud de Argentina, N° 650/2002: "Guía de Toma de Muestra, Conservación y Transporte para Análisis Toxicológicos, Anexo 3"

#### 3.1.3 Ficha del Laboratorio

Se adjunta en el Anexo 3 la ficha creada por los LACT's (dentro del marco de la RELABTOX (Argentina, diciembre 2004)

El plasma o suero se reserva normalmente para ensayos cuantitativos, pero en casos particulares de algunos tóxicos, como el monóxido del carbono, alcoholes (etanol y metanol) y cianuro, se utiliza sangre entera para diagnosticar y continuar con la evolución del paciente en una intoxicación aguda. La muestra debe tratarse con cuidado para evitar la hemólisis ya que puede interferir en ciertas determinaciones (hierro, potasio, colinesterasa eritrocitaria, etc.) Las muestras en las que se investigarán sustancias volátiles se deben evitar las cámaras de aire por lo cual se recomienda llenar completamente el recipiente que las contenga.

La orina es una muestra fácil de obtener en volúmenes grandes y normalmente contiene los productos finales o intermedios del metabolismo de los tóxicos. En caso de intoxicaciones agudas podemos encontrar, inclusive, al tóxico como tal. La muestra debe obtenerse lo más cercano posible a la sospecha de la intoxicación, y lo ideal es antes de comenzar un tratamiento. Sin embargo, drogas como los antidepresivos tricíclicos (amitriptilina, imipramina) causan retención urinaria, por lo tanto una recolección temprana de la muestra puede contener concentraciones insignificantes del tóxico.

Otras muestras que el laboratorio puede recibir son: vómito, aspirado gástrico, lavados estomacales y residuos que quedan en la escena. Es importante obtener la primera muestra de los lavados, ya que las posteriores pueden estar muy diluidas lo que dificulta la investigación del tóxico. Un volumen de por lo menos 20 ml se requiere para llevar a cabo una amplia gama de pruebas y ningún conservante debe ser agregado. Ésta puede ser una muestra heterogénea y los procedimientos adicionales como homogeneización, seguido por filtración y/o centrifugación pueden ser necesarios para obtener una muestra óptima a fin de realizar el análisis. De todos modos es una de las mejores muestras para efectuar ciertas pruebas. Si se obtiene la muestra rápidamente, a diferencia de la orina, después de la ingestión de gran cantidad de tóxico, éste puede estar presente tal cual mientras que los metabolitos estarán ausentes.

Una orientación inmediata de ciertos compuestos puede obtenerse por el olor (por ejemplo el arsénico posee olor aliáceo) o por simple inspección de las tabletas o cápsulas en el material sin digerir.

En el caso de los residuos de la escena es importante que todas las botellas u otros recipientes y materiales sospechosos encontrados cerca del paciente sean rescatados y conservados para el análisis ya que ellos pueden estar relacionados con el episodio de intoxicación. Siempre existe la posibilidad que el contenido original de los envases se haya desechado y/o reemplazado por material inocuo o con ingredientes más nocivos como ácidos, blanqueadores o plaguicidas. Unos pocos miligramos de residuos de la escena serán normalmente suficientes para realizar los análisis, considerando que tendremos el analito concentrado.

### **3.1.4 Determinaciones Bioquímicas Clínicas**

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

#### **3.1.4.1 Glucosa en sangre**

La concentración de glucosa en sangre puede verse afectada en cuadros de intoxicación. La marcada hipoglucemia puede deberse a la sobredosis con insulina, sulfonilureas, tolbutamida u otras drogas hipoglucemiantes. La hipoglucemia también puede aparecer en numerosas intoxicaciones tales como las que ocurren con sales de hierro, ciertos hongos, ingestión de ácido acetilsalicílico, etanol (sobre todo en los niños o en adultos en ayunas) y paracetamol en caso de pacientes con fallas hepáticas.

La hiperglucemia es una complicación menos común que la hipoglucemia en las intoxicaciones, pero ha sido descrita después de una sobredosis del ácido acetilsalicílico, salbutamol y teofilina.

#### **3.1.4.2 Estado ácido base**

El coma se puede deber a la sobredosis con hipnóticos, sedantes, neurolépticos o drogas opiodes. Está caracterizado a menudo por hipoxia y acidosis respiratoria. A menos que no se instaure un tratamiento apropiado, éste podría complicarse con una acidosis metabólica. En contraste, una sobredosis con salicilatos como ácido acetilsalicílico causa inicialmente hiperventilación y alcalosis respiratoria que puede progresar a la acidosis metabólica mixta y la característica hipocalemia de la intoxicación severa. La hipocalemia y la acidosis metabólica también son rasgos característicos de la sobredosis de teofilina y salbutamol. La hipocalemia ocurre en la intoxicación aguda de bario o sobredosis aguda severa con digoxina.

Las sustancias tóxicas o sus metabolitos inhiben pasos importantes en el metabolismo intermedio pudiendo provocar acidosis metabólica por la acumulación de ácidos orgánicos, generalmente ácido láctico. En intoxicaciones severas de esta naturaleza, la corrección de la acidosis metabólica debe ser rápida.

#### **3.1.4.3 Anión GAP**

Es normalmente calculado como la diferencia entre la concentración de sodio y la suma de las concentraciones de cloruro y de bicarbonato. Aproximadamente es  $12 \pm 4$  mEq/l.

$$\text{Anión Gap} = [\text{Na}^+] - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-])$$

Este valor varía poco en una acidosis metabólica no tóxica. Sin embargo, en una acidosis metabólica resultante de una intoxicación severa con monóxido de carbono, cianuro, etilenglicol, metanol, fluoracetato, paraldehído o ácido acetilsalicílico, el anión gap aumenta.

#### **3.1.4.4 Osmolaridad del plasma**

La osmolaridad normal del plasma (280-295 mOsm/kg) es debida a la concentración de sodio, urea y glucosa. Valores elevados ( $>310$  mOsm/kg) pueden ocurrir en condiciones patológicas con elevada proteinemia o deshidratación severa donde la proporción efectiva de agua en el

plasma está reducida. Sin embargo, aumentos grandes en la osmolaridad del plasma pueden deberse a la absorción osmolarmente activa de grandes cantidades de tóxicos (sobre todo el metanol, etanol o isopropanol). El etilenglicol, acetona y algunas otras sustancias orgánicas con una masa molecular relativa baja son también osmóticamente activas proporcionalmente a su concentración molar.

Aunque la medida de osmolaridad del plasma puede dar una información útil, la interpretación puede ser difícil.

#### **3.1.4.5 Enzimas plasmáticas**

El shock, coma, y convulsiones están a menudo asociados con incrementos no específicos en el plasma o suero de las actividades enzimáticas de la lactato deshidrogenasa (LDH), aspartato amino transferasa (GOT/ASAT), alanina amino transferasa (GPT/ALAT) normalmente medidas para diagnosticar daño en distintos órganos. El incremento de la actividad se observa en un periodo de días con un retorno en forma lenta a los valores normales. En estos casos se puede demorar algunas semanas hasta que los valores retornen a los normales.

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

La actividad plasmática de las aminotransferasas puede tener valores más altos en pacientes con terapia crónica con drogas como el ácido valproico, y pueden causar hepatotoxicidad en algunos pacientes. El abuso del etanol está usualmente asociado al incremento en plasma de la actividad de la gamma-glutamyltransferasa. ( $\gamma$ GT).

En la intoxicación grave, especialmente en periodos prolongados de coma, convulsiones o shock, puede existir una lesión clínica o subclínica originando una rabdomiólisis y coagulación intravascular diseminada. Esto también se observa como resultado del abuso crónico parenteral de drogas psicotrópicas. La rabdomiólisis se caracteriza por un aumento de la actividad sérica de la aldolasa y la creatinquinasa (CPK) con mioglobinuria. Este cuadro podría ser producido también por la estricnina.

#### **3.1.4.6 Actividad de las Colinesterasas**

La toxicidad sistémica de los plaguicidas carbamatos y organofosforados se debe a la inhibición de la acetilcolinesterasa en la sinapsis nerviosa y a la colinesterasa plasmática o pseudocolinesterasa.

La inhibición de las colinesterasas va a depender de las rutas de absorción y del tipo de exposición: aguda, subaguda o crónica. Asimismo del tipo de plaguicidas que causó la intoxicación carbamatos u organofosforados. En la práctica, la colinesterasa del plasma (butirilcolina) es un buen indicador de la exposición a compuestos organofosforados o carbamatos, y una actividad normal de la colinesterasa plasmática excluye la intoxicación aguda por estos compuestos. Aunque una actividad baja puede ser debida a otra causa fisiológica, farmacológica o genética. VER PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS.

#### **3.1.4.7 Transaminasas (GPT-ALT-ALAT, GOT-AST-ASAT)**

Las transaminasas son enzimas que se pueden determinar en suero. En el hepatocito, la GPT es una enzima citoplasmática, mientras que la GOT es bilocular (se encuentra tanto en el citoplasma como en las mitocondrias). Aumentos patológicos de las transaminasas séricas, pueden ocurrir en caso de infarto de miocardio, ictericia parenquimatosa o por hepatitis aguda. A su vez es común encontrar una mayor elevación de la GOT en relación a la GPT en caso de una hepatitis alcohólica aguda.

#### **3.1.4.8 Gammaglutamil-transpeptidasa o transferasa ( $\gamma$ GT)**

Esta enzima aumenta su actividad en enfermos hepatobiliares, tanto en las hepatitis víricas agudas como en la hepatitis alcohólica dando valores muy altos, incluso en el hígado graso. Es una enzima indicadora de citólisis como de colestasis. En el primer caso va acompañando el

aumento de las transaminasas. A diferencia de la hepatopatía alcohólica, las intoxicaciones con medicamentos (anticonvulsivantes, halotano, etc.) no elevan la  $\gamma$ GT, excepto algunos como difenilhidantoína, fenobarbital, y es debido a la inducción enzimática. Tampoco se ve aumentada en hepatopatías crónicas, pero en el alcoholismo crónico, aún sin lesión hepática aparente, aumenta la  $\gamma$ GT.

#### **3.1.4.9 Creatin fosfoquinasa (CPK)**

Esta enzima posee tres isoenzimas: una cerebral y dos musculares. Su actividad se ve incrementada en miopatías congénitas, infarto de miocardio, ACV (accidente cerebro vascular) y también puede aumentar en el alcoholismo agudo, especialmente si aparece delirium tremens.

#### **3.1.4.10 Coagulación y hemostasia**

El tiempo de protrombina (TP) elevado es el primer valor que se altera e indica daño hepático, por ejemplo en la intoxicación con paracetamol.

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

Las coagulopatías pueden ocurrir como un efecto adverso de la terapia antibiótica.

#### **3.1.4.11 Hemograma**

##### **3.1.4.11.1 Volumen eritrocitario (hematocrito)**

Una sobredosis aguda o subaguda-crónica con sales de hierro, ácido acetilsalicílico, indometacina y otros antiinflamatorios no esteroideos, pueden causar hemorragia digestiva llevando a la anemia. La anemia puede producirse como resultado de la exposición crónica a sustancias que interfieren en la síntesis del hem, tal como el plomo o inducir hemólisis en forma directa como la arsina o indirectamente debido a la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa como en casos de intoxicación con cloroquina, primaquina, cloramfenicol, nitridasole y nitrofurantoína.

##### **3.1.4.11.2 Recuento leucocitario**

La leucocitosis puede ocurrir en la intoxicación aguda, por ejemplo, como respuesta a la acidosis metabólica en la ingestión de etilenglicol, metanol, o neumonía como efecto secundario a un coma prolongado.

### **3.2 FASE –ANALÍTICA**

Se desarrolla en el capítulo 4

### **3.3 FASE POST-ANALÍTICA**

Evaluación de los resultados y posterior informe final.

Muchas veces hay que realizar análisis adicionales, cuando es necesario, en las muestras originales o en nuevas muestras del paciente.

# **CAPÍTULO 4**

## **FASE ANALÍTICA**

### **4.1 INTRODUCCIÓN**

Los tóxicos que se pueden investigar incluyen diversos analitos y sus metabolitos. Se podrían citar: gases, drogas, solventes, plaguicidas, sales metálicas, líquidos corrosivos (ácidos, álcalis), toxinas naturales, entre otros. En ocasiones, es posible orientarse a determinado analito, basados en la historia clínica.

Pueden realizarse ensayos simples utilizando los procedimientos descritos en las monografías. Sin embargo, ante la ausencia de manifestaciones clínicas u otra clara evidencia del tóxico involucrado el analista realizará una serie de procedimientos denominados de screening.

Por otro lado, es aconsejable realizar pruebas de rutina considerando que la evidencia circunstancial del tóxico puede ser engañosa. Un resultado positivo no debe descartar la presencia de otros compuestos no sospechados.

A continuación se describirán la secuencia de análisis que permitirá identificar grupos de tóxicos en muestras de orina, sangre, contenido estomacal, y residuos de la escena (comprimidos o soluciones sospechosas encontradas cerca del paciente), usando un mínimo de equipamiento y reactivos. Muchos de los compuestos hallados incluyen aquellos que producen intoxicaciones con manifestaciones no específicas como el coma o las convulsiones, y que no se manifiestan en el examen clínico exclusivamente.

### **4.2 ANÁLISIS DE ORINA, SANGRE, CONTENIDO ESTOMACAL Y RESIDUOS DE LA ESCENA**

Existen determinaciones cuyos resultados pueden estar disponibles dentro de las 2-3 horas de recibida la muestra y éstos pueden modificar el tratamiento clínico inmediato. Es importante recalcar que no siempre un resultado positivo confirma la intoxicación, por ejemplo, la medicación recibida por el paciente en la urgencia podría ser la responsable de falsos positivos.

En algunos casos, la presencia de más de un tóxico puede complicar el análisis, y a veces se requiere más de un examen en diferentes muestras del paciente. Es importante discutir el alcance y las limitaciones de las pruebas que se realizaron con el médico interviniente y mantener estándares de calidad para todos los métodos del laboratorio. En cada evento debe tenerse una planilla de trabajo para registrar los resultados según el ANEXO 3.

#### **Esquema de trabajo:**

**4.2.1- Examen físico de la muestra: color, olor**

**4.2.2- Pruebas cromáticas de screening**

**4.2.3- Ensayos inmunológicos (screening en orina)**

**4.2.4- Microdifusión.**

**4.2.5- Aislamiento y extracción del analito**

**4.2.6- Identificación del/los analitos**



## 4.2.1 EXÁMEN FÍSICO DE LAS MUESTRAS

### Orina

Las elevadas concentraciones de algunas drogas o metabolitos pueden impartir colores característicos a la orina. Tabla 4.1

**TABLA 4.1: Sustancias que pueden colorear la orina**

COLOR	POSIBLE CAUSA
Incoloro	Ingesta hídrica elevada
Marrón o negro	Nitrobenceno, fenoles
Amarillo o Anaranjado	Fluoresceína, fenolftaleína, nitrofurantoína
Rojo vino	Fenotiazinas, fenitoína, fenolftaleína, quinina, warfarina, hematuria, anilinas
Azul o verde	Indometacina, fenol, amitriptilina, hierro, cobre
Negro	metronidazol, metil o levodopa

### Contenido estomacal y residuos de la escena

Algunos colores característicos en el contenido estomacal están asociados a sustancias particulares como se señaló en la tabla 4.1 para orina.. Muchos otros compuestos (por ejemplo, salicilato de metilo, paraldehído) presentan olores característicos. Tabla 4.2

El pH muy bajo o muy alto puede indicar la ingestión de ácidos o álcalis respectivamente.

Los gránulos de almidón usados como relleno en algunos comprimidos y cápsula se identifican mejor por microscopia.

En el caso que hayan sido ingeridos cápsulas, tabletas o plantas éstas deben examinarse separadamente.

**Tabla 4.2: Olores característicos asociados con tóxicos particulares**

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

## 4.2.2 PRUEBAS CROMÁTICAS DE SCREENING

Algunas drogas y otros tóxicos si se encuentran en concentraciones altas y en ausencia de compuestos que interfieran dan colores característicos con reactivos apropiados. Algunos de estos ensayos son prácticos y específicos. Hay otros compuestos que, al presentar grupos funcionales similares pueden también reaccionar y dar interferencia con los tóxicos y/o sus metabolitos.

La descripción del color suele ser muy subjetiva ya que las personas con visión normal suelen ver los colores producidos con distinta intensidad. Muchos de estos ensayos suelen ser realizados satisfactoriamente en tubos de vidrio limpios, cápsulas de porcelana o placas de toque y tiras reactivas. Estas últimas permiten minimizar los volúmenes de reactivos y muestra necesaria.

Cuando se realizan los ensayos de color **es importante** analizar conjuntamente con la muestra un blanco de reactivo y un testigo positivo. Si la muestra es orina, el blanco y testigo se preparan sobre la misma matriz.

Las pruebas cualitativas descriptas están basadas en simples reacciones de color y cubren un número importante de drogas y otros tóxicos. Estas técnicas son rápidas, económicas y sencillas. Se llevan a cabo en placa de toque o tubos con sangre u orina y son particularmente aptas para el ámbito de una guardia aunque su sensibilidad y especificidad no sea muchas veces las adecuadas como es el caso de los métodos de referencia. Estas pruebas están descriptas en las monografías respectivas, junto con detalles de fuentes comunes de interferencias y límites de detección. Otras pruebas, como el ensayo de Reinsch, para investigación de antimonio, arsénico, bismuto y mercurio, no son discutidas aquí, pero se dan los detalles en las monografías y anexos respectivos.

## REACCIONES CROMÁTICAS

### a) De acuerdo a las características del extracto:

#### Fuertemente ácido

- Tricloruro férrico
- Folin–Ciocalteu
- Liebermann
- Nessler

#### Débilmente ácido

- Diazotación
- Tricloruro férrico
- Folin–Ciocalteu
- Koppanyi–Zwicker
- Liebermann
- Nessler

#### Neutro

- Koppanyi–Zwicker
- Liebermann
- Nessler

#### Básico

- p-Dimetilaminobenzaldehído
- Cloruro férrico
- Formaldehído-sulfúrico
- Forrest
- FPN
- Liebermann
- Mandelin
- Marquis
- Nessler

### b) De acuerdo al grupo funcional:

Grupo funcional	Ensayo o reacción
Salicilatos	Tricloruro férrico; Trinder
Fenotiazinas	Tricloruro férrico; Formaldehído-sulfúrico; FPN
Hidrocarburos halogenados	Fujiwara
Paraquat/diquat	Ditionito de sodio
Alcoholes	Dicromato de potasio
Imipramina y similares	Forrest
Bases nitrogenadas y alcaloides	Dragendorff
Paracetamol; Fenacetina	o-cresol-amoníaco
Amidas (alifáticas)	Nessler

Anfetaminas	Ninhidrina
Metanfetamina	Simon
Antidepresivos	Marquis
Barbitúricos	Koppanyi–Zwicker; Zwicker
Benzodiacepinas	Formaldehído-sulfúrico
Cannabis	Duquenois
Carbamatos (no aromáticos)	Furfuraldehído
Cocaína	Tiocianato de Co; <i>p</i> -Dimetilaminobenzaldeído; Mandelin; Scott
Ditiocarbamatos	Nitroprusiato de sodio
Imidas	Koppanyi–Zwicker
Cetonas	Nitroprusiato de sodio
Anillos piridínicos monosustituídos	Bromuro de cianógeno
Nitratos y nitritos	Sulfato ferroso
Alcaloides	Dragendorff; Bouchardat; Valser- Mayer
Agentes oxidantes	Difenilamina
Fenoles	<i>p</i> -Dimetilaminobenzaldehído; Tricloruro férrico; Folin–Ciocalteu
Aminas aromáticas 1 <sup>arias</sup>	Diazotación
Aminas aromáticas 1 <sup>arias</sup> y 2 <sup>arias</sup>	Dragendorff; Simon
Aminas 3 <sup>arias</sup>	Dragendorff
Aminas 4 <sup>arias</sup>	Dragendorff
Agentes reductores	Benedict

## DESCRIPCIÓN DE LAS REACCIONES CROMÁTICAS

A continuación se describen algunas de las reacciones de color mencionadas anteriormente. La omisión de alguna sustancia no indica que no de respuesta en el ensayo. Es importante controlar cada reacción con un blanco de reacción y un positivo de la reacción.

La preparación de los reactivos mencionados se describe en el Anexo 1

### 4.2.2.1 Benedict

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** el color rojo se debe a la formación de óxido cuproso por la presencia de agentes reductores como el ácido ascórbico, ditionitos, y otros compuestos, por citar algunos.

### 4.2.2.2 Bouchardat

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** con sales de alcaloides da un precipitado castaño-pardo, fácilmente distinguible sobre fondo blanco.

### 4.2.2.3 Diazotación

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** un color rojo brillante o naranja indica la presencia de una amina aromática primaria. La difenilamina no da la reacción; aminonitrotiazol (sólido) da una coloración violeta.

### 4.2.2.4 Dicromato de potasio

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** un cambio en el color de naranja al verde indica la presencia de sustancias volátiles reductoras. Si un resultado positivo se obtiene en esta prueba se debe llevar a cabo un ensayo cuantitativo para etanol o metanol en sangre.

#### 4.2.2.5 Difenilamina

**Procedimiento:** Filtrar, si es necesario 5 ml de contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml. Agregar 0,5 ml del filtrado o del residuo de la escena en un tubo limpio y lentamente agregar 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de tal manera que se forme una capa por debajo de la muestra evitando que se mezclen ambos líquidos.

**Resultado:** un color azul en la interfase indica la presencia de agentes oxidantes como bromatos, cloratos, cromatos, dicromato, iodatos, plomo (IV), manganeso (III, IV, VII), nitrato, nitrito, permanganato o vanadato.

**Interferencias:** Un color azul ligero se observará en la mayoría de las muestras del contenido estomacal debido a la presencia de material orgánico. Como los agentes oxidantes fuertes son rápidamente reducidos en las muestras biológicas, la prueba debe realizarse lo más rápido posible después de recibida la muestra.

#### 4.2.2.6 Ditionito

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** azul fuerte indica presencia de paraquat; el diquat da un color amarillo-verdoso que es insignificante en presencia de paraquat. Si el color se pierde con la agitación continuada y es restaurado agregando el ditionito de sodio se confirma la presencia de paraquat o el diquat.

#### 4.2.2.7 Dragendorff

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

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

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

#### 4.2.2.8 Folin–Ciocalteu

**Reactivos:** Reactivo Folin- Ciocalteu y solución acuosa de hidróxido de sodio (2 mol/l).

**Procedimiento:** Diluir 1 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu con 2 ml de agua destilada y agregar 1 ml de orina. Agregar 1 ml de solución acuosa de hidróxido de sodio y mezclar en vortex por 5 segundos.

**Resultado:** una coloración azul indica la presencia de compuestos fenólicos. La reacción se inhibe en presencia de halógenos presentes en el núcleo fenólico.

#### 4.2.2.9 Formaldehído-sulfúrico

**Procedimiento:** mezclar la muestra con el reactivo y calentar a 100° C durante un minuto.

**Resultados:** las benzodiazepinas dan generalmente un color naranja, excepto con bromazepam y clozapina, que desarrollan un color amarillo y con flurazepam rosado. También desarrollan color las fenotiazinas, tetraciclinas y tioxantenos.

#### 4.2.2.10 Forrest

**Muestras:** orina o desproteinizado de sangre.

**Procedimiento:** a 0,5 ml de muestra agregar 1 ml del reactivo de Forrest y mezclar durante 5 segundos.

**Resultado:** amarillo-verde- verde oscuro –azulado: indica la presencia de imipramina o de los compuestos relacionados.

#### 4.2.2.11 FPN

**Procedimiento:** a 1 ml de orina agregar 1 ml del reactivo y mezclar durante 5 segundos.

**Resultado:** un cambio de coloración del rosa a rojo, naranja, violeta o azul, hace pensar en la presencia de fenotiazinas.

#### 4.2.2.12 Fujiwara

Reactivo de compuestos triclorados como el Hidrato de cloral, cloroformo, diclorofenazona y tricloroetileno

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a**: 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b**: 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c**: 1 ml de ácido tricloroacético diluido

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviente durante 2 minutos.

**Resultados:** color rojo o púrpura en la capa superior (de piridina) del tubo **a** y del tubo **c** indica la presencia de un compuesto que posee al menos dos átomos halógenos unidos a un átomo de carbono como el cloroformo, tetracloruro de carbono, hidrato de cloral, DDT, ácido tricloroacético e hidrocarburos policlorados. El tubo **b** no debe presentar coloración.

#### 4.2.2.13 Iodoplatínico

**Procedimiento:** Disolver la muestra en dos gotas de ácido clorhídrico 2M, agregar 2-3 ml del reactivo y diluir a 10 ml con agua.

**Resultados:** un precipitado azul-violeta, marrón-violeta o gris-violeta indica la presencia de un alcaloide. En presencia de aminas terciarias y cuaternarias se obtienen colores más claros. Las aminas de bajo peso molecular generalmente no reaccionan.

#### 4.2.2.14 Koppányi–Zwicker

**Procedimiento:** Disolver la muestra en 1 ml de etanol, agregar gota a gota del reactivo seguido por 10µl de pirrolidina y agitar.

**Resultados:** las sustancias que contienen estructura de imidas, en el cual el anillo contiene C=O y NH (por ejemplo barbitúricos) dan un color violeta. Las sulfonamidas y otros compuestos con anillo libre (por ejemplo furosemida, tiazidas) o con grupo en una cadena como la clopropamida o con grupo  $-SO_2NH_2$  (unido a un anillo bencénico u otro anillo) como el sulfometoxazol, dan un color rosado o rojo-violeta.

#### 4.2.2.15 Liebermann

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultados**

**a)** un color naranja lo producen sustancias que contienen un anillo bencénico monosustituído no unido a C=O, N-C(=O)- o un anillo que contiene el grupo C=N-O-.

**b)** un color naranja o marrón es dado por sustancias que contienen 2 anillos bencénicos monosustituídos.

**c)** una amplia gama de colores la dan compuestos que contienen grupos: -OH, O-alquil o -O-CH<sub>2</sub>O- unidos a un anillo bencénico o a un anillo policíclico que contiene un anillo bencénico.

#### 4.2.2.16 Mandelin

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** diferentes colores pueden observarse según la sustancia presente. Ver monografías.

#### 4.2.2.17 Marquis

**Procedimiento:** colocar una pequeña cantidad de la muestra (1 a 2 mg de polvo o una o dos gotas si se trata de un líquido) en una placa y agregar el reactivo de Marquis gota a gota y no más de tres gotas.

**Resultado:** una gama de colores permite identificar gran cantidad de compuestos. Estructuras que tienden a dar una coloración violácea en orden decreciente de respuesta: anillos sulfúricos (con o sin anillo aromático); anillos con oxígeno (con anillo aromático); compuestos aromáticos. Los colores específicos se señalan en las monografías de acuerdo a la sustancia o grupo de sustancias.

#### 4.2.2.18 Nessler

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:** Las tioamidas y amidas alifáticas producen colores marrón-naranja. La presencia de un anillo aromático disminuye la intensidad de la reacción. Un color negro es producido por sustancias que contienen grupos *orto* o *para* hidroxilo y sustancias que tienen un grupo -NH-

NH– o –NH–NH<sub>2</sub> y cadenas alifáticas. Algunos compuestos pueden ser calentados a 100°C y se observa un oscurecimiento.

#### 4.2.2.19 **Ninhidrina**

**Procedimiento:** colocar una pequeña cantidad de la muestra (1 a 2 mg de polvo o una o dos gotas si se trata de un líquido) en un papel de filtro y agregar una gota del reactivo. Calentar a 110°C sobre una plancha calefactora.

**Resultado:** la aparición de un color rosado-anaranjado indica la presencia de anfetaminas. No es un ensayo muy sensible.

#### 4.2.2.20 **o-cresol**

**Procedimiento:** A 0,5 ml de la muestra agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado calentar en baño de agua hirviendo por 10 minutos y enfriar. Agregar 1 ml de la solución de o-cresol a 0,2 ml del hidrolizado y 2 ml de solución de hidróxido de amonio, mezclar por 5 segundos.

**Resultado:** azul-oscuro indica la presencia de paracetamol o fenacetina. El p-aminofenol también da esta reacción.

#### 4.2.2.21 **p-Dimetilaminobenzaldehído**

**Procedimiento:** agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra y calentar en baño maría durante 3 minutos.

**Resultado:**

a) color violeta: lo provocan sustancias tales como alcaloides del ergot, dimetiltriptamina, psilocina, psicocibina.

b) color rojo que cambia a violeta si se diluye se observa en presencia de algunos cannabinoles o indoles en los cuales el anillo del indol no está unido a otro anillo.

c) color rojo o naranja, que cambia a violeta con la dilución en presencia de algunos fenoles y aminas fenólicas.

#### 4.2.2.22 **Parry-Koppanyi**

**Procedimiento:** Agregar la solución de nitrato cobaltoso a unas gotas del extracto en placa de toque. Agregar una gota de isopropilamina.

**Resultado:** los barbitúricos dan un compuesto rojo-violeta.

#### 4.2.2.23 **Permanganato de potasio**

**Procedimiento:** colocar en un tubo la muestra, disolverla con CIH al 1%, agregar gota a gota la solución de permanganato de potasio.

**Resultado:** color o precipitado castaño indica presencia de anestésicos locales y otros compuestos.

#### 4.2.2.24 **Simon**

**Procedimiento:** Colocar una pequeña cantidad de la muestra (1 a 2 mg de polvo o una o dos gotas si se trata de un líquido) sobre una placa de toque y agregar una gota de la solución 1 (nitroprusiato y acetaldehído). Agregar a continuación una gota de la solución 2 (solución de carbonato de sodio).

**Resultado:** un color azul indica aminas secundarias como por ejemplo metanfetamina que da un intenso color azul, efedrina, MDMA o bases de aminas heterocíclicas no sustituidas y otras aminas secundarias. Las aminas primarias como la anfetamina, MDA y otras aminas primarias producen un color rosado que cambia lentamente a rojo cereza. Este ensayo puede utilizarse para diferenciar la metanfetamina de la anfetamina. La presencia de algunos agentes reductores puede dar falsos negativos.

#### 4.2.2.25 **Tricloruro férrico**

**Procedimiento:** Agregar la solución de tricloruro férrico a la muestra o a una solución etanólica de la muestra.

**Resultado:** colores rojos, naranjas, verdes azules, violetas o marrones indican la presencia de compuestos fenólicos, ácidos grasos o fenilpirazolina. Algunas fenotiazinas dan positivo este ensayo. Los salicilatos dan color violeta. Algunos compuestos fenólicos no dan la reacción si

están en solución acuosa. La aspirina (ácido acetilsalicílico) **no** da la reacción, excepto que se hidrolice previamente en medio alcalino o ácido a salicilato.

#### 4.2.2.26 Trinder

**Procedimiento para orina:** a 2 ml de orina agregar 100 ul del reactivo de Trinder y mezclar durante 5 segundos.

**Procedimiento para otras muestras:** hidrolizar el contenido estomacal o los residuos de la escena por calentamiento con ácido clorhídrico 0,5 M en un baño de agua hirviendo por 2 minutos, neutralizar con hidróxido de sodio 0,5 M antes de realizar el ensayo.

**Resultado:** color violeta indica presencia de salicilato.

#### 4.2.2.27 Valsler-Mayer

**Procedimiento:** se realiza en tubo de ensayo o en placa de toque. Disolver el residuo en metanol y agregar cantidad suficiente del reactivo.

**Resultado:** los alcaloides dan positiva la reacción.

#### 4.2.2.28 Zwikker

**Procedimiento:** se realiza en tubo de ensayo. Disolver el residuo en metanol, agregar una solución acuosa de sulfato cúprico y posteriormente la solución de piridina clorofórmica.

**Resultado:** los compuestos con el grupo  $-C(=O)-NH-$   $C(=O)-$  dan positiva la reacción.

### 4.2.3 ENSAYOS INMUNOLÓGICOS (SCREENING EN ORINA)

Los ensayos inmunológicos se realizan sin un aislamiento previo de la orina del analito de interés. Los sistemas desarrollados para detección de drogas, poseen un anticuerpo específico para una sustancia determinada o para un grupo de ellas. Son ensayos de competencia antígeno-anticuerpo, en los cuales se marca el anticuerpo (sistemas homogéneos) o se utiliza un sistema acoplado donde se visualiza la reacción mediante un color, visualizándose la presencia/ausencia de bandas determinadas o de lectura mediante algún sistema específico (sistemas heterogéneos).

Son útiles para detectar drogas o sus metabolitos en los fluidos biológicos de aquellos individuos que ingresen en estado de coma y las circunstancias hicieran sospechar una intoxicación por tales drogas. Para ello se dispone de dispositivos de diagnóstico inmunológicos "tipo cassette" o "one-step" (fig 4.1), similares a los empleados para el diagnóstico rápido de HIV, HbsAg y hCG. Tales ensayos están disponibles como ensayos aislados: benzodiazepinas genéricas, cocaína o combinados: anfetaminas, metanfetamina, cocaína, morfina y PCP (fenciclidina). Ofrecen alta sensibilidad y relativa especificidad, en caso de emergencia, pero siempre es necesario confirmar los resultados con otra metodología, cuyo principio sea diferente al utilizado, ya que son habituales los falsos positivos.

Otros procedimientos: Cromatografía en Capa Delgada (CCD), Cromatografía líquida de alta presión (HPLC), Cromatografía gaseosa (CG) con diversos detectores e incluso acoplado a un espectrofotómetro de masa (CG-MS).

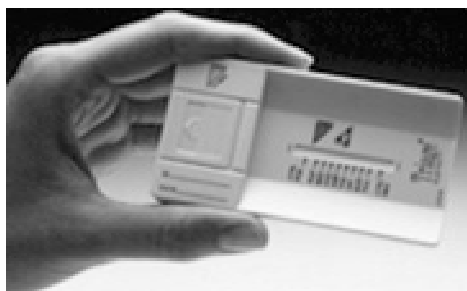


Figura 4.1.- Equipos para pruebas inmunológicas tipo cassette y tiras reactivas

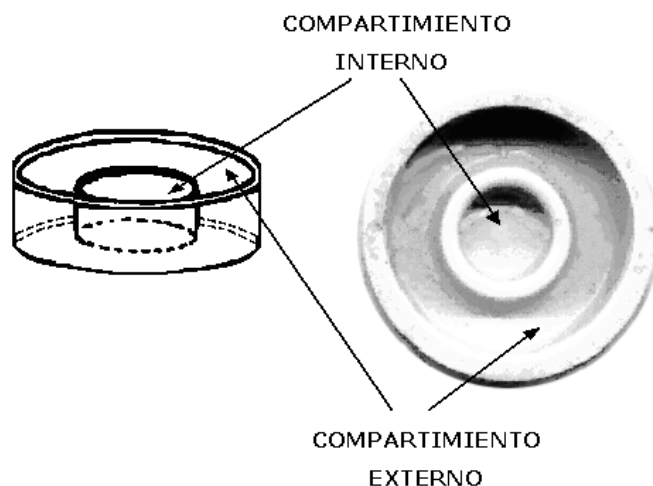
## 4.2.4 MICRODIFUSIÓN

### Microdifusión

La microdifusión es un método de aislamiento del o los analitos. Se basa en la liberación de un compuesto volátil (por ejemplo cianuro de hidrógeno a partir de sales de cianuro) de una muestra mediante un reactivo liberador colocado en el compartimiento exterior de la cámara de Conway (Figura 4.2). Este método permite identificar los tóxicos volátiles y ofrece algunas ventajas sobre la destilación. El principal beneficio es que se requiere poca cantidad de muestra y no necesita purificación previa de la muestra ni otros tratamientos especiales.

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

La cámara tapada se deja un tiempo a temperatura adecuada (1-5 horas a temperatura ambiente o menor tiempo a 37 °C) para que se complete la difusión del analito a investigar desde el compartimiento externo al interno. La concentración del compuesto se calcula, en la mayoría de los casos por espectrofotometría, mediante comparación de la absorbancia con las curvas de calibración previamente preparadas con estándares de concentración conocida. La cámara de Conway puede ser de vidrio, de porcelana o de plástico, aunque para el caso de los fluoruros debe usarse policarbonato ya que los fluoruros corroen el vidrio. La tapa y el borde de la cámara se unta con vaselina o vaselina siliconada para asegurar un cierre hermético y se cierra.



**Figura 4.2- Cámara de Conway**

Las sustancias de interés toxicológico, para su identificación mediante este método pueden ser separadas en distintos grupos, según el medio absorbente.

## 4.2.5 EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO

Aunque muchas de las pruebas descritas en este manual puedan ser realizadas directamente sobre fluidos biológicos u otras soluciones acuosas algunas necesitan pretratamiento de las muestras.

En el caso del plasma y suero una forma simple de pretratamiento es la precipitación de las proteínas mezclando la muestra con ácido tricloroacético y agitando en un vortex, seguido de centrifugación para lograr un sobrenadante claro para el análisis.

Las sustancias que se eliminan en orina conjugadas (ejemplo sulfatos y glucurónidos) pueden ser hidrolizadas por calentamiento con ácido, o por tratamiento enzimático. Esto puede



aplicarse a cualquier sustancia y luego aplicar la prueba de color (como benzodiazepinas y paracetamol) o para reforzar la sensibilidad (como laxantes y morfina).

#### **4.2.5.1 Extracción con Solvente**

La extracción líquido-líquido de drogas y otros tóxicos lipofílicos a partir de la muestra con un solvente orgánico apropiado, inmiscible con el agua, normalmente a un pH controlado, es ampliamente usada en toxicología analítica. Los tóxicos orgánicos fijos pueden tener carácter ácido (barbitúrico, hidantoína, primidona, salicilatos), neutro (meprobamato) o básico (benzodiazepinas, anorexígenos, alcaloides, neurolépticos, antidepresivos). El procedimiento permite la extracción del analito de su matriz original y lo transfiere a una fase orgánica fácil de manejar y evitando las interferencias. Esto se conoce como proceso de extracción o de aislamiento, donde se trata de concentrar el analito para que esté dentro del rango de sensibilidad con que opera el sistema de identificación y de estabilizar el analito dado que en su matriz original puede degradarse química o enzimáticamente.

Con muestras líquidas se pueden realizar dos tipos de extracciones:

- **Líquido – líquido (L-L)** en ampollas de decantación, en tubos o mediante columnas de extracción rellenas con sustancias inertes, por ejemplo tierras de diatomeas.
- **Extracción en fase sólida**, utiliza columnas con un adsorbente sólido. Puede ser de fase normal, fase reversa, intercambio iónico, copoliméricas (poseen un componente hidrófobo y otro de intercambio iónico) que permiten a través de sus diferentes grupos sustituyentes en el adsorbente de la columna, hacer una buena separación y un aislamiento del o los analitos en estudio, concentrarlos y dejar retenidos los compuestos no deseados en la columna.

Para efectuar una adecuada extracción se debe tener en cuenta:

- El pH en que la droga no se encuentra ionizada para favorecer su solubilidad en el solvente orgánico. Por ejemplo: drogas ácidas a pH ácido, drogas básicas a pH básico.
- El solvente o mezcla de solventes adecuados. Por ejemplo: cloroformo: isopropanol (para morfina); cloroformo en caliente (para estricnina).

#### **Extracción (L-L) en medio ácido y alcalino**

##### **\* Extracción de drogas ácidas en ampollas de decantación**

Se toma el pH de la muestra de acuerdo con su valor se acidifica con solución de ácido sulfúrico o clorhídrico hasta pH 2-3. No se debe usar ácido concentrado porque destruye la mayoría de las moléculas de los analitos a investigar. Se agrega cloruro de sodio (droga sólida) para evitar la formación de emulsiones por aumento de la fuerza iónica de la fase acuosa y reduce así la solubilidad de la droga en agua. Por último adicionar el solvente orgánico como por ejemplo éter etílico. Se agita durante cierto tiempo y se dejan separar las dos fases en la ampolla separando posteriormente la fase orgánica. Repetir dos o tres veces la extracción de la solución acuosa que queda en la ampolla adicionando nuevas porciones del solvente orgánico. Se reúnen los extractos y se desecan con cantidad suficiente de sulfato de sodio anhidro. El extracto se separa en dos porciones las cuales se evaporan a fin de concentrar el analito y así aplicar un método de investigación, como por ejemplo, CCD y/o barrido al ultravioleta (UV).

##### **^ Extracción de drogas básicas en ampollas de decantación**

Se toma el pH de la muestra y de acuerdo con su valor se alcaliniza con amoníaco hasta pH 9, se agrega cloruro de sodio (droga sólida) y por último el solvente orgánico cloroformo o cloroformo:isopropanol (9:1). Se agita durante cierto tiempo y se dejan separar las dos fases en la ampolla y luego se separa la fase orgánica. Repetir dos o tres veces la extracción de la solución acuosa que queda en la ampolla adicionando nuevas porciones del solvente orgánico. Se reúnen los extractos, se desecan con sulfato de sodio anhidro y se filtra por papel. El extracto se separa en dos porciones y se procede de igual manera que en el punto anterior.

##### **^ Desventajas de la extracción en ampolla de decantación**

Se necesitan volúmenes de muestras grandes (25 ml) e importantes volúmenes de solvente (50 ml). Muchas veces son inevitables las emulsiones con la consiguiente pérdida del analito,

si no se logra romper la emulsión. Para favorecer su ruptura, cuando ésta se forma, se recomienda centrifugar o aplicar golpe de frío o calor. Otra desventaja es el tiempo necesario para efectuar la extracción (entre 2 y 5 hs.)

#### \* **Columnas de extracción líquido con soporte inerte**

Estas columnas contienen como relleno tierras de diatomeas las cuales son inertes y sirven de soporte para las muestras acuosas. Ver figura 4.3



Tomado y modificado de  
[www.chromatography.co.uk/  
products/Default.htm](http://www.chromatography.co.uk/products/Default.htm)

**Figura 4.3– Columnas de extracción con soporte inerte**

#### ^ **Extracción de las drogas ácidas**

Se toma el pH de la muestra y de acuerdo a su valor se acidifica la muestra con sulfúrico al 10% o clorhídrico al 25% hasta pH 2-3. Se carga la columna con un volumen de la muestra, se espera 15 minutos para que la muestra penetre en la columna y la impregne. Se eluye con un solvente adecuado como cloroformo, diclorometano, éter etílico, etc. El eluido se separa en dos cápsulas de porcelana para CCD y UV(barrido). Se evapora a sequedad. Este contendrá los tóxicos orgánicos fijos de carácter ácido o neutro.

#### ^ **Extracción de drogas básicas**

Se toma el pH de la muestra y de acuerdo a su valor se alcaliniza la muestra con amoníaco hasta pH 9-10. Se carga la columna con un volumen de la misma, se espera 15 minutos para que la muestra penetre en la columna y la impregne. Se eluye con un solvente adecuado (cloroformo, o cloroformo:isopropanol 9:1). El eluido se separa en dos cápsulas de porcelana. Se evaporan los extractos, que contendrán los tóxicos orgánicos fijos de carácter básico, a sequedad y se procede luego a su investigación.

#### **Desventajas de la extracción mediante columnas de extracción con soporte inerte**

Las drogas de carácter ácidos débiles o bases débiles o neutras aparecerán en ambos eluatos, por lo que para salvar este inconveniente se efectúan extracciones secuenciales entre pH 2-3 y pH-9-10.

#### \* **Extracción en fase sólida (SPE)**

La extracción en fase sólida es aplicable a todo tipo de muestra ya sea líquida o sólida que se pueda ser disuelta. El fenómeno físico que ocurre es la adsorción del analito sobre la fase estacionaria y posterior elución con un solvente apropiado. Estas columnas (Figura 4.4) están rellenas con sílicas modificadas. En sus grupos silanoles se agregan sustituyentes capaces de interactuar con el analito por intercambio catiónico, aniónico o debido a un determinado grado de hidrofobicidad, permitiendo así la separación de drogas ácidas, neutras y alcalinas.

Este sistema de extracción nos permite trabajar con pequeñas cantidades de muestras y solvente, tiene una alta capacidad para remover interferencias y sus extractos podrían ser utilizados sin realizar nuevas purificaciones en métodos confirmatorios como cromatografía

gaseosa-espectrofotometría de masa (GC-MS). Otra ventaja que presenta es que no hay formación de emulsiones y el tiempo de extracción es de 30 minutos aproximadamente.

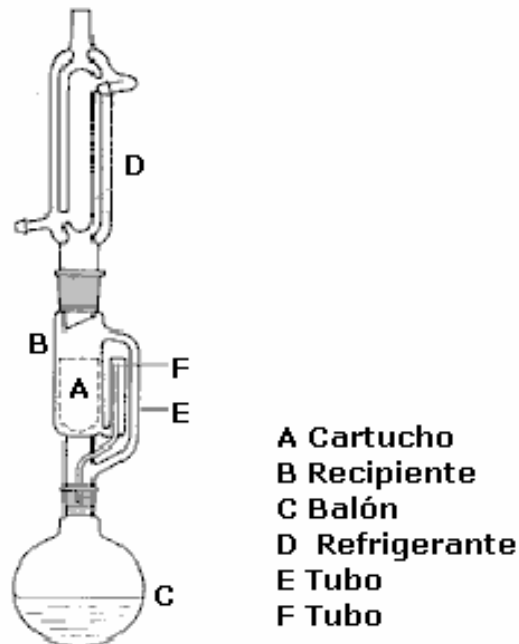


Tomado y modificado de:  
[http://www.argotech.com/products/spe\\_columns/images/hmn\\_columns.jpg](http://www.argotech.com/products/spe_columns/images/hmn_columns.jpg)

**Figura 4.4– Columnas de extracción en fase sólida (SPE)**

### \* Soxhlet

El soxhlet (Ver figura 4.5) es una metodología extractiva que permite separar componentes que se hallan presentes en mezclas sólidas, basados en las diferencias de distribución de sus componentes individuales en dos fases que se contactan íntimamente a través de una gran área de superficie. Consiste en lavados sucesivos de una mezcla sólida con un determinado solvente. Como ventaja se señala que es posible extraer componentes de baja solubilidad en el solvente pero debido a las repetidas y múltiples extracciones que se realizan se logra extraerlo.



**Figura 4.5- Aparato de Soxhlet-Tomado y modificado de**  
<http://www.oaq.uba.ar/Labescuela/Exp-12.htm>

## 4.2.6 IDENTIFICACIONES

Efectuado el aislamiento se procede a identificar los tóxicos orgánicos fijos mediante:

- Reacciones cromáticas o pruebas de toque en el eluato (ver sección 4.2).
- Métodos espectrofotométricos (Barrido al UV).
- Métodos cromatográficos. Cromatografía en capa delgada (CCD)

### 4.2.6.1 ESPECTROFOTOMETRÍA UV Y VISIBLE

#### • Barrido al UV

El análisis mediante el barrido al UV es utilizado para detectar una droga específica o confirmar compuestos detectados por otras metodologías. Se realiza un barrido espectral entre 390 y 220 nm en solución acuosa ácida (HCl al 1% o Acido sulfúrico 0,1N) para drogas extraídas en medio alcalino, en solución acuosa alcalina (Hidróxido de amonio 0,45N) para drogas extraídas en medio ácido o en solución neutra (metanol). De esta forma se obtiene información adicional mediante el estudio de los picos de absorción máxima y mínimos ya que muchas drogas varían su absorción al UV ( $\lambda$  máxima) por cambio de pH.

El barrido UV es poco específico a menos que la droga problema se encuentre sola en solución sin presencia de otras sustancias que alterarían el espectro de absorción. Esto es posible si es aislada por otro procedimiento como CCD (cromatografía en capa delgada preparativa, elución) o por metodologías que eliminen estas sustancias interferentes.

Algunas sustancias pueden presentar espectros UV similares o superpuestos requiriendo otras técnicas de confirmación.

#### • Métodos espectrofotométricos (UV y visible)

Varios de los métodos cuantitativos descritos en las monografías emplean la espectrofotometría ultravioleta (UV) (200-400 nm) o visible (400-800 nm). Estos métodos presentan el inconveniente de la presencia en el medio de sustancias interferentes, lo que implica en muchos casos la purificación previa de la muestra ya sea por métodos de extracción o la separación del analito, como por ejemplo, por microdifusión.

### 4.2.6.2 CROMATOGRFÍA EN PLACA DELGADA

La cromatografía en placa delgada (CCD) es un método ampliamente utilizado, relativamente barato y sencillo de realizar y requiere de una infraestructura mínima. Puede ser un poderoso método separativo y permite al mismo tiempo un análisis cualitativo. En general se aplica a posteriori de alguna forma de pretratamiento de la muestra, como por ejemplo, extracción de los analitos de la muestra con solventes. La interpretación de resultados puede ser difícil, sobre todo si están presentes varias drogas y/o metabolitos.

La CCD es la base del procedimiento para el aislamiento e identificación de múltiples sustancias luego de la extracción de las sustancias y/o metabolitos presentes con solventes adecuados, tanto en orina, como contenido estomacal, residuos en la escena, comprimidos o formulaciones. Esta metodología es recomendada para la identificación de varios compuestos descritos en las monografías y puede llegar a utilizarse como técnica semicuantitativa.

El objetivo de esta sección es proporcionar la información práctica para el uso de CCD en la toxicología analítica. La información general de la teoría y la práctica de CCD se pueden encontrar en las referencias listadas en la Bibliografía.

Las muestras con alto contenido de grasa, por ej contenido estomacal, restos de vísceras; requieren un paso previo de clean up o purificación.

Para la realización de la CCD se usan soportes de vidrio (cromatoplacas), aluminio o plástico (cromatofolios), es decir soportes inactivos, los cuales se adquieren en el comercio. Sobre ellos se extiende una capa pareja de adsorbente (celulosa, alúmina, sílica gel, florisil) de espesor

variable según la placa sea utilizada para la investigación analítica (A) o como método separativo o preparativa (P).

En un extremo de la placa se siembra la muestra. La siembra se puede realizar puntualmente con fines analíticos y en banda si es preparativa. En ambos casos pueden hacerse varias siembras superpuestas para aumentar la cantidad de muestra y así concentrar las sustancias a investigar.

La placa se introduce en una cuba que contiene el solvente de desarrollo el cual asciende y permite que se lleven a cabo los equilibrios de adsorción-desorción. La placa se deja hasta que el solvente llegue a 2 cm como máximo del extremo superior.

Terminado el desarrollo, se retira la placa, se seca, se revela y se evalúa.

- **Adsorbente**

Tiene un agregado de  $\text{CaCO}_3$  (yeso) o almidón (10-15 %, preferentemente 12 %) que permite que el adsorbente se adhiera al soporte. La granulometría es menor de 10 a 40  $\mu\text{m}$  de diámetro aproximadamente (en general 5 a 10).

Es primordial el espesor de adsorbente en la placa. Una capa irregular ocasionará recorridos más rápidos en zonas más delgadas o más lentos en zonas de mayor espesor resultando inadecuada para su interpretación.

- **Soportes**

Los soportes pueden ser de:

Silicagel G 60 F 254  
Silicagel G H 60  
Silicagel GP F 254

H: sin aglutinante

F: con fluorescencia

G: con aglutinante

P: preparativa

254: fluorescencia a 254 nm

s: resiste ácidos

- **Solventes**

La mezcla de solventes o disolventes que conformará la Fase móvil (FM) deberá ser tal que los componentes de la muestra no corran con el frente del solvente, ni queden retenidos en el lugar de siembra. Los  $R_f$  (ver punto 4.8.2.6.5) óptimos, ideales, están comprendidos entre 0,25 y 0,75.

Es fundamental el uso de solventes anhidros y miscibles.

A continuación (figura 4.6) se presenta la serie eluotrópica de los solventes más usados.

P	ETER DE PETRÓLEO
O	CICLOHEXANO
L	TETRACLORURO DE CARBONO
A	BENCENO
R	CLORURO DE METILENO
I	CLOROFORMO
D	ETER ETÍLICO
A	ACETATO DE ETILO
D	ACETONA
	PIRIDINA
	ETANOL
	METANOL
	AGUA

**Figura 4.6- Polaridad creciente de los solventes más comunes utilizados**

- **Saturación de la cuba**

La cuba cromatográfica en la mayoría de los casos deberá estar saturada con el o los solventes de desarrollo antes de introducir la placa, de lo contrario, el solvente en vez de ascender por capilaridad continuamente, tenderá a evaporarse de la capa de adsorbente para equilibrar al líquido con su presión de vapor. Eso implicaría un ascenso no homogéneo del frente de solvente. Cuando se utiliza una mezcla de solventes, el problema se agrava, ya que las volatilidades relativas de los solventes pueden ser distintas (el más volátil se evaporará más).

- **Sistemas de Fase Móvil**

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

### ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO

- **Siembra**

Se disuelve (o suspende) la muestra en un solvente adecuado preferentemente volátil, y la siembra se efectúa con un capilar cargado con la disolución o suspensión, a 1,5 – 2,0 cm del borde inferior y de los bordes laterales de la placa. Se hace un toque, se evapora el solvente, se hace otro toque en el mismo lugar, así sucesivamente hasta lograr la concentración deseada. Se debe cuidar que las siembras no superen los 2 ó 3 mm de diámetro. Las siembras de las distintas muestras y testigos deben estar separadas una de otras 1,0 cm por lo menos.(Figura 4.7)

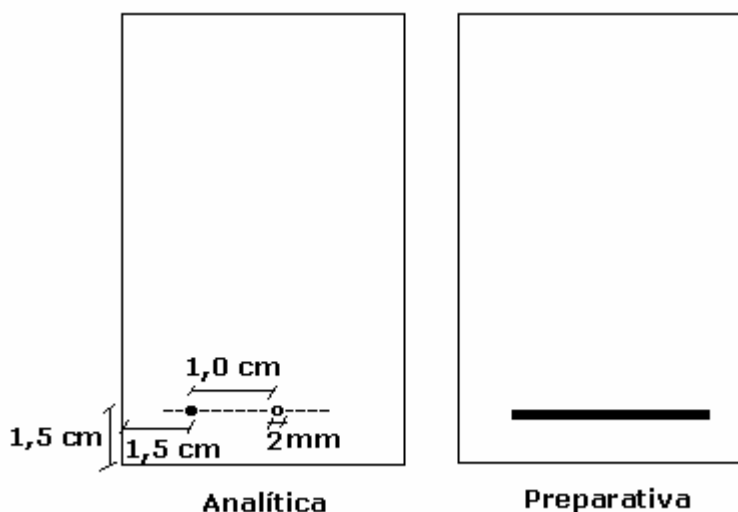
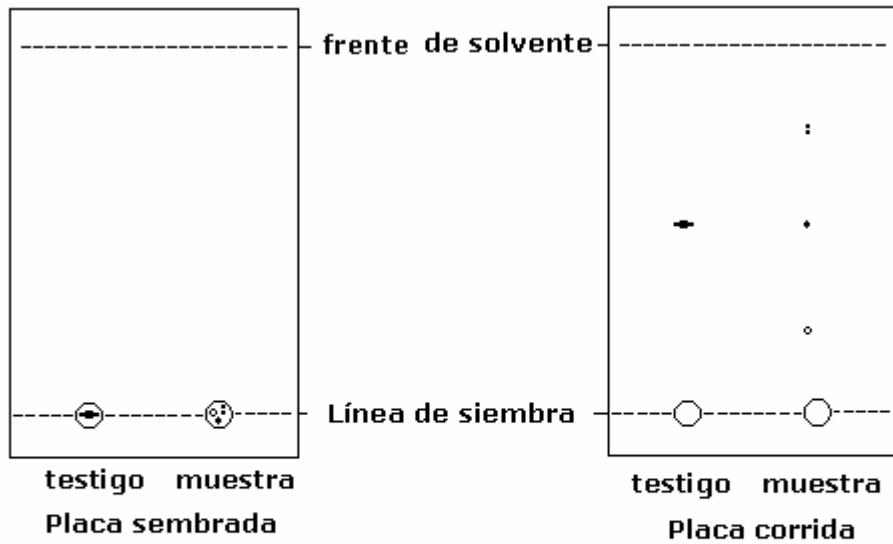


Figura 4.7- Siembra en placa

- **Desarrollo**

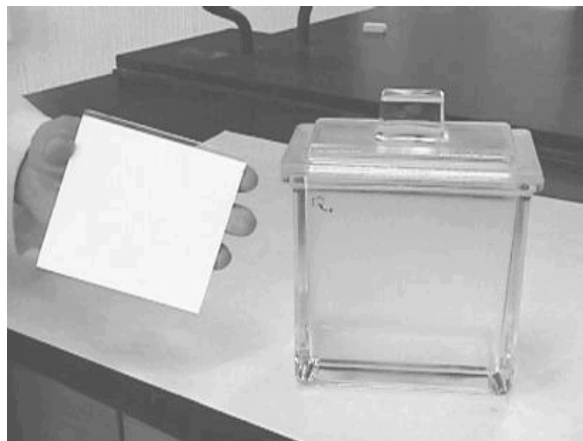
La placa sembrada se introduce en la cuba (figura 4.9) previamente saturada con el solvente (al menos 15 min. de saturación) de modo que el solvente toque la placa, pero no la zona de siembra.

La cuba se tapa y se deja que el solvente ascienda por capilaridad, hasta 2 cm como máximo antes del borde superior. En este momento se retira la placa y se deja secar. (Figura 4.8)



- Es la sustancia más retenida
- Es la sustancia que más corrió
- Es la sustancia que corrió igual que el testigo (Igual  $R_f$ )

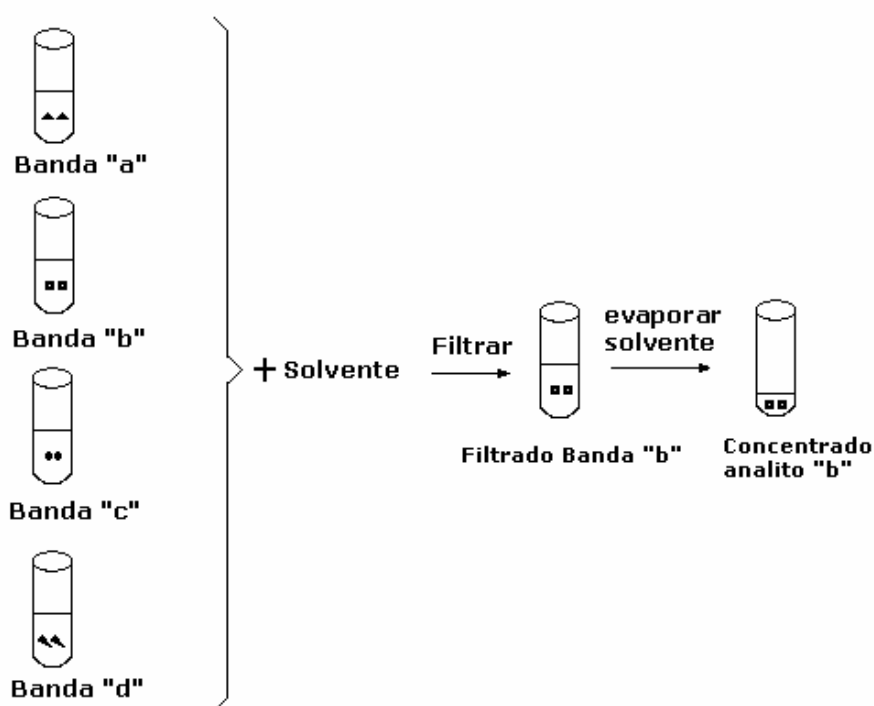
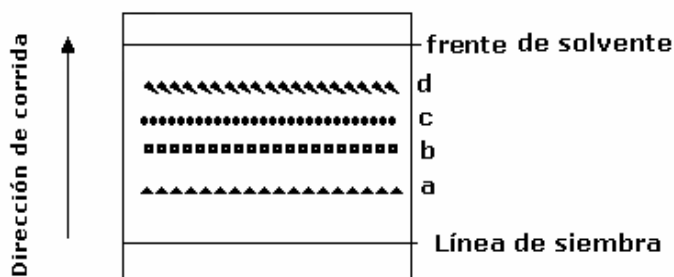
**Figura 4.8- Placa sembrada y corrida**



**Figura 4.9- Cuba cromatográfica**

- **Preparativa**

Se raspan cada una de las bandas y se colocan por separado en tubos diferentes y se agrega el solvente elegido, se agita, filtra y se evapora el solvente. (Figura 4.10)



**Figura 4.10- Etapas de la separación mediante TLC preparativa**

- **Revelado**

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

Si las sustancias presentes en la muestra son coloreadas (raramente), las manchas serán visibles. De lo contrario hay que revelarlas.

Los colores obtenidos de un compuesto particular pueden variar, dependiendo de la concentración, la presencia de otras sustancias eluidas, de la duración e intensidad del revelado, y del tipo de sílica usada.



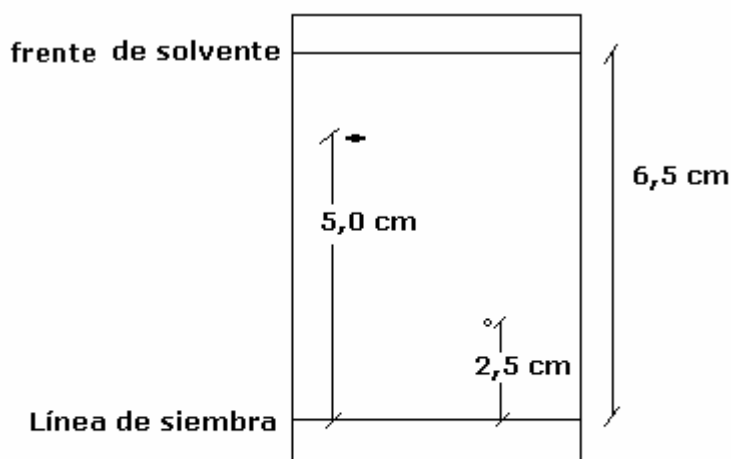
Algunos compuestos pueden mostrar una graduación o incluso un cambio en el color desde el borde de la mancha hacia el centro (normalmente un efecto de la concentración), mientras que la intensidad o incluso la naturaleza del color obtenido puede variar con el tiempo.

Si la placa es preparativa no pueden usarse reveladores destructivos o si se los usa hacerlo en un extremo de la placa.

- **Evaluación**

La evaluación se hace calculando los Rf (Factores de Retención) que son característicos para cada compuesto en condiciones constantes (adsorbente, grosor de la capa, temperatura, solventes, altura de desarrollo, es decir en idénticos sistemas cromatográficos). (Figura 4.11)

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto desde el origen}}{\text{distancia recorrida por el solvente desde el origen}}$$



$$R_{f\circ} = \frac{2,5 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,39 \quad R_{f\leftarrow} = \frac{5 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,77$$

**Figura 4.11- Cálculo del Rf**

El Rf toma valores entre 0 - 1 y puede ser usado para la identificación de los componentes de una muestra, siempre y cuando se trate de sistemas cromatográficos idénticos.

El número de manchas reveladas nos indica el grado de pureza o complejidad de la muestra. Si variando los solventes de desarrollo aparece una única mancha en todos los casos es muy probable que la muestra contenga una única sustancia.

- **Reveladores**

- Luz UV: cuando las sustancias son capaces de absorber radiaciones en esas frecuencias, se observará fluorescencia.
- Vapores de I<sub>2</sub>: es un revelador universal. Se coloca la placa en una cuba que tenga I<sub>2</sub> sublimado. Este es volátil y se fija por uniones dipolo inducido a las zonas donde están los compuestos dando manchas marrones o amarillentas. La ventaja de este método es que quitada la placa de la cámara de yodo (o del contacto con los vapores) comienza a decolorarse por la volatilización del yodo, y permite aplicar posteriormente un nuevo revelador.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y calor: este método es destructivo. Se rocía la placa con ácido sulfúrico concentrado (hasta 50 %) y se coloca en estufa por unos minutos (110-120 °C). Aparecerán manchas marrones, pardas o rojizas opacas.

## REACTIVOS PARTICULARES ESPECÍFICOS PARA CADA GRUPO QUÍMICO Y/O COMPUESTO

### - REVELADORES DE SUSTANCIAS EXTRAÍBLES EN MEDIO ALCALINO-NEUTRO

#### **Dragendorff**

Los alcaloides terciarios dan manchas amarillas, naranjas, rojo-naranja o marrón-naranja. Este reactivo puede ser aplicado sobre la placa ya tratada con ninhidrina- FPN.

#### **FPN**

Las fenotiazinas dan manchas rojas o marrón rojizo mientras que las dibenzazepinas dan manchas azules. Puede ser utilizado sobre la placa ya tratada con ninhidrina.

#### **Ninhidrina**

Aspersionar la placa y luego calentar a 100°C por 5 min. Se observan puntos violetas o rosados debido a la presencia de aminas primarias. Las aminas secundarias dan color amarillo.

#### **Mandelin**

Este reactivo posee ácido concentrado por lo que se recomienda no aspersionarlo sobre la placa. Exponer la misma a los vapores. Diferentes colores pueden ser obtenidos según la sustancia presente, ver monografía específica.

#### **Marquis**

Este reactivo posee ácido concentrado por lo que se recomienda no aspersionarlo sobre la placa. Exponer la misma a los vapores. Los alcaloides relacionados con la morfina dan manchas negras o violetas, ver monografía específica.

#### **Iodoplatínico-acidificado**

Las aminas terciarias y compuestos de amonio cuaternario dan manchas violetas, azul-violáceo, verde-violáceo, gris-violáceo o marrón-violáceo. Las aminas primarias y secundarias dan colores más tenues. Esta solución puede ser usada sobre la placa que ha sido aspersionada con Ninhidrina, FPN y Dragendorff. Algunos autores recomiendan iodoplatinato neutro que es más estable y que da reacciones similares con muchas drogas básicas; éste es aspersionado posteriormente con ácido sulfúrico (500 ml/l) que facilita las reacciones del iodoplatinato neutro con los compuestos como la cafeína y fenazona (diclofenazona).

#### **Secuencia propuesta para extractos alcalinos**

- Vapores de Formaldehído
- Mandelin.
- Fluorescencia a 366 nm
- Dragendorff.

Testigos recomendados:

- anfetaminas
- antidepresivos tricíclicos
- cafeína
- cocaína
- diazepam
- estricnina
- nicotina
- paracetamol
- propoxifeno

Estos testigos servirían de comparación de R<sub>f</sub> y como control de los reactivos.

## - REVELADORES DE SUSTANCIAS EXTRAÍBLES EN MEDIO ÁCIDO

### **Nitrato mercurioso**

Da manchas blancas con un centro gris en un fondo más oscuro, con barbitúricos y compuestos relacionados como la glutetimida.

### **Van Urk**

Aspersionar la placa con el reactivo y calentar 100°C por 5 min. El meprobamato y las sulfonamidas dan manchas amarillas. Manchas rosadas o violetas son dadas por otros compuestos, por ej. fenazona.

### **Permanganato de potasio ácido**

Manchas amarillo-marrones con fondo violeta revelan la presencia de sustancias con enlaces alifáticos no saturados, ej: secobarbital. Se lo puede utilizar como revelado secuencial y aspersionar a continuación del nitrato mercúrico.

### **Cloruro férrico**

Los fenoles dan manchas azules o violetas. Con esta solución se puede aspersionar una placa que ya fue tratada con el reactivo Van Urk.

### **Nitrato mercúrico**

Este reactivo es útil para revelar la presencia de barbitúricos los cuales dan manchas blancas, a veces rodeadas de un halo negruzco.

## **CROMATOGRAFÍA SECUENCIAL PARA PLAGUICIDAS**

**Testigos:** Parathion, carbaryl (carbamatos), gamexane, aldrin, dieldrin.

### **Solventes de corrida**

- para organofosforados/carbamatos: Hexano:Acetona (80:20)
- para organoclorados: Ciclohexano:Cloroformo (80:20)
- para fosforados, carbamatos y clorados: Hexano: Ciclohexano: Cloroformo: Acetona (80:80:20:20)

### **Revelado**

- Limpiar el aspersor c/alcohol.
- Agregar difenilamina en alcohol al 1%.
- Exponer la placa a luz ultravioleta 10 minutos.
- Los organoclorados revelan verdes y grises al UV, se observa aumento de fluorescencia para piretrinas.
- KOH 10 N (no mojar mucho la placa para no romper el cromatofolio). Los carbamatos aumentan la fluorescencia, los organofosforados dan color amarillo.
- Lavar con alcohol el aspersor. Colocar 4-nitro-benceno-diazonio-tetrafluor-borato al 1% en mezcla de etanol:etilenglicol (8:2). El carbaryl da color azul. El propoxur, un carbamato, da color rojo. El malathion da color violáceo.
- Cloruro de paladio en CIH al 10% V/V (0,5 en 100 ml). Los organofosforados dan color amarillo.

### **Observaciones**

Para eliminar las grasas se sugiere colocar la placa en la cuba saturada con Tolueno y correr hasta el extremo superior. Dejar secar y luego colocarla en tolueno: isopropanol (100:4). Secar nuevamente y continuar.

## **CAPÍTULO 5**

### **MONOGRAFÍAS**

## 5.1 ACIDO SALICÍLICO Y DERIVADOS

La intoxicación por derivados del ácido salicílico puede ocurrir en diversas situaciones como las que se señalan a continuación:

- Por ingestión de dosis elevadas en terapéutica (iatrogenia)
- Por intoxicación accidental (fundamentalmente en niños)

### 5.1.1 ÁCIDO SALICÍLICO

#### Características

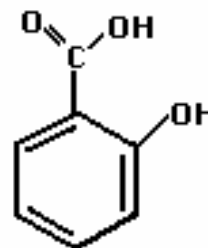
Sinónimos: Acido 2-hidroxibenzoico; acido o-hidroxibenzoico

Fórmula:  $C_7H_6O_3$

Peso molecular 138

N° CAS 69-72-7

pKa: 3,0; 13,4 (25°C).



Estructura Química

#### Propiedades Físicoquímicas

Incoloro, en forma de cristales o polvo blanco cristalino. Es soluble en 1/550 de agua, 1/4 de etanol, 1/45 de cloroformo y 1/3 de éter.

#### Acción terapéutica

El ácido salicílico se usa para tratar, en forma de tópicos, varias alteraciones dermatológicas. Aparece en el plasma por ser el principal metabolito del ácido acetilsalicílico y puede también provenir del salicilato de metilo y salicilamida.

#### Metabolismo

Una vez ingeridos el acetilsalicílico, el salicilato de metilo o la salicilamida originan por hidrólisis ácido salicílico que se excreta luego ya sea al estado libre o conjugado con ácido glucurónico o glicina, (ácido salicilúrico). También se excretan en parte como droga sin metabolizar antes de ser hidrolizados en el organismo.

En el caso de intoxicaciones por este grupo corresponde efectuar la detección rápida de salicilatos en orina y luego la determinación de la salicilemia.

## Laboratorio

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

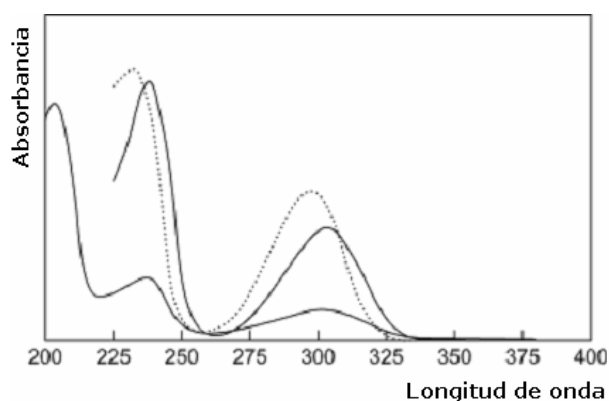
**Reactivos:** Cloruro férrico y Folín Cicalteu.

**Procedimiento:** Agregar la solución de tricloruro férrico o el reactivo de Folín – Cicalteu a una alícuota de la muestra o de una solución etanólica de la muestra.

**Resultados:** Colores observados frente al Cloruro férrico: azul-violáceo y al Folín Cicalteu: azul

#### Barrido al UV

Se puede obtener el espectro característico del salicilato en medio ácido presentando picos de máxima absorción a 236, 303 nm y en medio alcalino a 298 nm. El salicilato de colina en solución metanólica presenta un máximo a 298 nm. (Figura 5.1)



**Figura 5.1.-Barrido al UV del salicilato**

### **Cromatografía en capa delgada**

El ácido salicílico se puede investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas CB y/o CG

#### **Reveladores**

- Luz UV: fluorescencia violeta
- Cloruro férrico: violeta
- Trinder: violeta

### **5.1.2 ÁCIDO ACETILSALICÍLICO**

#### **Características**

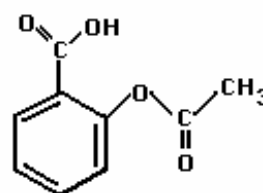
Sinónimos: Aspirina; Ácido 2-acetoxibenzoico

Fórmula:  $C_9H_8O_4$

Peso molecular: 180

N° CAS 50-78-2

pKa= 3,5 (25°C)



**Estructura Química**

#### **Propiedades Físicoquímicas**

Incoloro o polvo cristalino blanco o gránulos. Es estable en aire seco pero gradualmente se hidroliza en contacto con la humedad generándose una mezcla de ácido acético y ácido salicílico. Soluble 1 parte en 300 de agua, 1 en 5 de etanol, 1 en 17 de cloroformo, 1 en 10 – 15 de éter etílico, soluble en soluciones de acetato, citratos, y se descompone en soluciones que contengan hidróxidos alcalinos y carbamatos.

#### **Acción terapéutica:**

El ácido acetilsalicílico es el derivado de ácido salicílico más frecuentemente usado. Se utiliza como analgésico, antiinflamatorio y antipirético y también es el metabolito de aloxiprina y benorilato. La dosis letal mínima estimada en un adulto es 15 g. Una concentración plasmática mayor de 300 mg/l produce reacciones tóxicas y mayor de 500 mg/l esta asociada con intoxicación moderada a severa.

Los primeros síntomas de toxicidad están caracterizados por náuseas y vómitos, sensación de calor con rubefacción, hipersudoración, hipertermia, e hiperventilación y alteraciones neurosensoriales como vértigo, zumbido en oídos y cefaleas.

#### **Metabolismo**

El ácido acetilsalicílico se metaboliza rápidamente por esterases del plasma *in vivo* a ácido salicílico el cual se excreta principalmente por la orina conjugado con glicina formando el ácido salicílico.

### **Laboratorio**

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** Cloruro férrico

**Procedimiento:** Agregar la solución de tricloruro férrico a la muestra o a una solución etanólica de la muestra.

**Resultado:** frente al Cloruro férrico se observa color azul –violeta (luego de la hidrólisis)

### Barrido al UV

Se puede obtener el espectro característico en medio ácido (figura 5.2) presentando picos de máxima absorción a 230 y 278 nm y en medio alcalino a 231 y 298 nm.

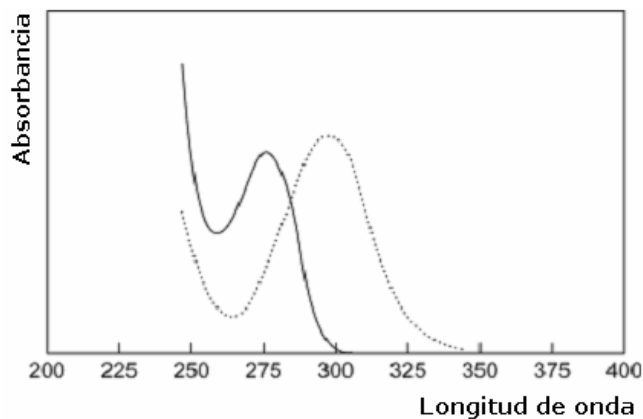


Figura 5.2. Barrido al UV del ácido acetilsalicílico

### 5.1.3 SALICILAMIDA

#### Características

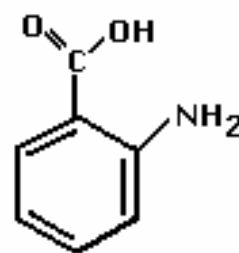
Sinónimo. 2-Hidroxibenzamida

Fórmula:  $C_7H_7NO_2$

Peso molecular: 137

Nº CAS: 65-45-2

pKa= 8,2 (37°C).



Estructura Química

#### Acción terapéutica

La salicilamida se usa como analgésico. Por hidrólisis, origina el ácido salicílico.

#### Propiedades Físicoquímicas

Soluble 1 parte en 500 de agua, 1 en 15 de etanol, 1 en 100 de cloroformo y 1 en 35 en éter etílico, y es soluble en soluciones alcalinas.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

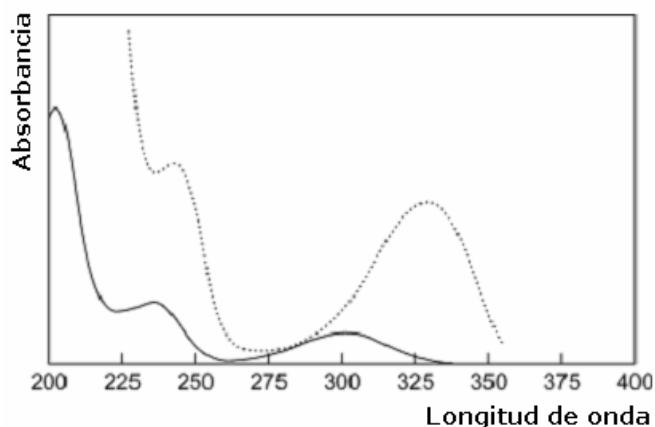
**Reactivos:** Cloruro férrico

**Procedimiento:** Agregar la solución de tricloruro férrico a una alícuota de la muestra o a la solución etanólica de la muestra.

**Resultado:** frente al Cloruro férrico: azul –violeta (luego de hidrólisis)

### Barrido al UV

Presenta un espectro característico en medio ácido con picos de máxima absorción a 235 y 298 nm y en medio alcalino a 241 y 328 nm. (Figura 5.3)



**Figura 5.3. Barrido al UV de la salicilamida**

### **Cromatografía en capa delgada**

La salicilamida se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas, CD, CE, CF, CG y CAD

#### **Reveladores**

- Luz UV: fluorescencia violeta
- Cloruro férrico: violeta
- Solución ácida de permanganato: positivo

## **INVESTIGACIÓN DE SALICILATOS**

### **Ensayo cualitativo**

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### **Investigación de Salicilatos en orina**

A 5 ml de orina agregar algunas gotas de solución de  $\text{FeCl}_3$  al 5% en agua destilada. Un color violeta indica la presencia de un compuesto fenólico en la orina. Esta prueba es muy sensible y su positividad no indica intoxicación por salicilatos sino que esa persona ha estado expuesta a algún compuesto que contiene grupos fenólicos. En cambio si están presentes en contenido estomacal o en los residuos de la escena el ácido acetilsalicílico y los salicilatos de metilo deben ser hidrolizados antes que el análisis sea desarrollado a fin de favorecer la reacción con los iones férricos. La salicilamida es sólo detectable después de la hidrólisis incluso en muestras de orina.

**Hidrólisis:** Cuando se requiere de hidrólisis previa proceder de la siguiente manera: Hervir 1 ml de muestra con 1 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico (0,1 mol/l) durante 10 minutos, enfriar, filtrar si fuera necesario, y neutralizar con 1 ml de solución acuosa de hidróxido de sodio (0,1 mol/l).

#### **Resultados**

Un color violeta fuerte indica la presencia de salicilatos. Los preservantes azidas reaccionan fuertemente con este reactivo y pueden dar reacciones falsas positivas. La presencia de altas concentraciones de cetonas en orina (cuerpos cetónicos) también dan la reacción. Esta prueba es sensible y detecta dosis terapéutica de ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, 4-aminosalicílico, metilsalicilato y salicilamida.

**Sensibilidad: 10 mg/l.**

## **DETERMINACIÓN DE SALICILEMIA**

### **Ensayo cuantitativo**

**Muestra:** Aplicable a plasma o suero (1 ml).

#### **Reactivos**



- Trinder
  - Solución Stock de Salicilato de Sodio: (100 mg de ión Salicilato por 100 ml). Disolver 580 mg de la Cloruro de sodio en agua destilada y se completa luego a 500 ml. Conservar mediante el agregado de unas gotas de cloroformo y mantener a 4°C.
  - Soluciones testigos de ión Salicilato: (15, 25, 40, 60 y 75 mg por 100 ml)
    - T15: Tomar 15 ml de la solución Stock y llevar a 100 ml con agua destilada
    - T25: Tomar 25 ml de la solución Stock y llevar a 100 ml con agua destilada
    - T40: Tomar 40 ml de la solución Stock y llevar a 100 ml con agua destilada
    - T60: Tomar 60 ml de la solución Stock y llevar a 100 ml con agua destilada
    - T75: Tomar 75 ml de la solución Stock y llevar a 100 ml con agua destilada
- Estas soluciones se conservan de la misma manera que la solución Stock.

### Procedimiento

En 7 tubos de centrífuga colocar respectivamente 0,5 ml de agua destilada, 0,5 ml de cada uno de los testigos T15, T25, T40, T60, T75 y de plasma o suero. Agregar 5 ml de reactivo de Trinder a cada tubo. Mezclar por agitación y centrifugar para separar el precipitado en el tubo muestra. Determinar la densidad óptica a 540 nm llevando a cero con blanco de reactivos.

### Resultados

Graficar la curva Absorbancia versus concentraciones de los testigos y calcular la concentración de salicilatos del plasma extrapolando en el gráfico o aplicando la ecuación de la recta. Algunos metabolitos interfieren, pero las concentraciones en plasma de estos compuestos son usualmente bajas. Por ejemplo, los oxalatos y los fluoruros en la sangre cuando se agregan como anticoagulantes interfieren en esta prueba.

**Sensibilidad: 5 mg %**

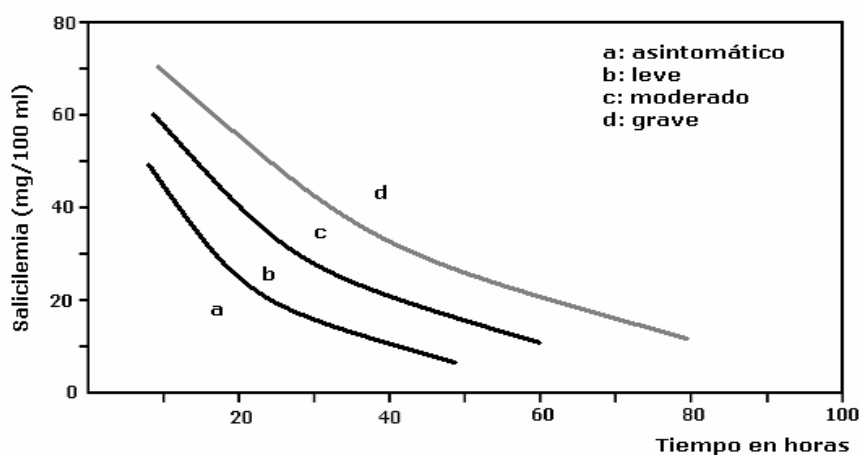
### Interpretación de los resultados de la Salicilemia

- Entre 30 y 50 mg % se considera salicilismo leve.
- Entre 50 y 80 mg % intoxicación moderada.
- Mas de 80 mg % intoxicación severa.

Ver figura 5.4

Existe una susceptibilidad individual que sitúa la dosis mortal de los salicilatos entre 3 y 10 gr dependiendo lógicamente de la edad.

La salicilemia suele alcanzar un valor crítico en sangre con 30 mg % pero es necesario extrapolar esta cifra en el momento de la ingestión, pues a medida que pasa el tiempo hay una curva exponencial que disminuye la salicilemia en un 50 % durante las 24 primeras horas. Quiere decir que 30 mg % de Salicilato a la hora de ingerido, tendrá un mejor pronóstico que la misma cantidad 4 horas después.



**Figura 5.4.- Previsión del cuadro clínico según la concentración plasmática de salicilatos en función del tiempo transcurrido desde la ingesta. Tomado y modificado de Toxicología Clínica, 1993.**

## 5.2 ACIDO FÓRMICO Y FORMIATOS

### 5.2.1 ÁCIDO FÓRMICO

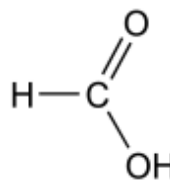
#### Características

Sinónimos: Acido metanoico (HCOOH)

Peso molecular: 46

Nº CAS: 64-18-8

pKa: 3,8 (25°C).



Estructura Química

#### Descripción general

Los formiatos como el formiato de sodio (HCOONa) se usan como sustancias sintéticas intermedias en el teñido y estampado en la industria del cuero.

El ácido fórmico es un metabolito del metanol y formaldehído. La dosis letal mínima de ácido fórmico en un adulto es aproximadamente 30 ml.

#### Características organolépticas y propiedades físicoquímicas

Líquido incoloro

Olor acre

Muy corrosivo

El coeficiente de partición octanol /agua como log Pow: 0,54

Densidad relativa (agua=1): 1,22

Densidad relativa (aire=1): 1,66

#### Sintomatología clínica

El ácido fórmico es muy corrosivo para los tejidos y la ingestión puede causar quemaduras y ulceración de boca y garganta, corrosión de glotis, esófago y estómago, acidosis metabólica, hemólisis intravascular, hemólisis, coagulación intravascular diseminada, colapso circulatorio y renal y fallo respiratorio. El tratamiento es sintomático y de sostén.

#### Laboratorio

##### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** ácido sulfúrico concentrado

**Procedimiento:** Calentar en un tubo muestra con ácido sulfúrico, se desprenderá monóxido de carbono, el cual producirá una llama azul al encender la boca del tubo.

##### Ensayo cualitativo

El ensayo cualitativo que se propone aquí debe aplicarse si se sospecha de intoxicación por ácido fórmico. En la prueba de confirmación del ácido fórmico y formiatos estos son reducidos a formaldehído el cual puede detectarse por la reacción con ácido cromotrópico.

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

##### Reactivos

Reactivo ácido cítrico /acetamida. Ácido cítrico (5 g/l) y acetamida (100 g/l) en isopropanol.

Solución de acetato de sodio (300 g/l).

Anhídrido acético.

##### Procedimiento

Agregar 0,5 ml de la solución de la muestra a 1 ml de reactivo ácido cítrico/acetamida, luego agregar 0,1 ml de solución del acetato de sodio y 3,5 ml de anhídrido acético.

Mezclar durante 5 segundos y calentar en un baño de agua hirviente durante 10 minutos.

##### Resultados

Una coloración roja indica la presencia de ácido fórmico. El formaldehído y los formiatos no reaccionan en esta prueba.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

##### Ensayo confirmatorio

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

**Reactivos**

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Magnesio en polvo.

Ácido cromotrópico (sólido).

Ácido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

**Procedimiento**

Agregar 0,1 ml de solución 2M de ácido clorhídrico a 0,1 ml de solución de la muestra y mezclar durante 5 segundos.

Lentamente agregar aproximadamente 100 mg de polvo de magnesio hasta que cese la emanación de gas.

Agregar aproximadamente 100 mg de ácido del cromotrópico y mezclar por 5 segundos.

Cuidadosamente agregar 1,5 ml de ácido sulfúrico concentrado y calentar en un baño de agua a 60°C durante 10 minutos.

**Resultados**

Un color púrpura-violeta indica la presencia de formiatos o ácido fórmico. El formaldehído reacciona directamente con el ácido cromotrópico y no requiere los pasos previos de la reducción.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

## 5.3 AMINOFENAZONAS

### Características

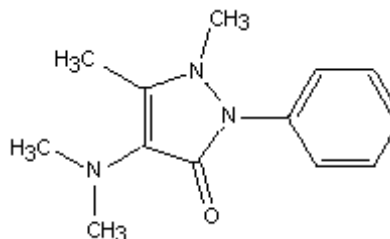
Sinónimos: Amidopirina, aminopirina, dimetilfenazona 4-dimetilamino -1,5-dimetil -2-fenil - 4-pirazolin-3-ona

Fórmula estructural:  $C_{13}H_{17}N_3O$

Peso molecular: 231

N° CAS: 58-15-1

pKa: 5,0 (20°C).



Estructura Química

### Propiedades fisicoquímicas

Cristales pequeños incoloros o polvo cristalino blanco, inodoro e insípido.

Solubilidad: 1 parte en 18 de agua, 1 en 2 de etanol, 1 en 15 de éter y 1 en 1 de cloroformo.

### Acción terapéutica

La Aminofenazona es un analgésico y antipirético poco utilizado en la actualidad desde que se conoció su toxicidad potencial sobre la médula ósea y riñón ya que provoca agranulocitosis y necrosis tubular renal aún en dosis terapéuticas. La ingestión de aproximadamente 10 g puede causar severa intoxicación aguda en un adulto.

### Sintomatología clínica

La sobredosis de aminofenazona puede causar hipotensión, convulsiones, y delirio. El tratamiento es sintomático y de sostén. Determinaciones cuantitativas no se requieren para el tratamiento.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos

Cloruro férrico

Liebermann

Ácido nítrico

**Procedimiento:** Agregar la solución del reactivo a la muestra o a una solución etanólica de la muestra.

#### Resultados

Colores observados frente a los reactivos: Cloruro férrico: azul-violeta. Liebermann (a 100° C): azul y Ácido nítrico: violeta

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución de Hidróxido de sodio (1 mol/l).

Solución de nitrato de plata (100 g/l).

Solución de ácido clorhídrico (5 mol/l).

Nitrito de potasio (sólido)

Cloroformo

#### Procedimiento

Agregar 1 ml de solución del hidróxido de sodio a 5 ml de muestra y luego 10 ml de cloroformo. Mezclar durante 5 minutos, centrifugar y desechar la fase acuosa superior.

Filtrar el extracto de cloroformo a través de papel de filtro y transvasarlo a un tubo limpio, evaporar a sequedad bajo corriente de aire o nitrógeno y reconstituir el residuo con 1 ml de agua destilada. Agregar 0,5 ml de solución del nitrato de plata a 0,5 ml al extracto reconstituido. A la porción restante del extracto agregar 1 ml de ácido clorhídrico y aproximadamente 1 mg de nitrito de potasio sólido.

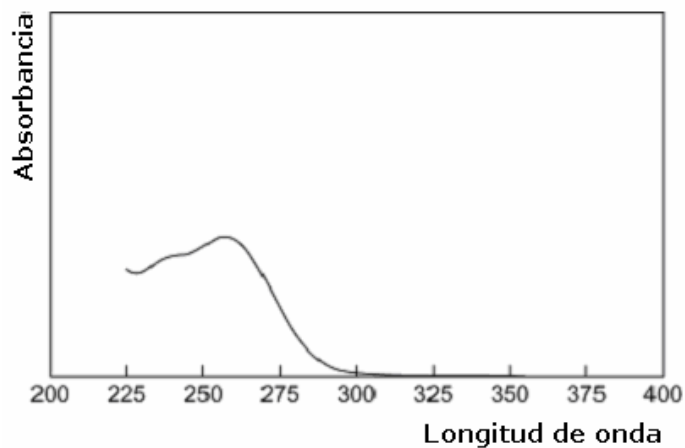
## Resultados

Con el agregado de nitrato de plata, la solución azul se torna negra en presencia de aminofenazona. La presencia del nitrito de potasio le imparte una coloración azul-violeta que rápidamente desaparece.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

## Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico de la aminofenazona en medio ácido el cual presenta un máximo de absorción a 257nm y en medio alcalino a 264 nm. (Figura 5.5)



**Figura 5.5. Barrido al UV de la aminofenazona**

## Cromatografía en capa delgada

La aminofenazona se puede investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CB, CD, CF y CAE.

### Revelado

Solución ácida iodoplatínica: positivo

## 5.4 ANFETAMINAS

### Características

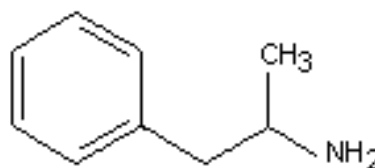
Sinónimos: Anfetamina; Alfa-Metilfenetilamina; Desoxi-nor-efedrina; Bencedrina

Fórmula estructural: C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N

Peso molecular: 135,21

N° CAS 300-62-9

pKa= 10,1.



Estructura Química

### Propiedades Físicoquímicas

La anfetamina es un líquido incoloro, de olor débil y sabor acre, se volatiliza lentamente a temperatura ambiente. Poco soluble en agua destilada, soluble en alcohol y éter, fácilmente soluble en ácidos minerales diluidos.

Otras anfetaminas tienen las siguientes características:

Anfetamina sulfato: PM: 368,49; polvo cristalino, blanco, inodoro, sus soluciones son ácidas al tornasol con pH comprendido entre 5 y 6.

Dexanfetamina sulfato: PM: 368,49; polvo blanco cristalino, inodoro.

Metanfetamina clorhidrato: PM 185,70; cristales o polvo cristalino blanco, inodoro.

### Acción terapéutica

La anfetamina y sus análogos N-metilados, como la metanfetamina, son estimulantes del sistema nervioso central y su uso terapéutico es como anorexígenos y son ampliamente usadas como drogas de abuso.

### Sintomatología clínica

La sobredosis de anfetaminas oral o intravenosa pueden causar hipertermia, convulsiones, coma, falla respiratoria y/o cardíaca, pero la muerte por intoxicación aguda por anfetaminas es rara. El tratamiento es generalmente sintomático y de sostén. La cuantificación en sangre normalmente no se requiere para el manejo de esta intoxicación.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos

Libermann

Marquis

Ninhidrina

#### Reacción de Liebermann

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena, polvos.

**Resultado:** La aparición de un color rojo-naranja indica presencia de anfetaminas

#### Reacción de Marquis

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena, polvos.

**Procedimiento:** colocar una pequeña cantidad de la muestra (1 a 2 mg de polvo o una o dos gotas si se trata de un líquido) en una placa y agregar el reactivo de Marquis gota a gota y no más de tres gotas.

**Resultados:** La aparición de un color anaranjado que cambia al pardo indica la presencia de anfetamina como de metanfetamina.

**Sensibilidad:** 1 µg.

### Reacción con ninhidrina

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena, polvos.

**Reactivos:** ver Anexo 1 preparación de reactivos

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** La aparición de un color rosado-anaranjado luego de calentar indica la presencia de anfetaminas.

### Otros ensayos cualitativos

#### Reactivo de Simon

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena, polvos.

**Procedimiento:** Colocar una pequeña cantidad de la muestra (1 a 2 mg de polvo o una o dos gotas si se trata de un líquido) sobre una placa de toque y agregar una gota de la solución 1 (nitroprusiato y acetaldehído). Agregar a continuación una gota de la solución 2 (solución de carbonato de sodio).

**Resultados:** Produce un color azul la metanfetamina y otras aminas secundarias. La anfetamina y otras aminas primarias producen un color rosado que cambia lentamente a rojo cereza. Este ensayo puede utilizarse para diferenciar la metanfetamina de la anfetamina.

#### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico en medio ácido con picos de máxima absorción a 251 nm, 257 nm y 263 nm. (Figura 5.6)

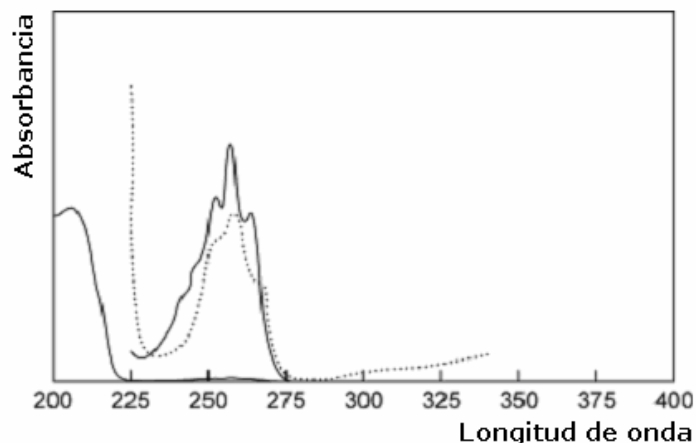


Figura 5.6. Barrido al UV de la anfetamina

### Cromatografía en capa delgada

Las anfetaminas se pueden detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA y CB

#### Revelados

Dragendorff: positivo

FPN: rosado

Solución de iodoplatínico: positivo

Marquis: marrón

Ninhidrina: positivo

Solución ácida de permanganato de potasio: positivo

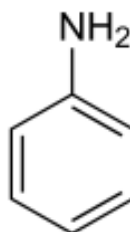
#### Advertencia

Tener mucho cuidado porque la volatilidad de las bases libres de anfetaminas, a la temperatura empleada para la evaporación de los solventes de la placa puede hacer perder la muestra.

## 5.5 ANILINA

### Características

Sinónimos: Fenilamina  
Fórmula estructural:  $C_6H_5NH_2$   
Peso molecular: 93  
N° CAS: 62-53-3  
pKa: 4,6 (25°C)



Estructura Química

### Propiedades fisicoquímicas

Líquido incoloro, oleoso, que se oscurece con el aire, olor penetrante, soluble en éter etílico, alcohol etílico, ligeramente soluble en agua. Base débil que da con los ácidos minerales, sales muy solubles en agua.

### Usos

La anilina se usa principalmente como un intermediario en la fabricación de las tinturas y otros químicos. Se metaboliza a p-aminofenol y p-acetamidofenol que se excretan en orina como sulfato y glucurónidos conjugados. En la orina se produce la hidrólisis de los conjugados y el p-aminofenol es formado nuevamente por lo cual puede detectarse usando la prueba del o-cresol-amoníaco. La anilina y otras aminas aromáticas primarias forman diazo compuestos con el ácido nitroso los cuales se unen con 1-naftiletildiamina para formar derivados muy coloreados. Esta reacción es la base de la prueba confirmatoria descripta a continuación.

### Sintomatología clínica

Normalmente la intoxicación con anilina es el resultado de la inhalación o la absorción dérmica. Los síntomas ocurren dentro de 1-3 horas de exposición e incluyen confusión, náuseas, vómitos y diarrea, convulsiones, coma y daño hepático y renal en los casos severos. Hemólisis, metahemoglobinemia (sangre color chocolate) puede observarse. La metahemoglobina puede ser medida pero es inestable y su determinación en muestras almacenadas es poco confiable.

Las pruebas de la función hepática y renal son esenciales, sin embargo el tratamiento puede incluir azul de metileno intravenoso, pero esto está contraindicado en pacientes con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, por el alto riesgo de inducir hemólisis.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos

Ácido clorhídrico concentrado (d= 1, 18)

Solución acuosa de o-cresol (10 g/l)

Solución acuosa de hidróxido de amonio (4 mol/l)

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico a 0,5 ml de la muestra y colocar en baño maría a 100 °C durante 10 minutos y enfriar. Agregar a 0,2 ml del hidrolizado 1 ml de la solución del reactivo de o-cresol, 2 ml de la solución amoniacal y mezclar 5 segundos.

**Resultado:** Frente al reactivo o-cresol/amoníaco se produce un color azul oscuro

#### Cromatografía en capa delgada

La anilina se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil el sistema: CA

#### Revelados:

Solución ácida de permanganato de potasio: positivo

Van Urk: amarillo brillante



### Ensayo confirmatorio

**Muestras:** Contenido estomacal y residuos de la escena.

**Reactivos:**

Solución de nitrito de sodio (2 g/l preparar en el momento).

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Solución acuosa de sulfamato de amonio (10 g/l).

Solución dihidroclorhídrica de N-(1-naftil) etilendiamina (2 g/l, preparar en el momento).

**Procedimiento:** Mezclar 0,1 ml de solución del nitrito de sodio y 0,2 ml de ácido clorhídrico diluido en un tubo de prueba de 5 ml. Agregar 0,1 ml de muestra, mezclar y dejar descansar 2 minutos. Agregar 0,2 ml de solución de sulfamato de amonio seguidos por 0,1 ml de solución N-(1-naftil) etilendiamina dihidroclorhídrica.

**Resultado:** Una coloración purpúrea después de 1 minuto indica la presencia de anilina.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico en medio ácido con picos de máxima absorción a 229 nm, 255 nm y 261 nm y en medio etanólico a 235 nm y 286 nm. (Figura 5.7)

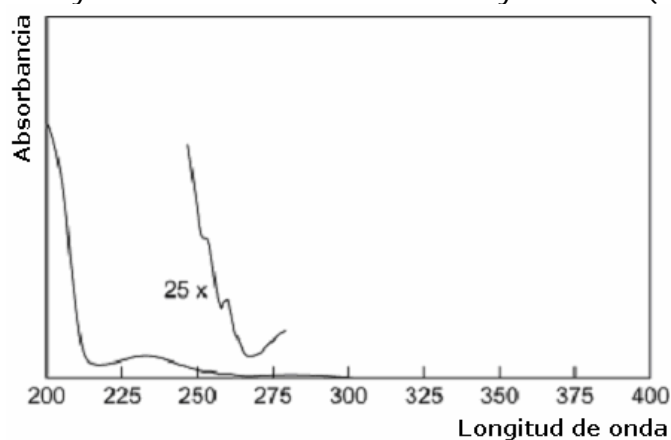


Figura 5.7. Barrido al UV de la anilina

## 5.6 ANTIDEPRESIVOS TRICÍCLICOS

### 5.6.1 AMITRIPTILINA

#### Características

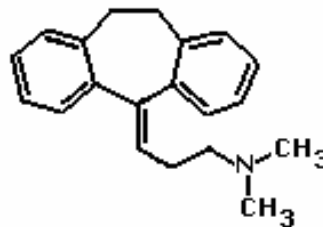
Sinónimos: 3-(10,11-dihidro-5H-dibenzo[*a,d*]cicloheptan-5-ylidene)-*N,N*-dimetilpropilamina

Fórmula estructural: C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N

Peso molecular: 277

N° CAS: 50-48-6

pKa: 9,4 (25°C).



Estructura Química

#### Propiedades fisicoquímicas

Solubilidad: 1 parte en 1 de agua, 1 en 1,5 de etanol, 1 en 56 de acetona, 1 en 1,2 de cloroformo y 1 en 1 de metanol.

#### Acción terapéutica

La amitriptilina es un antidepresivo tricíclico ampliamente usado. Es metabolizado por N-demetilación a nortriptilina, antidepresivo propiamente dicho. La protriptilina es un análogo de amitriptilina.

#### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con amitriptilina y otros antidepresivos tricíclicos pueden causar midriasis, hipotensión, hipotermia, arritmias cardíacas, depresión respiratoria, coma, convulsiones y fallo cardiorrespiratorio. La retención urinaria también es un rasgo de intoxicación con estos compuestos, y esto puede demorar la obtención de la muestra para el análisis apropiado.

El tratamiento es generalmente sintomático y de sostén. El uso de agentes antiarrítmicos debería evitarse, pero puede emplearse alcalinización usando bicarbonato de sodio. La cuantificación en sangre normalmente no se requiere para el manejo de esta intoxicación.

### 5.6.2 NORTRIPTILINA (metabolito de la Amitriptilina)

#### Características

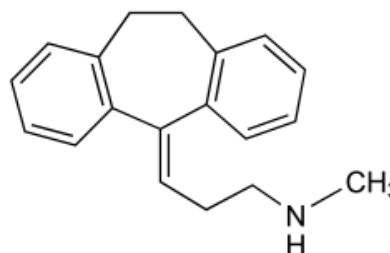
Sinónimos: 3-(10,11-Dihydro-5H-dibenzo[*a,d*]cyclohepten-5-ylidene)-*N*-methyl-1-propanamine

Estructura química: C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N

Peso Molecular=263,4

N° CAS—72-69-5

pKa= 9,7



Estructura Química

#### Acción terapéutica

Es el metabolito de la amitriptilina.

#### Propiedades fisicoquímicas

Solubilidad: 1 parte en 50 de agua, 1 en 10 de etanol y 1 en 5 de cloroformo.

### 5.6.3 IMIPRAMINA

#### Características

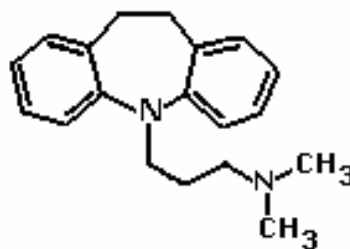
Sinónimos: 3-(10,11-Dihidro-5H-dibenz[b,f]azepin-5-il)-N,N dimetilpropilamina, topramina

Fórmula estructural:  $C_{19}H_{24}N_2$

Peso molecular: masa molecular relativa, 280

N° de CAS: 50-49-7

pKa: 9,5 (24°C).



Estructura Química

#### Acción terapéutica

La imipramina es un antidepresivo tricíclico ampliamente usado; es metabolizado por N-demetilación a desipramina el cual es utilizado también como un antidepresivo. La trimipramina y clomipramina son los análogos de imipramina.

### 5.6.4 DESIPRAMINA

#### Características

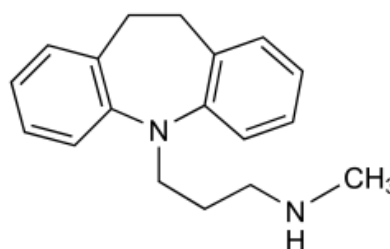
Sinónimos: Desmethylimipramine; DMI; Norimipramine; 10,11-Dihydro-N-methyl-5H-dibenz[b,f]azepine-5-propanamine

Fórmula química:  $C_{18}H_{22}N_2$

Peso molecular = 266,4

N° de CAS: 50-47-5

pKa=10,2 (24°C).



Estructura Química

#### Propiedades fisicoquímicas

Solubilidad: 1 parte en 20 de agua, 1 en 20 de etanol y 1 en 4 de cloroformo; prácticamente insoluble en éter.

## INVESTIGACIÓN DE ANTIDEPRESIVOS

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

FPN; Mandelín; Marquis; Forrest; Ácido sulfúrico; Lieberman

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** En la tabla se indican los resultados que se obtienen frente a los diferentes reactivos.

ENSAYO	MANDELÍN	MARQUIS	FORREST	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	FPN	LIEBERMANN
Amitriptilina	marrón-verde	marrón-naranja	(-)	naranja	(-)	(-)
Desipramina	amarillo? azul	(-)	azul	(-)	(-)	(-)
Imipramina	azul	(-)	azul	(-)	azul	azul
Nortriptilina	marrón? verde	marrón-naranja	(-)	naranja	(-)	(-)

#### Cromatografía en capa delgada

Fase móvil: CA, CB, CC y CE

REVELADOS	DRAGENDORFF	iodo platínico ácido	MARQUIS	FPN
Amitriptilina	(+)	(+)	marrón	(-)
Desipramina	(+)	(+)	azul	azul
Imipramina	(+)	(+)	azul	azul
Nortriptilina	(+)	(+)	marrón	(-)

### Barridos al UV

En medio ácido la amitriptilina presenta un máximo de absorción a 239 nm, la desipramina a 250 nm, la imipramina a 251 y la nortriptilina a 239. En medio alcalino la imipramina tiene un máximo a 252 nm. ( Figura 5.8)

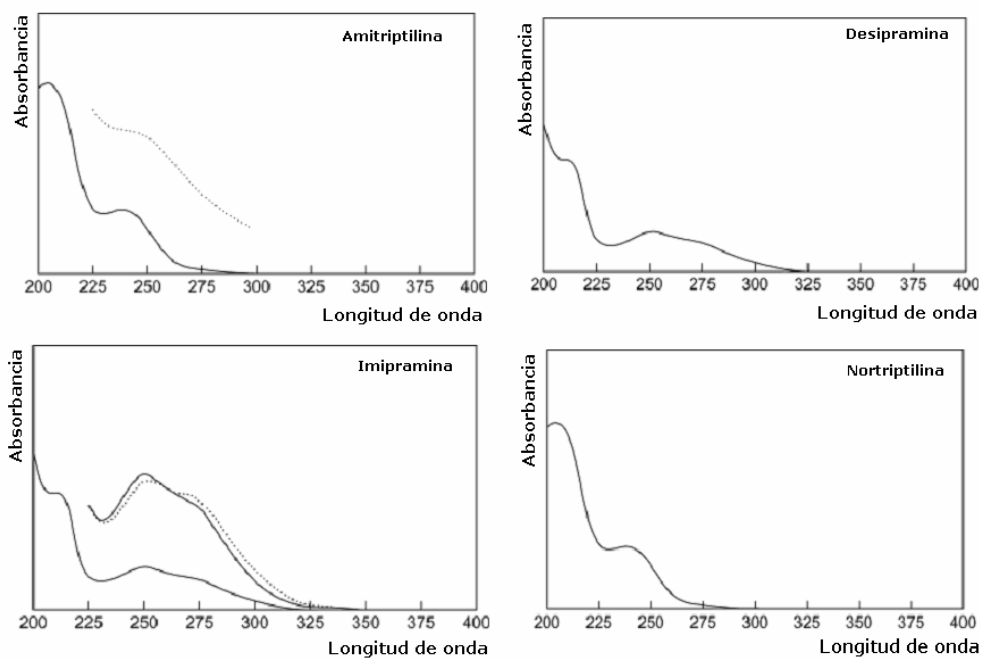


Figura 5.8. – Barridos al UV de los antidepresivos tricíclicos

## 5.7 ANTIMONIO

### Características

Sinónimos: Sbodio

Símbolo químico: Sb

Peso molecular 118,69

Nº CAS: 7440-36-0

### Propiedades fisicoquímicas

El Antimonio (Sb) es un metaloide blanco con brillos azulados, mal conductor del calor y la electricidad. Es insoluble en ácido clorhídrico y sulfúrico diluido. Es atacado lentamente por ácido sulfúrico concentrado y en caliente dando sulfato de antimonio inestable. El mejor disolvente es el agua regia. Con ácido nítrico se convierte en tri o pentóxido de antimonio.

Se usan sales de antimonio en tratamiento de helmintiasis, también se usan en los pigmentos, abrasivos y en telas y materiales resistentes a la llama.

### Acción terapéutica

Las sales de antimonio (Sb) trivalente y el pentavalente se usan parenteralmente en el tratamiento de esquistosomiasis y leishmaniasis. Los medicamentos de antimonio trivalente como tartrato antimónico potásico ya no se utilizan por su elevada toxicidad. Actualmente se emplean el estibogluconato de sodio y antimoniato de meglumina.

### Sintomatología clínica

La administración parenteral de sales de antimonio puede llevar a cardiotoxicidad, colapso y muerte por shock anafiláctico. La intoxicación industrial es normalmente debido a la inhalación de vapores o polvos de los compuestos de antimonio. Los síntomas de una intoxicación aguda por antimonio se parecen a la intoxicación aguda por arsénico e incluye dolor abdominal, vómitos y diarrea.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** Orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Ensayo de Reinsch

##### Reactivos:

Ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Lámina o malla de cobre (5 x 10 mm) o alambre (2-3 cm).

Solución del ácido nítrico (500 ml/l).

##### Procedimiento

Inmediatamente antes de usar la lámina, limpiarla con ácido nítrico hasta que el cobre adquiera una superficie luminosa.

Enjuagar la lámina de cobre con agua destilada, colocarla en un erlenmeyer de 100 ml y agregar 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y 20 ml de solución a investigar.

Calentar en un baño de agua hirviendo, bajo campana, durante 1 hora. Mantener el volumen de la solución agregando ácido clorhídrico diluido cuando sea necesario.

Enfriar y suavemente lavar la laminilla de cobre con el agua destilada.

**Resultados:** Negro purpúreo indica Antimonio

Una estimación de la concentración de antimonio en la muestra puede realizarse por la comparación del depósito en la lámina de cobre con el obtenido con una solución que contiene una concentración conocida del elemento.

**Sensibilidad:** aproximadamente 2 mg/l.

### **Ensayo de la rodamina B**

**Reactivo:** Rodamina B: Disolver 0,01 g de Rodamina B en 100 ml de agua destilada.

**Procedimiento:** La lámina de cobre obtenida mediante el ensayo de Reinsch se introduce en un tubo de ensayo seco, cuyo fondo se calienta vigorosamente; se extrae la laminilla y se deja enfriar bien. Luego se agrega al tubo una gota de ácido clorhídrico concentrado, una gota de nitrito de sodio al 30%. Agitar y dejar dos minutos. Luego agregar tres gotas del reactivo de rodamina B. Si hay Antimonio se observa coloración violeta. Comparar con el color del reactivo, que es rojo. Esta reacción se puede sensibilizar agregando benceno o tolueno y 1ml de agua, agitar, y se observa que la coloración violeta pasa a la fase orgánica, mientras que la coloración debida al reactivo desaparece luego de un cierto tiempo. La reacción indicada debe ser llevada paralelamente con un ensayo de blanco para apreciar debidamente la variación de color.

**Sensibilidad:** 0,5 µg

### **Ensayo confirmatorio**

Aplicable a la lámina de cobre con mancha púrpura oscuro del ensayo de Reinsch.

#### **Reactivos:**

Solución acuosa de cianuro de potasio (100 g/l). Tener cuidado al trabajar con soluciones concentradas de cianuro.

Solución acuosa de sulfito de sodio (50 g/l, preparada recientemente).

Acido nítrico (3 mol/l).

Reactivo de Quinina/Ioduro de potasio: Disolver 1 g de sulfato de quinina en 100 ml de agua conteniendo 0,5 ml de ácido nítrico concentrado (densidad relativa 1,42). Cuando la quinina esté completamente disuelta, agregar 2 g de ioduro de potasio.

**Procedimiento:** Colocar la lámina de cobre manchada en la solución de cianuro de potasio y dejar 10 minutos.

Lavar la mancha no disuelta con agua pura y agregar 1 ml de solución de sulfito de sodio y 1 ml de solución acuosa de ácido nítrico.

Agitar frecuentemente por 5 minutos y agregar 1 ml de agua y 1 ml de reactivo de quinina/ioduro de potasio.

**Resultado:** Las manchas debidas a arsénico se disolverán en la solución de cianuro de potasio, mientras las manchas debidas a bismuto y antimonio no se disolverán. El bismuto lentamente dará una suspensión naranja amarronado con el reactivo de quinina/ioduro de potasio.

## 5.8 ARSÉNICO

### Características

Símbolo químico: As  
Peso molecular 74,92  
N° CAS 7440-38-2

### Descripción general

El Arsénico (As) es un metaloide gris acerado, quebradizo con brillo metálico. Sublima por acción del calor dando olor a ajo. Calentado al aire arde con llama azul produciendo humos blancos de óxido arsenioso ( $As_4 O_6$ ). Todos los compuestos de arsénico son tóxicos. Es insoluble en ácidos clorhídrico y sulfúrico diluidos, se disuelve fácilmente en ácido nítrico diluido dando óxido arsenioso, en ácido nítrico concentrado, agua regia o solución de hipoclorito de sodio dando ácido arsénico.

Varios plaguicidas contienen arsénico (As) en la forma de ácido dimetilarsénico, arsenito, arseniato o sales de metaarseniato. Su producción y venta ha sido prohibida en la Argentina por Resolución Ministerial N° 774/2004. Los compuestos arsenicales también se usan en la fabricación de cerámicas y de vidrio. El gas arsina ( $AsH_3$ ) se usa en ciertos procesos industriales y también puede ser liberado accidentalmente de otros productos arsenicales.

### Sintomatología clínica

La ingestión aguda de sales arsenicales produce dolor abdominal, vómitos y diarrea copiosa, sanguinolenta. La muerte es por colapso circulatorio. La inhalación de arsina produce hemólisis masiva y fallo renal. El tratamiento se realiza con agentes quelantes.

### Laboratorio

Como con el antimonio, bismuto y el mercurio, el arsénico puede detectarse e identificarse con la ensayo de Reinsch. El método descrito a continuación es el ensayo cuantitativo para medir las concentraciones de arsénico urinario. Es un procedimiento modificado por Gutzeit. El fundamento del método se basa en la formación de arsina mediante la reacción con hidrógeno naciente de los compuestos arsenicales presentes en la muestra.

La arsina es transportada por una corriente de hidrógeno, pasa a través de un filtro impregnado con acetato de plomo, para eliminar los compuestos sulfurados, y la arsina es atrapada en un tubo acodado el cual contiene una solución de dietilditiocarbamato de plata en piridina. Este último reactivo pasa de color amarillo a rojo violeta por formación de un complejo coloreado en presencia de arsénico.

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Ensayo de Reinsch

**Muestra:** Orina, vómitos, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos:

Ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Lámina o malla de cobre (5 x 10 mm) o alambre (2-3 cm).

Solución del ácido nítrico (500 ml/l).

**Procedimiento:** Inmediatamente antes de usar la lámina, limpiarla con ácido nítrico hasta que el cobre adquiera una superficie luminosa.

Enjuagar la lámina de cobre con agua destilada, colocarla en un erlenmeyer de 100 ml y agregar 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y 20 ml de solución a investigar.

Calentar en un baño de agua hirviendo, bajo campana, durante 1 hora. Mantener el volumen de la solución agregando ácido clorhídrico diluido cuando sea necesario.

Enfriar y suavemente lavar la laminilla de cobre con el agua destilada.

**Resultados:** Las manchas en el cobre de color negro mate (sin brillo) indica presencia de Arsénico

**Sensibilidad:** 5 mg/l.

## Otras reacciones

### Reactivos

Solución de cianuro de potasio (100 g/l). Trabajar con el cuidado que requieren las soluciones concentradas de cianuros.

**Procedimiento:** Colocar la laminilla de cobre en la solución de cianuro de potasio y dejar por 10 minutos.

**Resultado:** Las manchas de arsénico se disuelven en la solución de cianuro de potasio mientras las manchas debido al bismuto y antimonio no lo hacen.

**Sensibilidad:** 5 mg/l.

## Ensayo cuantitativo

**Muestras:** orina y agua.

### Reactivos:

Solución de dietilditiocarbamato de plata (5 g/l) en piridina.

Solución de acetato de plomo (200 g/l).

Cloruro de estaño (II) (330 g/l) en solución de ácido clorhídrico (200 ml/l)

Ácido clorhídrico concentrado (densidad 1,18 relativa).

Ioduro de potasio (sólido).

Zinc granulado (libre de arsénico).

**Testigos:** Disolver 2,4 g de tricloruro de arsénico en 1 litro de ácido clorhídrico diluido (1 mol/l); esto da una solución que contiene una concentración de arsénico de 1 g/l. Diluir con agua destilada para dar soluciones que contienen concentraciones de arsénico de 0,5; 2,0; 5,0 y 10,0 mg/l.

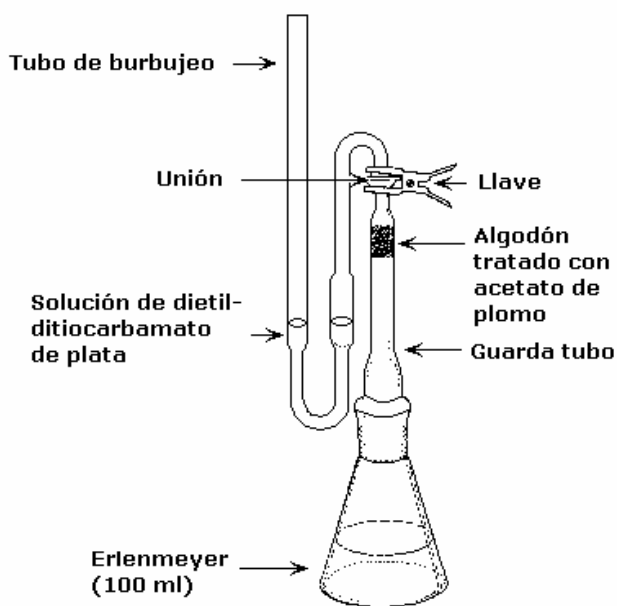


Figura 5.9. – Aparato de Gutzeit

### Preparación previa de la muestra de orina mediante mineralización por vía húmeda:

En un balón de Kjeldhal de 500 ml de vidrio borosilicato colocar 50 ml de orina, 30 ml de ácido nítrico concentrado, 4 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de ácido perclórico.

Procesar simultáneamente un blanco de reactivos, colocando en otro balón de Kjeldhal 50 ml de agua destilada en lugar de la muestra. Una vez concluido el agregado de los ácidos, colocar los balones Kjeldhal sobre tela de amianto e iniciar el calentamiento en forma lenta. Controlar el mismo en forma periódica para evitar la carbonización de la materia orgánica.

A medida que el material es oxidado, se observa una abundante producción de vapores nitrosos (de color rojizo) y una disminución paulatina del volumen inicial. La mineralización concluye cuando ha desaparecido todo resto de material orgánico pero el tratamiento debe seguirse hasta eliminar el exceso de oxidante (producción franca de humos blancos densos de  $\text{SO}_3$ ). Dejar enfriar y proceder a efectuar tres lavados con 10 ml de agua destilada cada vez, concentrando el volumen aproximadamente a 4 ml en cada lavado. Dejar enfriar.



**Importante:** debe evitarse la carbonización de la materia orgánica durante todo el proceso porque el arsénico se volatilizará. Esto se logra manteniendo las condiciones oxidantes del medio (exceso de ácido nítrico).

### **Otro procedimiento de mineralización** **Mineralización por vía seca (dry ashing)**

#### **Drogas y solventes**

Agua grado Milli-Q 17.8 m

MgO calidad p.a.

Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O calidad p.a.

HNO<sub>3</sub> grado analítico

#### **Preparación de reactivos**

- Agente de ashing: (MgO 2 %, (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Mg.6 H<sub>2</sub>O 20 % en agua Milli-Q) Pesar 2 g de MgO y 20 g de (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Mg.6 H<sub>2</sub>O. Llevar a volumen final de 100 ml con agua calidad Milli-Q.

Disolver las drogas utilizando un agitador magnético, ya que el MgO precipita fácilmente. Mantener en agitación continua, hasta y durante, el agregado a las muestras.

- Solución pre-reductora: (IK 5% P/V, ácido ascórbico 5 % P/V en agua Milli-Q) Pesar 5g de IK y 5g de ácido ascórbico y llevar a volumen final de 100 ml con agua calidad Milli-Q.

#### **Procedimiento de la mineralización**

En un vaso de precipitado de 50 ml Pyrex colocar 10 ml de orina, adicionar 10 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado, bajo campana, y 3 ml de agente de ashing (mantener este reactivo en agitación constante con agitador magnético).

Paralelamente procesar blanco de mineralización utilizando 10 ml de agua en lugar de muestra Homogeneizar cuidadosamente y llevar a baño de arena. Reducir hasta sequedad. Debe observarse el fondo del vaso y verificarse la total sequedad del residuo.

Colocar los vasos en la mufla, cubrirlos con un vidrio Pyrex, cerrar el horno, fijar la temperatura en 450 ° C y mantenerla durante 12 horas.

Apagar la mufla y abrirla, esperar que los vasos lleguen a temperatura ambiente antes de retirarlos.

Una vez retirados los vasos de la mufla agregarles: 5 ml de HCl 6 N, (mezclar) y 5 ml de la solución pre-reductora, homogeneizar cuidadosamente y dejar reposar 30 minutos.

Trasvasar cuantitativamente a matraz de 25 ml, lavar el vaso con porciones de 5 ml de HCl 6 N (50 % V/V) cada vez, hasta completar a volumen.

**Aclaraciones:** El agregado del agente de ashing permite aumentar la temperatura de carbonización, para lograr una mineralización completa, sin pérdidas del analito.

Las muestras reconstituídas luego de efectuada la mineralización, y los testigos son estables 24 hs. a 4° C.

**Procedimiento cuali- cuantitativo:** Limpiar el aparato de Gutzeit modificado ( Figura 5.9) con acetona y secar.

Embeber lana de vidrio o algodón en solución de acetato de plomo y dejar que se seque a temperatura ambiente.

Colocar la lana de vidrio o algodón tratado en la parte superior del extremo del tubo de seguridad (capilar) en forma floja de modo que deje pasar la arsina.

Colocar 3 ml de solución de dietilditiocarbamato de plata en el tubo acodado.

Agregar 2 g de yoduro de potasio y 50 ml de muestra o de mineralizado (la orina requiere previa mineralización sulfo-nitroperclórica) en el erlenmeyer de 100 ml del equipo, mezclar hasta disolución, agregar 2 ml de la solución del cloruro de estaño y 10 ml de ácido clorhídrico concentrado.

Mezclar bien, agregar 10 g de zinc granulado y rápidamente armar el aparato, conectando el tubo en U que contiene el dietilditiocarbamato de plata controlando que no halla pérdida en las uniones. Dejar desprender hidrógeno durante 45 minutos a temperatura ambiente.

Desconectar el equipo y suavemente disolver cualquier complejo formado en las paredes del tubo en U, mezclando minuciosamente la solución.

**Resultados:** En presencia de arsina el reactivo argéntico modifica paulatinamente su color hasta adquirir un tono rojo por formación de un complejo coloreado.

Determinar la absorbancia de la solución a 540 nm contra blanco de reactivo y calcular la concentración de arsénico usando una curva de calibración previamente preparada. Es lineal hasta concentraciones de arsénico de 10 mg/l.

El germanio y antimonio interfieren en este ensayo.

**Sensibilidad:** 0,5 mg/l.

## 5.9 ATENOLOL

### Características

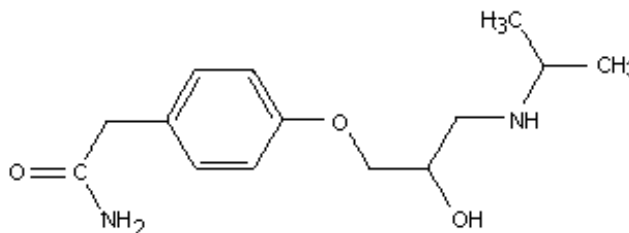
Sinónimos: 2-[4-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)fenil]acetamida

Fórmula estructural:  $C_{14}H_{22}N_2O_3$

Peso molecular 266

N° CAS: 29122-68-7

pKa: 9,6 (24 °C)



Estructura Química

### Propiedades Fisicoquímicas

El Atenolol es hidrofílico, con un coeficiente de partición ( $\log P_{\text{octanol}}$ ) de 0,23. Su punto de ebullición es de 152-155 °C. Es poco soluble en agua, soluble en etanol/agua e insoluble en éter.

### Descripción general

El atenolol es un agente bloqueante  $\beta$ -adrenérgico (beta-bloqueante) cardioselectivo utilizado en el tratamiento de la hipertensión.

### Sintomatología clínica

En dosis excesivas, el atenolol puede causar broncoconstricción, hipotensión y fallo cardíaco. El tratamiento es sintomático y de sostén, y puede incluirse el uso de  $\beta$ -agonistas. No se requiere normalmente la cuantificación en sangre de este compuesto para su tratamiento.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** Liebermann y Nessler

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Color observado frente al reactivo de Liebermann: negro y Nessler: amarillo-marrón (ligero)

#### Cromatografía en capa delgada

El atenolol se puede investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CB, CC, CE y CAE

**Revelado:** Solución ácida iodoplatínica: positivo

#### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico (figura 5.10) en medio ácido con picos de máxima absorción a 274 nm, 280 nm.

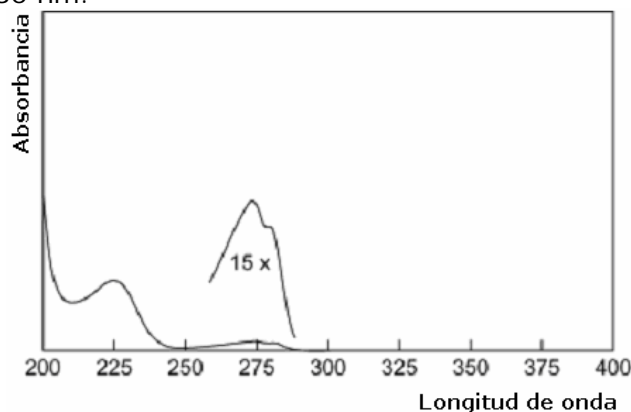


Figura 5.10. – Barridos al UV del atenolol

## 5.10 ATROPINA

### Características

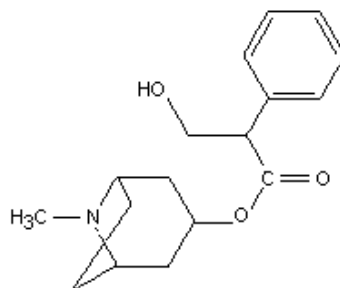
Sinónimos: (1R,3R,5S)-tropan-3-yl(±)- tropato, (±)-Hyoscyamine

Fórmula estructural: C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>

Peso molecular: 289

N° CAS: 51-55-8

pKa : 9,9 (20°C).



Estructura Química

### Descripción general

La atropina es un alcaloide que se encuentra en las plantas como *Atropa belladonna* y *Datura stramonium*. Tiene actividad anticolinérgica potente y produce reducción de las secreciones bronquiales y salivales antes de la anestesia. Se la utiliza para tratar los espasmos gastrointestinales y para producir midriasis en procedimientos oftálmicos.

La atropina también se usa como antídoto en intoxicaciones con inhibidores de colinesterasa, como plaguicidas organofosforados y carbamatos y algunos agentes químicos de guerra. Generalmente se usa como sulfato de atropina, cristales incoloros o blancos o polvos cristalinos inodoros. Se descompone por encima de los 190 °C.

La atropina es muy potente y la dosis de 10 mg o más pueden causar severa intoxicación.

Puede ser identificado por cromatografía en capa delgada a partir de la orina, del contenido estomacal o de los residuos de la escena mediante una extracción con solventes apropiados

### Sintomatología clínica

La dosis excesiva de atropina puede causar piel seca, caliente y enrojecida, dificultad en la micción urinaria, sed, sequedad bucal pronunciada, taquicardia, hipertensión, pirexia, delirio y alucinaciones. La fisostigmina es un eficaz antídoto. No se requiere normalmente la cuantificación en sangre de este compuesto durante su tratamiento.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** Liebermann

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultado** frente al reactivo de Liebermann: rojo-naranja

**Otras Reacciones de color** (propuestas en "Basic tests for Pharmaceutical Substances", WHO 1986)

**Reactivo:** Disolver 40 g de hidróxido de potasio en 20 ml de agua y agregar etanol hasta 1000 ml. Dejar reposar una noche y separar el líquido límpido.

**Procedimiento:** A unos 10 mg del producto (residuo en escena) se adiciona 3 gotas de ácido nítrico (1000 g/l) y se evapora a sequedad en baño de agua. Enfriar el residuo y agregar 2 ml de acetona y 3 ó 4 gotas de hidróxido de potasio en etanol

**Resultado:** en presencia de atropina se observa un color violeta oscuro.

**Reactivos:** ácido clorhídrico (70 g/l) y cloruro de bario (50 g/l).

**Procedimiento:** Disolver 10 mg del producto sospechoso en 2 ml de agua y agregar unas gotas de ácido clorhídrico (70 g/l) y unas gotas de cloruro de bario (50 g/l).

**Resultado:** Se forma un precipitado blanco en presencia de atropina.

### **Cromatografía en capa delgada**

La atropina se puede investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CB, CC, CE y CAE

#### **Revelado:**

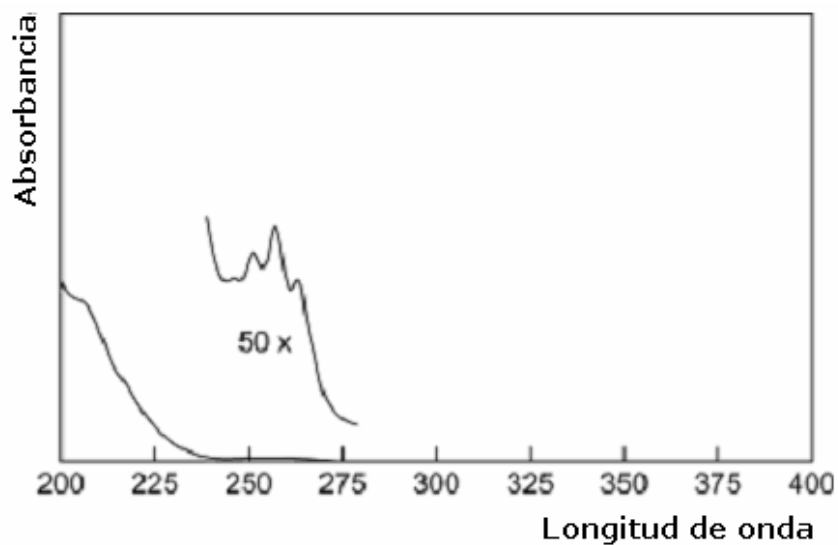
Solución ácida iodoplática: positivo

Dragendorff: positivo

Marquis: rosado

### **Barrido al UV**

Se puede obtener un espectro característico en medio ácido (figura 5.11) con máximos de absorción a 258 nm y 264 nm.



**Figura 5.11. – Barrido al UV de la atropina**

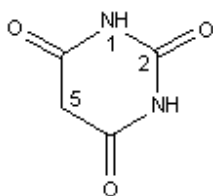
## 5.11 BARBITÚRICOS

### Características

Los barbitúricos son derivados del 5,5'-disustituido del ácido barbitúrico. Además, el átomo de nitrógeno en posición 1 puede estar metilado como en el metilfenobarbital, mientras la sustitución de azufre por el oxígeno en posición 2 da el tiobarbiturato como el tiopental.

Barbitúricos	Nombre químico	Peso molecular
Amobarbital	5-etilo- 5 - ácido isopentilbarbitúrico	226
Barbital	Acido dietilbarbitúrico	184
Pentobarbital	5-etilo- 5 (1-metilbutil) ácido barbitúrico	226
Fenobarbital	5-etilo- 5 - ácido fenilbarbitúrico	232
Secobutabarbital	5-n-Butil- 5 - ácido etilbarbitúrico	212
Secobarbital	5-Alil-5-(1-metilbutil) ácido barbitúrico	238
Tiopental	5-etilo-5-(1-metilbutil)-2- ácido tiobarbitúrico	242

### Ácido Barbitúrico



Estructura Química

### Propiedades Físicoquímicas

Son sólidos cristalinos (de punto de fusión generalmente elevado), muy poco solubles en agua pura, solubles en alcohol, éter y solventes clorados. Prácticamente solubles en hidrocarburos alifáticos y aromáticos. Solubles en agua en medio alcalino (muy solubles por encima del pH 11), debido a la ionización de sus dos grupos aminos.

La absorción UV de las soluciones acuosas de barbitúricos está íntimamente ligada a su pH. Las formas no ionizadas solo absorben muy débilmente. Esta observación constituye la base de los diversos métodos de determinación espectrofotométricos.

Otros barbitúricos que se pueden encontrar incluyen el ciclobarbital, el ciclopentobarbital, heptabarbital, hexobarbital, metohexital y el vinbarbital. El ácido barbitúrico como tal ya no se usa.

### Acción terapéutica

Los barbitúricos son hipnóticos y sedantes potentes, pero en muchos países sólo el fenobarbital y el tiopental (intravenoso) se utilizan. También pueden usarse los barbitúricos para eutanasia en medicina veterinaria, y se usa el barbital sódico como buffer en los laboratorios.

### Sintomatología clínica

En la intoxicación aguda puede ser importante determinar si el barbitúrico implicado es un barbital o fenobarbital (barbitúricos llamados de acción larga), o se trata de compuestos de acción corta o media. Esto es importante porque una diuresis alcalina puede reforzar la excreción del barbital y del fenobarbital, pero no de otros barbitúricos.

Los barbitúricos son muy tóxicos en dosis excesiva y puede causar vasodilatación periférica, hipotensión, shock, hipoventilación, hipotermia, coma, convulsiones y daño renal agudo. La muerte normalmente sobreviene por paro respiratorio o cardiorrespiratorio o complicaciones respiratorias. Las concentraciones de barbitúrico en plasma mayores que 10 mg/l (50 mg/l de barbital y fenobarbital) pueden asociarse con toxicidad aguda.

Las dosis orales repetidas de carbón activado y/o diuresis alcalina pueden ser importantes en la intoxicación severa con el barbital y fenobarbital.

## Laboratorio

### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** Parry-Koppanyi y Zwikker

#### Procedimiento:

- Parry-Koppanyi: Agregar la solución de nitrato cobaltoso a unas gotas del extracto en placa de toque. Agregar una gota de solución de isopropilamina.
- Zwikker: Agregar 0,5 ml de la solución de sulfato de cobre a una fracción del residuo de la muestra o a 0,5ml del extracto en un tubo de ensayo. Incorporar igual volumen de solución clorofórmica de piridina.

**Resultados:** frente al reactivo Parry-Koppanyi: violeta y al reactivo de Zwikker: rojo-violeta

### Cromatografía en capa delgada

Se realiza la cromatografía en capa delgada a partir de un extracto orgánico ácido de orina, contenido estomacal o residuos de la escena. (Ver capítulo Cromatografía en capa delgada). Esto también permite la identificación del tipo de barbitúrico presente.

Los barbitúricos se pueden investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil el sistema: CD

#### Revelado

A la luz UV

Cloruro de mercurio- difenilcarbazona

Nitrato de plata: blanco

Permanganato de potasio: Tiobarbitúricos y barbitúricos con cadena larga insaturada dan color amarillo con fondo violeta.

Zwikker: barbitúricos, púrpura; Tiobarbitúricos, verde.

### Ensayo cuantitativo

El método indicado a continuación permitirá medir el barbitúrico total en un extracto de la muestra y ver el cambio espectral característico mostrado por los barbitúricos a pH 11 y a pH 2, para lo cual se necesita un espectrofotómetro UV de doble haz.

**Muestras:** sangre entera, plasma o suero (5 ml).

#### Reactivos

Buffer borato, pH 8,4. Mezclar 22,4 g de tetraborato disódico con 76 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico (1 mol/l) y diluir a 2 litros con agua destilada.

Solución acuosa de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Acido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83).

Hidróxido de amonio concentrado (densidad relativa 0,88).

Mezcla sulfato de sodio/carbón activado. Agregar 100 mg de carbón activado a 100 g de sulfato de sodio anhidro, mezclar completamente y calentar en una cubeta, para secar la mezcla, a 100°C durante 8 horas. Enfriar y guardar en un frasco hermético oscuro.

**Testigos:** Preparar soluciones de barbital en las concentraciones de 5, 10, 25 y 50 mg/l en plasma humano (blanco), a partir de una solución acuosa de barbital sódico que contenga 1,12 g/l, equivalente a ácido dietilbarbitúrico en una concentración de 1,00 g/l.

**Procedimiento:** Colocar 5 ml de muestra en una ampolla de decantación de 250 ml de capacidad, y agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 60 ml de éter dietílico (con cuidado).

Lubricar con agua destilada el tapón de la ampolla, tapar y mezclar por inversión durante 2 minutos. Purgar cada tanto la ampolla para evitar proyecciones de la tapa y líquidos.

Dejar descansar 5 minutos y desechar la capa inferior, fase acuosa, por la parte inferior de la ampolla donde está la llave.

Pasar el extracto obtenido en éter dietílico a una segunda ampolla de separación conteniendo 10 ml de buffer borato y mezclar durante 1 minuto.

Dejar descansar 5 minutos y nuevamente desechar la fase acuosa inferior por el vástago de la ampolla.

Lavar la ampolla con 5 ml de agua destilada, dejar decantar 5 minutos y nuevamente desechar la fase acuosa.

Agregar aproximadamente 4 g de la mezcla de sulfato de sodio/carbón activado a la fase etérea de la ampolla, agitar y filtrar el extracto a través de papel de filtro recogiendo en un erlenmeyer de 150 ml de capacidad.

Agregar 20 ml de éter etílico a la ampolla de decantación, agitar y reunir al extracto orgánico anterior pasando primero a través de un papel de filtro.

Evaporar el extracto a sequedad en un baño de agua a 40°C o bajo una corriente de aire o nitrógeno.

Agregar 5 ml de agua destilada al extracto seco en el erlenmeyer, mezclar suavemente y dejar descansar 5 minutos.

Filtrar el extracto reconstituído a través de papel de filtro y recoger en un tubo de 12,5 cm.

Verificar que el espectrofotómetro esté en 0 a 240 nm con agua destilada en ambas posiciones, tanto en la muestra y como en referencia.

Agregar 4 ml de filtrado de la muestra en una cubeta limpia y seca, agregue 50 µl de hidróxido del amonio concentrado y mezcle con una varilla de plástico. Controlar que el pH sea aproximadamente 10 (con papel indicador universal).

Rápidamente medir la absorbancia a 240 nm contra el blanco de agua destilada. Si fuera necesario, diluir con exactitud una porción del extracto con agua destilada y leer nuevamente. Si se dispone de un espectrofotómetro de barrido espectral hacerlo entre 200 – 450 nm.

Repetir la lectura o realizar un barrido después de 5 minutos.

Agregar 0,1 ml de ácido sulfúrico concentrado a la cubeta correspondiente a la muestra, mezclar usando una varilla plástica y controlar que el pH sea aproximadamente 2 (con papel indicador universal). Repetir la lectura (240 nm) o realizar un barrido entre (200-450 nm).

**Resultados:** Varios compuestos pueden interferir. La glutetimida es hidrolizada rápidamente a valores de pH alcalinos, de modo que la absorbancia a 240 decrecerá notablemente después de 5 minutos a pH 11, si este compuesto está presente. La presencia de otros compuestos, como metaqualona o fenazona (por ejemplo, dicloralfenazona), puede revelarse barriendo en la región 200-450 nm. Agregando 0,1 ml de hidróxido de sodio a 2 mol/l al extracto amoniacal se produce un cambio espectral característico que puede ser útil en el trabajo cualitativo.

Para realizar la cuantificación, se mide la diferencia entre la absorbancia a pH 10 y a pH 2, se construye el gráfico de calibración con el análisis de las soluciones estándares del barbitúrico y se calcula la concentración del barbitúrico en la muestra.

Alternativamente se puede usar la fórmula siguiente:

$$\text{cc. de Barbituratos en mg/l} = (\text{Absorbancia a pH 10} - \text{Absorbancia a pH 2}) \times \text{factor de dilución} \times 25$$

Se puede trabajar con volúmenes más pequeños que 5 ml pero se debe contar con las cubetas y equipamiento apropiado para ello.

**Sensibilidad:** 2 mg/l.

### Barrido al UV

Se puede obtener espectros característicos a pH 2, 10 y 14 de acuerdo a lo que se indica en la figura 5.12.

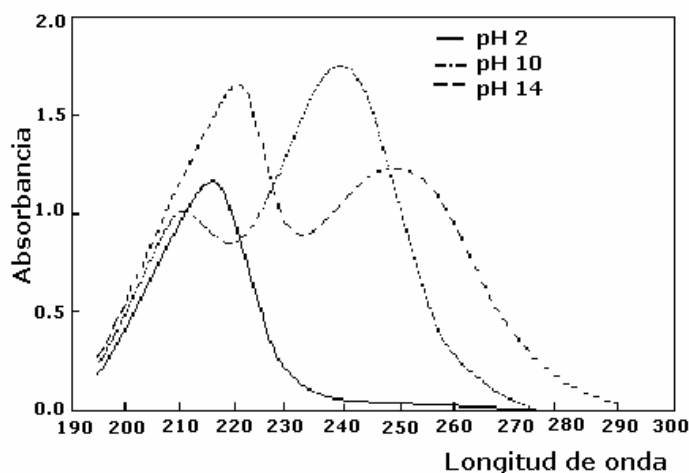


Figura 5.12. – Barridos al UV de los barbitúricos

## 5.12 BARIO

### Características

Símbolo químico: Ba  
Peso molecular 137,34  
Nº CAS 7440-39-3.

### Descripción general

Es un metal blanco plateado, maleable, dúctil, estable al aire. A temperatura ambiente reacciona con el agua dando hidróxido de bario y libera hidrógeno. El metal se disuelve en ácidos liberando hidrógeno.

La fuente más importante de bario (Ba) es el sulfato del bario ( $\text{BaSO}_4$ ) que es sumamente insoluble en agua. Las sales de bario, como el nitrato del bario ( $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ ) y el cloruro de bario ( $\text{BaCl}_2$ ), son más solubles y tienen varios usos industriales y son relativamente tóxicas. El sulfuro de bario (BaS) ha sido empleado como agente depilatorio.

### Sintomatología clínica

La ingestión de sales del bario solubles puede producir gastroenteritis, fibrilación ventricular y parálisis muscular. La hipocalcemia es un rasgo importante en las intoxicaciones agudas graves de bario.

### Laboratorio

No existe un método simple para la medición de Bario en material biológico. De todos modos la prueba descrita a continuación puede utilizarse para indicar la presencia de sales de bario en contenido estomacal u otras muestras que contienen relativamente concentraciones altas de este elemento.

La prueba confirmatoria se basa en el hecho que el sulfato de plomo es relativamente soluble en ácido acético diluido pero se precipita en presencia de sales de bario solubles. Esto refuerza eficazmente la sensibilidad de la reacción entre el bario y los iones sulfato.

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

### Reactivos

Acido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).  
Alambre de platino.

**Procedimiento:** Introducir el extremo del alambre de platino en el ácido concentrado. El extremo humedecido del alambre se lo introduce en el material de la prueba. Colocar el material en la parte caliente de la llama en un mechero de Bunsen.

**Resultados:** Una llama amarillo-verdosa indica presencia de sales del bario. Las sales de cobre y de talio dan una llama verde en este ensayo. Si existen concentraciones elevadas de sales de sodio, una coloración amarillo anaranjada interfiere en el ensayo.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

### Otras reacciones

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

### Reactivos:

Solución acuosa de ácido sulfúrico (1 mol/l).  
Solución de acetato de plomo (100 g/l).  
Solución de ácido acético (50 ml/l).  
Acetato de amonio (sólido).



**Procedimiento:** Solución de sulfo-acetato de plomo: Mezclar 2 ml de solución de acetato de plomo y 2 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar acetato de amonio en cantidad suficiente para disolver el precipitado de sulfato de plomo.

Agregar 0,1 ml de ácido acético diluido a 1 ml de muestra, y 1 ml de la solución de sulfo-acetato de plomo y mezclar por 5 segundos. Centrifugar durante 2 minutos y observar el tubo sobre fondo negro.

**Resultados:** Una turbidez blanca o un precipitado blanco indican la presencia de bario. El calcio y estroncio interfieren en esta prueba.

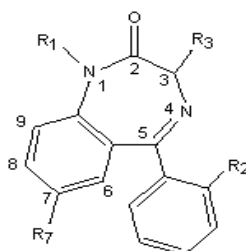
**Sensibilidad:** 100 mg/l.

## 5.13 BENZODIAZEPINAS

### Descripción general

En general son polvos blancos, cristalinos, inodoros, que funden por encima de los 200°C. Son poco solubles en agua y solubles en solventes orgánicos, alcohol etílico, cloroformo y éter etílico. Son solubles en agua sus sales y clorhidratos. Las benzodiazepinas son drogas frecuentemente utilizadas por sus propiedades hipnótico-sedantes, ansiolíticas, anticonvulsivantes y miorrelajantes. Actualmente se han sintetizado más de 2000 estructuras y más de 100 se han probado experimentalmente.

Su nombre deriva de su estructura química, constituida por un anillo bencénico y un anillo diazepínico. El sustituyente arilo del C5 se lo encuentra en las benzodiazepinas más comúnmente utilizadas y es por ello que también se lo considera dentro de la estructura básica.



Estructura Química

Benzodiazepina	Nombre químico	Peso molecular
Clordiazepóxido	7-Cloro-2-metilamino-5-fenil-3-H1,4-benzodiazepina 4-óxido	300
Clobazán	7-Cloro-1-metil-5-fenil-1H-1,5benzodiazepina-2,4(3H,5H)-diona	301
Clonazepán	5-(2-Clorofenil)-1,3-dihidro-7-nitro-2-H1,4-benzodiazepina-2-ona	316
Diazepán	7-Cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-uno	285
Flurazepán	7-Cloro-1-(2-dietilaminoetil)-5-(2fluorofenil)-1,3-dihidro-2H-1,4 benzodiazepina-2 ona	388
Lorazepán	7-Cloro-5-(2-clorofenil)-1,3-dihidro-3-hidroxi-2,H-1,4-benzodiazepina-2-ona	321
Nitrazepán	1,3-Dihidro-7-nitro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona	281
Oxazepán	7-Cloro-1,3-dihidro-3-hidroxi-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona	287
Temazepán	7-Cloro-1,3-dihidro-3-hidroxi-1-metilo-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona	301

Según el tiempo de vida media las benzodiazepinas, se clasifican:

- De acción ultracorta (menor de 5 hs)
- De acción corta o intermedia (6-12 hs)
- De acción prolongada (mayor de 12 hs)

Las benzodiazepinas sufren metabolismo hepático y se excretan en la orina conjugadas con el ácido glucurónico.

### Acción terapéutica

Las benzodiazepinas se utilizan como tranquilizantes: como el clobazán, clonazepán. El diazepán se utiliza como anticonvulsivante. Se ha descrito abuso de estas sustancias especialmente del temazepán y a menudo junto con otras drogas.

## Sintomatología clínica

La automedicación ha aumentado los casos de intoxicación aguda con benzodiazepinas. En los adultos, causa adormecimiento, confusión, ataxia, alteración en el habla, incoordinación y a veces coma. La depresión respiratoria es rara en los adultos exceptuando el fluracepán. Sin embargo, la depresión respiratoria puede ocurrir si la enfermedad respiratoria ya está presente, y en los niños pequeños y ancianos. Las benzodiazepinas también tienen efecto de depresión respiratoria sinergista cuando se ingiere etanol u otro depresor del sistema nervioso central. El tratamiento es sintomático y de sostén.

En caso de sobredosis con benzodiazepinas, se utiliza como antídoto el flumazenil. Esta droga desplaza a las benzodiazepinas de su sitio de acción, permitiendo realizar, a su vez, una rápida identificación de la intoxicación.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

Es aconsejable realizar sobre una fracción de la orina la hidrólisis a benzofenona. La transformación a benzofenona se realiza en un medio fuertemente ácido durante una hora a 100 °C. Luego se lleva a pH alcalino con NaOH 30% y se la extrae con cloroformo.

### Hidrólisis a benzofenonas

Mezclar 3 ml de ácido clorhídrico concentrado y 10 ml de muestra en un tubo de vidrio de 30 ml de capacidad con tapa.

Colocar bajo campana, en baño maría durante 30 minutos.

Enfriar y agregar 10 ml de cloroformo, tapar el tubo y rotar cuidadosamente durante 10 minutos.

Centrifugar durante 5 minutos y transferir la capa superior, orgánica, a un tubo limpio.

Evaporar el extracto a sequedad para luego investigar por CCD.

### Cromatografía en capa delgada

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

**Procedimiento:** Las benzodiazepinas se pueden investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CB, CC, CF y Cloroformo

Mientras que para las benzofenonas se utilizan: CC, CD, Tolueno y Tolueno: isopropanol: amoníaco (85:15:1)

### Revelado para benzodiazepinas

Luz UV (generalmente fluorescencia azulada)

Ácido clorhídrico al 10%

Aumento de fluorescencia al UV

Dragendorff: positivo

### Revelado para benzofenonas

- Formación de base de Schiff mediante la reacción de Bratton-Marshall

- Tricloroacético al 15% y para-dimetil-amino-cinamaldehído (p-DMCA) al 1% en metanol

### Resultados de benzofenonas:

- Reacción de Bratton-Marshall: todas las benzodiazepinas capaces de formar benzofenonas reaccionan formando una base de schiff de color rosado, excepto el diazepán que da color amarillo.

- Con el revelado de tricloroacético y p-DMCA se pueden distinguir algunas benzodiazepinas debido a que forman compuestos coloreados de sus benzofenonas, como se muestra en tabla siguiente:

Benzofenona de	Color
nitrazepán	amarillo + aureola celeste
clordiazepóxido	violeta
bromazepán	marrón
flunitrazepán	amarillo
clonazepán	celeste
diazepán	fucsia

oxazepán	violeta
medazepán	incoloro
lorazepán	incoloro
triazolán	incoloro

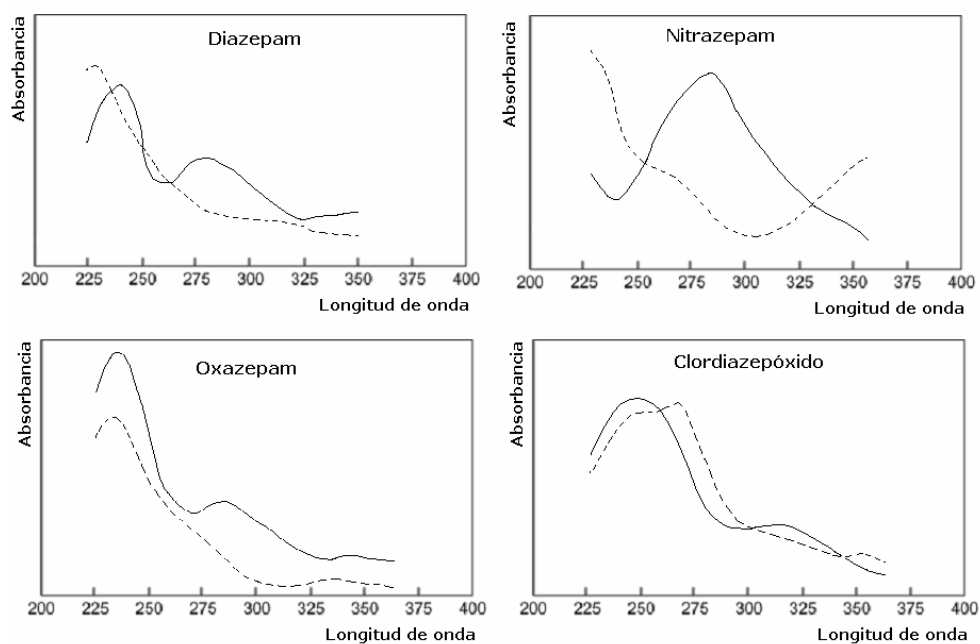
Es conveniente utilizar sulfatiazol como testigo en la corrida, ya que con el mismo se comparan las benzodiazepinas, agrupándolas según su Rf sea mayor, menor o igual que el Rf del sulfatiazol.

La interpretación de los resultados puede ser difícil ya que muchos compuestos dan metilaminoclorobenzofenonas y/o el aminoclorobenzofenonas por hidrólisis de orina. Por ejemplo, puede que no sea posible diferenciar entre temazepán u oxazepán y diazepán o nordazepán ya que estos compuestos dan una estructura química similar de benzofenonas.

Los siguientes compuestos no forman benzofenonas por hidrólisis: medazepán, triazolán, clobazán, norclobazán y midazolán.

### Barrido al UV

Para las benzodiazepinas se realiza en medio ácido, y se obtienen dos picos (dos máximos de absorción y un mínimo) que son característicos de cada benzodiazepina.



**Figura 5.13. – Barridos al UV de algunas benzodiazepinas**

Las benzofenonas también poseen espectros característicos. La sensibilidad y selectividad de este método puede mejorarse usando un medio micelar, provocando así un cambio batocrómico o hiperocrómico en el espectro. Está demostrado que el agregado de surfactantes aniónicos a las benzodiazepinas en sulfúrico diluido mejora la determinación espectrofluorométrica. En el caso de las benzofenonas se produce un efecto batocrómico cuando se les agrega Nemol k 1030 (óxido de etileno)

La presencia de otros metabolitos que absorben en la zona, pueden interferir restándole importancia al pico de la droga.

## 5.14 BISMUTO

### Descripción general

El bismuto (Bi) tiene usos industriales en pigmentos y en la producción de aleaciones. En medicina, las principales aplicaciones son las sales del bismuto, tal como el subsalicilato de bismuto, para el tratamiento gastrointestinal de gastritis, úlcera péptica y diarrea. Como con el antimonio, el arsénico y el mercurio el bismuto puede identificarse con la ensayo de Reinsch.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con el bismuto puede causar daño renal, encefalopatías y neuropatías periféricas. También se puede observar neurotoxicidad después del tratamiento crónico con sales de bismuto, pero es reversible si se suspende la medicación.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Ensayo de Reinsch

**Muestra:** Orina, vómitos, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos:

Ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Lámina o malla de cobre (5 x 10 mm) o alambre (2-3 cm).

Solución del ácido nítrico (500 ml/l).

#### Procedimiento:

Inmediatamente antes de usar la lámina, limpiarla con ácido nítrico hasta que el cobre adquiera una superficie luminosa.

Enjuagar la lámina de cobre con agua destilada, colocarla en un erlenmeyer de 100 ml y agregar 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y 20 ml de solución a investigar.

Calentar en un baño de agua hirviendo, bajo campana, durante 1 hora. Mantener el volumen de la solución agregando ácido clorhídrico diluido cuando sea necesario.

Enfriar y suavemente lavar la laminilla de cobre con el agua destilada.

#### Resultado

Mancha en la lámina de cobre: Negro brillante en presencia de Bismuto

**Sensibilidad:** aproximadamente 2 mg/l.

#### Ensayo de la Quinina

Aplicable a la laminilla de cobre (negro brillante) de la prueba anterior.

#### Reactivos

Solución de cianuro de potasio (100 g/l). Trabajar con el cuidado que requieren las soluciones concentradas de cianuros.

Solución del sulfito de sodio (50 g/l, recientemente preparada).

Solución de ácido nítrico (3 mol/l).

Reactivo de Quinina/ yoduro de potasio. Disolver 1 g de sulfato de quinina en 100 ml de agua destilada que contiene 0,5 ml de ácido nítrico concentrado (densidad 1,42 relativa). Cuando la quinina este completamente disuelta, agregar 2 g de yoduro de potasio.

**Procedimiento:** Colocar la laminilla de cobre en la solución de cianuro de potasio y dejar 10 minutos. Lavar cualquier mancha no disuelta con agua destilada y agregar 1 ml de la solución del sulfito de sodio y 1 ml de solución de ácido nítrico. Agitar frecuentemente durante 5 minutos y agregar 1 ml de agua destilada y 1 ml de reactivo de Quinina/ yoduro de potasio.

**Resultados:** Las manchas debido al arsénico se disuelven en la solución de cianuro de potasio, mientras que las manchas de bismuto y antimonio no lo hacen.

El bismuto lentamente forma una suspensión anaranjada – marrón con el reactivo de Quinina/ yoduro de potasio.

**Sensibilidad:** 2 mg/l.

## 5.15 BISULFURO DE CARBONO

### Características

Sinónimos: disulfuro de carbono.

Peso molecular : 76

Nº CAS: 75-15-0

### Propiedades físicoquímicas

Es un líquido incoloro de olor agradable semejante al cloroformo. En procesos industriales, impurificado, es de color amarillo y olor desagradable. Evapora a temperatura ambiente, siendo el gas dos veces más pesado que el aire. Forma mezclas explosivas con el aire que pueden tomar fuego con facilidad. Calentado hasta su descomposición emite humos tóxicos de dióxido de azufre y puede reaccionar vigorosamente con materiales oxidantes. Es miscible con metanol, benceno, cloroformo, tetracloruro de carbono y aceites.

El bisulfuro de carbono ( $CS_2$ ) es usado como un intermediario sintético, un solvente especialmente utilizado en la manufactura del rayón; en granos y fumigantes de tierra, como insecticida, es usado como inhibidor de la corrosión y desengrasante. Un 50 a 90% de la dosis ingerida de bisulfuro de carbono se metaboliza y es excretado en la orina como sulfato inorgánico, tiourea, 2-mercapto-2 -ona y 2-tiotiazolidina-4-ácido carboxílico (TTCA). El bisulfuro de carbono tiene un olor particularmente picante. La ingestión de 15 ml puede provocar la muerte en un adulto.

### Sintomatología clínica

El bisulfuro de carbono es un solvente excelente para la grasa, y el contacto dérmico puede causar enrojecimiento, quemaduras, se siente la piel seca y se descama. En la intoxicación aguda por ingestión o por inhalación puede dar irritación de membranas mucosas, visión borrosa, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, coma, convulsiones y paro cardiorrespiratorio.

La exposición crónica produce neuropatía periférica, fatiga, sueño, perturbación, anorexia, pérdida de peso, depresión, diabetes mellitus y puede ocurrir enfermedad isquémica del corazón.

El tratamiento es generalmente sintomático y de sostén.

### Laboratorio

No hay ningún método simple para identificar el bisulfuro del carbono en las muestras biológicas. El olor característico puede hacer pensar en su presencia. Sin embargo, el método indicado mas adelante puede usarse para evaluar la exposición y puede ponerse en evidencia la presencia del TTCA que cataliza la decoloración de una solución de yodo por la azida de sodio.

### Ensayo cualitativo

**Muestra:** orina.

#### Reactivos

Reactivo de yoduro-azida. Disolver 3 g de azida de sodio en 25 ml de agua destilada y agregar 50 ml de una solución acuosa de yodo (24,5 g/l) y de yoduro de potasio (50 g/l) y diluir a 100 ml.

Solución acuosa de ortofosfato de sodio dihidrogenado (o diácido) (110 g/l).

**Procedimiento:** Agregar 0,2 ml de solución de ortofosfato diácido de sodio a 1 ml de orina y a 1 ml de orina blanco en tubos separados.

Mezclar por 2 segundos, y agregar 20 µL de azida- yoduro a cada tubo y mezclar nuevamente por 2 segundos.

**Resultados:** El color amarillo-marrón del yodo es decolorado en 30 segundos con la presencia de TTCA a temperatura ambiente. Es especialmente importante, para el método, la utilización de orina blanco ya que la orina en si tiene una coloración amarilla.

**Sensibilidad:** 10 mg/l

## 5.16 BORATOS

### Características

Sinónimos: Borax, Biborato de sodio o tetraborato de sodio, heptaoxotetraborato disódico decahidratado

Fórmula química:  $B_4O_7Na_2 \cdot 10H_2O$

Peso molecular: 381,37

N° CAS: 1303-96-4

### Propiedades fisicoquímicas

Se presenta como prismas monoclinicos, incoloros, transparentes o polvo cristalino, inodoro, con sabor ligeramente alcalino y algo dulce, eflorescente en aire seco y calentado a rojo pierde agua de cristalización. Soluble en 20 partes de agua destilada y en una parte de glicerina; insoluble en alcohol.

### 5.16.1 ACIDO BÓRICO

#### Características

Fórmula química:  $H_3BO_3$

Peso molecular: 61,8

N° CAS: 10043-35-3

También conocido como sal sedativa de Homberg. Se presenta como cristales triclinicos, hexagonales o escamas flexibles, nacaradas, translúcidas, o polvo blanco, inodoro, untuosos al tacto, con sabor ligeramente ácido y amargo, luego dulce. Soluble en 25 partes de agua destilada y en 4 partes de agua destilada hirviendo; en 16 partes de alcohol y en 6 partes de alcohol hirviendo; en 4 partes de glicerina. Poco soluble en éter. La adición de glicerina al agua aumenta su solubilidad.

Los boratos se encuentran comúnmente en los hogares tanto como ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) o el bórax (tetraborato disódico) y se utilizan como insecticidas, fungicidas, preservativos de maderas, agentes limpiadores y removedores. Las soluciones diluidas son usadas en gotas y lociones oftálmicas, enjuagues bucales, agentes depilatorios y ungüentos tópicos. Los niños pequeños son especialmente susceptibles a los boratos y la muerte puede suceder luego de la aplicación de talcos o polvos conteniendo boratos o ácido bórico. Las intoxicaciones severas en adultos ocurren generalmente por el uso inapropiado. La dosis fatal de ácido bórico o bórax en adultos está comprendida entre 7 y 35 g.

#### Sintomatología clínica

Los síntomas de la intoxicación con boratos incluyen náuseas, vómitos, diarreas, coma, convulsiones y colapso circulatorio. Una hemodiálisis o diálisis peritoneal pueden ser necesarias en casos graves.

#### Laboratorio

##### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

##### Reactivos

Solución de Cúrcuma (la especia) 10 g/l en metanol.

Solución de ácido clorhídrico 1 mol/l.

Solución acuosa de hidróxido de amonio 4 mol/l.

**Procedimiento:** Empapar una tira de papel de filtro en la solución metanólica de Cúrcuma y dejar secar a temperatura ambiente.

Agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido a 1 ml de muestra y embeber la tira de papel con Cúrcuma en esta solución. Dejar secar el papel y humedecer con hidróxido de amonio.

**Resultados:** Se obtiene inicialmente un color rojo-castaño el cual se intensifica cuando se seca el papel. Cuando se humedece con hidróxido de amonio aparece un color negro-verdoso lo cual indica la presencia de boratos.

Los agentes oxidantes como bromatos, cloratos, iodatos y nitritos interfieren este ensayo porque ellos blanquean la cúrcuma.

**Sensibilidad:** 50 mg/l

### **Ensayo confirmatorio**

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### **Reactivos**

Acido Carmínico 0,5 g/l en ácido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

**Procedimiento:** Filtrar, si es necesario, 5 ml de contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml. Adicionar 0,5 ml del filtrado o residuo de la escena en un tubo y lentamente agregar 0,5 ml de solución sulfúrica de ácido carmínico por las paredes del tubo de modo que se forme una capa debajo de la muestra.

**Resultados:** Un anillo azul-violeta en la unión de las capas indica la presencia de borato. Oxidantes fuerte (como bromatos, cloratos, iodatos y nitritos) dan positivo este ensayo.

**Sensibilidad:** 100 mg/l.

### **Determinación cuantitativa**

**Muestras:** Plasma o suero (1 ml)

#### **Reactivos**

Solución de sulfato de amonio 40 g/l.

Acido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

Acido carmínico 0,2 g/l en ácido sulfúrico concentrado.

**Testigos:** Disolver 0,210 g de ácido bórico en 100 ml de agua (equivalente a 2 g/l de ión borato) y diluir con suero blanco a fin de obtener soluciones de 20, 50, 100 y 200 mg/l de ión borato.

**Procedimiento:** Agregar 5 ml de solución de sulfato de amonio a 1 ml de muestra y patrones, mezclar con vortex y calentar en baño maría hirviendo por 15 minutos.

Centrifugar durante 10 minutos y transferir el sobrenadante a nuevos tubos graduados de 10 ml. Levantar el precipitado de cada tubo, mezclarlo con 2 ml de agua, centrifugar nuevamente y juntar este sobrenadante con los anteriores en los tubos graduados correspondientes.

Llevar a 10 ml con agua y mezclar por 5 segundos. Tomar 1 ml de cada una de las soluciones anteriores y adicionarles 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y mezclar por inversión.

Agregar 5 ml de solución de ácido carmínico, mezclar por inversión y dejar reposar 10 minutos. Leer las absorbancias a 600 nm contra un blanco de suero (blanco sin boratos)

**Resultados:** Realizar la curva de calibración con los resultados de los testigos y calcular la concentración de borato en la muestra.

**Sensibilidad:** 20 mg/l.

**Interpretación de los resultados del laboratorio:** Las concentraciones normales están por debajo de 7 mg/l. Toxicidad grave ocurre con concentraciones de 20 a 150 mg/l.

En intoxicaciones mortales se hallan concentraciones comprendidas entre 200 y 1500 mg/l.



## 5.17 BROMATOS

### 5.17.1 BROMATO DE SODIO

#### Características

Fórmula química: Na Br O<sub>3</sub>

Peso molecular 150,9

Nº CAS: 7789-38-0

### 5.17.2 BROMATO DE POTASIO

#### Características

Fórmula química: KBrO<sub>3</sub>

Peso molecular 167,01

Nº CAS: 7758-01-2

Son solubles en agua.

Los bromatos, como el bromato de sodio, se usan como ingrediente para rizar el cabello y son agentes oxidantes fuertes. La prueba de la difenilamina, que se menciona más adelante identifica otros compuestos similares como cloratos, hipocloritos, yodatos, nitratos y nitritos.

El bromato de potasio se usa por su capacidad oxidante como mejorador de harinas, pero está prohibido en Argentina para ese uso desde 1997.

#### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda por bromatos puede causar náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, confusión, coma y convulsiones. Se produce a menudo metahemoglobinemia y esto puede indicarse por el color chocolate de la sangre. La metahemoglobina puede ser determinada pero es inestable por lo cual no es conveniente realizarla en muestras almacenadas.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivo

Difenilamina (10 g/l) en ácido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

**Procedimiento:** Filtrar 5 ml del contenido estomacal o residuo en escena en un tubo de ensayo de 10 ml. Agregar 0,5 ml del filtrado o residuo de la escena a un tubo limpio y lentamente agregar 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de modo que se forme una capa debajo de la muestra.

**Resultados:** Una coloración azul fuerte que se desarrolla inmediatamente en la unión de las dos capas indica un resultado positivo. Una coloración azul suave se observará en la mayoría de las muestras de contenido estomacal y se debe a presencia de material orgánico. Los agentes oxidantes fuertes son rápidamente reducidos en las muestras biológicas, por lo que la determinación debe realizarse tan pronto como sea posible después de recibida la muestra.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

### Ensayo confirmatorio

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido nítrico (2 mol/l).

Solución acuosa de nitrato de plata (10 g/l).

Solución acuosa de nitrito de sodio (50 g/l, recientemente preparado).

Hidróxido de amonio concentrado (densidad relativa 0,88).

**Procedimiento:** A 1 ml de la muestra agregar 0,2 ml de ácido nítrico diluido y 0,2 ml de solución del nitrato de plata y mezclar durante 5 segundos.

Si se forma un precipitado, centrifugar durante 1 minuto y mantener el sobrenadante claro.

Agregar más solución de nitrato de plata, dejar caer gota a gota, para asegurar la eliminación completa de cualquier precipitado (haluro), y luego agregar 0,2 ml de solución de nitrito de sodio. Si se forma precipitado agregar 0,2 ml de hidróxido de amonio concentrado.

**Resultados:** Un precipitado cremoso débilmente soluble en hidróxido de amonio indica la presencia de bromato.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

## 5.18 BROMUROS

### Descripción general

El Bromuro de sodio (NaBr) se presenta en forma de polvo cristalino o cristales cúbicos, pequeños, incoloros, inodoros, sabor salino y ligeramente amargo. Es higroscópico. Soluble una parte en 1,5 partes de agua, 17 partes de alcohol y en una parte de glicerina.

Las sales, como el bromuro de sodio, son empleadas en el proceso fotográfico, fueron usadas como anticonvulsivantes y sedativas. Sedativos, como el Carbromal, forma bromuro inorgánico cuando se metabolizan. El bromuro de metilo se usa como fumigante en naves y silos de granos, y se metaboliza, en parte, a ión bromuro in vivo.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con bromuros pueden causar náuseas, vómitos y diarrea, somnolencia, embriaguez, coma con insuficiencia circulatoria notable, pero la absorción es pobre y la toxicidad sistémica es más común después de ingestión o exposición crónica. En estos casos se observa fatiga, irritabilidad, anorexia, dolor abdominal, pigmentación superficial, alucinaciones visuales y auditivas, delirio, temblor, ataxia y coma.

Las concentraciones normales de bromuro en suero son hasta 10 mg/l pero administraciones terapéuticas continuas con bromuros pueden llegar a concentraciones del orden de 80 mg/l.

La toxicidad habitualmente se asocia con concentraciones del bromuro mayores a 500 mg/l.

El tratamiento normalmente es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

La prueba cualitativa indica la presencia de bromuro o yoduro inorgánico por lo cual se requiere una prueba confirmatoria apropiada.

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido nítrico (2 mol/l).

Solución acuosa de nitrato de plata (10 g/l).

Hidróxido del amonio concentrado (densidad relativa 0,88).

**Procedimiento:** Agregar 0,1 ml de solución acuosa de ácido nítrico a 1 ml de solución de la muestra, mezclar por 5 segundos y agregar 0,1 ml de la solución del nitrato de plata.

Centrifugar para separar cualquier precipitado significativo, decantar y tratar con 0,1 ml de hidróxido del amonio concentrado.

**Resultados:** Un precipitado blanco soluble con el hidróxido de amonio indica presencia de cloruros, un precipitado blanquecino en hidróxido amonio indica presencia bromuros, y un precipitado amarillo cremoso, insoluble indica yoduro.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

### Ensayo confirmatorio

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena

#### Reactivos

Solución saturada de fluoresceína en solución de ácido acético (600 ml/l).

Acido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83).

Permanganato de potasio (sólido)

**Procedimiento:** Embeber una tira de papel de filtro en la solución de fluoresceína. Agregar aproximadamente 50 mg de permanganato de potasio a 2 ml de la solución de la muestra en un tubo de 10 ml. Agregar 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado y sostener el papel de filtro impregnado en la fluoresceína en la boca del tubo.

**Resultados:** El bromuro se oxida a bromo libre. Este reacciona con el amarillo de la fluoresceína para dar eosina (tetrabromofluoresceína) que tiene un color rosado a rojo.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

### Ensayo cuantitativo

**Muestras:** plasma o suero (2 ml).

**Reactivos**

Solución acuosa de ácido cloroáurico. Disolver 0,5 g de ácido cloroáurico (cloruro de oro,  $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) en 100 ml de agua destilada.

Solución de ácido tricloroacético (200 g/l).

**Testigos:** Disolver 1,29 g de bromuro de sodio en 500 ml de agua destilada (ión bromuro 2 g/l). Preparar una serie de diluciones en agua destilada conteniendo concentraciones de ión de bromuro de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,2 y 1,6 g/l.

**Procedimiento:** Agregar 6 ml de solución ácida de tricloroacético a 2 ml de la muestra y de los testigos en tubos de 10 ml, mezclar durante 30 segundos y dejar descansar por 15 minutos. Centrifugar durante 5 minutos y filtrar los sobrenadante a través de papel de filtro y colocar 4 ml en nuevos tubos. Agregar 1 ml de la solución cloroáurica ácida a los 4 ml del sobrenadante claro mezclar durante 5 segundos. Registrar la absorbancia a 440 nm contra un blanco de agua destilada.

**Resultados:** Construir una curva de calibración de concentración del bromuro contra absorbancia, y calcular la concentración de ión del bromuro en la muestra. La calibración es lineal para concentraciones comprendidas entre 25 mg/l y 2,5 g/l. Este método no es fiable si los filtrados permanecen turbios, por ejemplo, en caso de muestras cadavéricas.

**Sensibilidad:** 25 mg/l.

## 5.18 BROMURO DE METILO

### Características

Sinónimos: Bromuro de metilo, brometano, terabol

Estructura química: CH<sub>3</sub>Br

Peso molecular 94,9

Nº CAS: 74-83-9

### Propiedades fisicoquímicas

Es un gas incoloro con olor semejante a cloroformo, densidad = 1,73 g/m<sup>3</sup>, densidad relativa 3,3.

### Usos

El bromuro de metilo es usado como fumigante de bodegas de buques, grandes silos y otras áreas cerradas. El bromuro de metilo sufre un metabolismo parcial dando bromuro inorgánico in vivo. Las concentraciones de estos iones encontrados en intoxicaciones por bromuro de metilo son mucho menores que las halladas en intoxicaciones serias con bromuros inorgánicos y esto es debido a que el bromuro de metilo en sí mismo es un tóxico primario.

### Sintomatología clínica

Los síntomas de la intoxicación debido a bromuro del metilo se desarrollan luego de varias horas de ocurrida la exposición e incluye confusión, vértigo, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, dolor abdominal, visión borrosa, hiporreflexia y parestesia. El coma y las convulsiones pueden aparecer en los casos severos, y se ha descrito además edema pulmonar, ictericia y oliguria. El tratamiento es sintomático y de sostén.

Las concentraciones de bromuro en sueros normales están por debajo de 10 mg/l. Después de la administración terapéutica de bromuros inorgánicos, las concentraciones pueden aumentar hasta 80 mg/l; la toxicidad está normalmente asociada con las concentraciones mayores a 500 mg/l. Se han señalado concentraciones entre 90 y 400 mg/l en sangre en casos de intoxicaciones graves con bromuro de metilo.

### Laboratorio

Se aplican idénticos ensayos que los indicados para el ión bromuro (Ver Bromuros)

## 5.19 CAFEÍNA

### Características

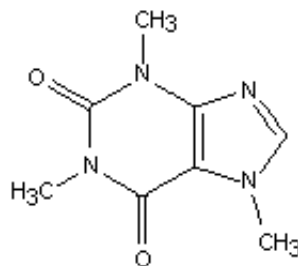
Sinónimos: Metilteobromina, 7-metilteofilina, 1,3,7-trimetilxantina

Fórmula molecular:  $C_8H_{10}N_4O_2$

Peso molecular: 194

N° CAS: -58-08-2

pKa: 14 (25°C); 10,4 (40°C)



Estructura Química

### Descripción general

La cafeína es un alcaloide que está presente en el té, café, bebidas cola y otras bebidas. Una taza de té o café contiene aproximadamente 100 mg de la droga. La cafeína es una sustancia con propiedades estimulantes de SNC. Es también usado en el tratamiento del apnea neonatal. Las reacciones metabólicas incluyen N-demetilación y oxidación a derivados del ácido úrico. Aproximadamente el 85% de una dosis oral es excretada sin cambios en la orina. La cafeína es un metabolito importante de la teofilina cuando los neonatos son tratados con esta última sustancia y en adultos con hábitos de drogas del grupo de las xantinas.

### Sintomatología clínica

La sobredosis con cafeína puede causar palpitaciones, hipertensión, aumento de diuresis, estimulación del sistema nervioso central, náuseas, vómitos, marcada hipocalcemia, acidosis metabólica y convulsiones. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Cromatografía en capa delgada

La cafeína se puede identificar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA; CB; CC; CD; CE

#### Revelado

Dragendorff: positivo

Solución ácida iodoplatínica: positivo

#### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico en medio ácido (figura 5.14) con máximo de absorción a 273 nm.

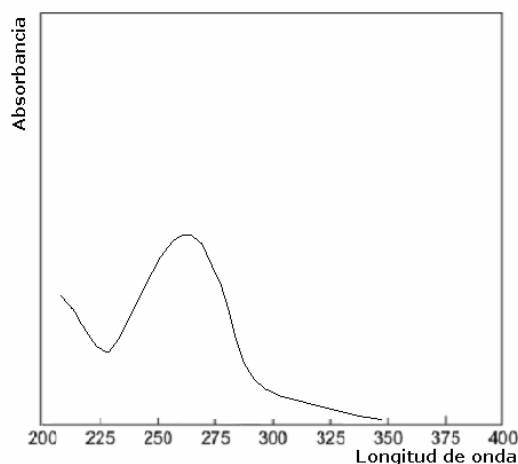


Figura 5.14. – Barrido al UV de la cafeína

## 5.20 CANNABIS

### Características

Sinónimos: Bhang; Cannabis Indica; Chanvre; Charas; Dagga; Ganja; Guaza; Hashish; Hanfkraut; Indian Hemp; Kif; Maconha; Marijuana; Marihuana.

### Descripción general

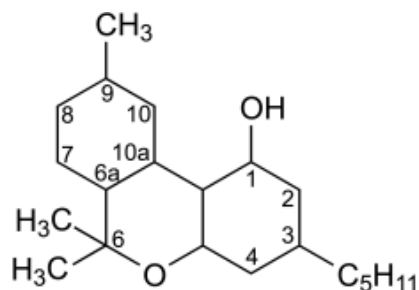
Marihuana es la designación que específicamente se aplica a las sumidades florales secas del cáñamo indiano o *Cannabis sativa* y es un psicomimético.

La denominación de marihuana es de origen mejicano (Mari – Juana), mientras que Haschish es de origen árabe.

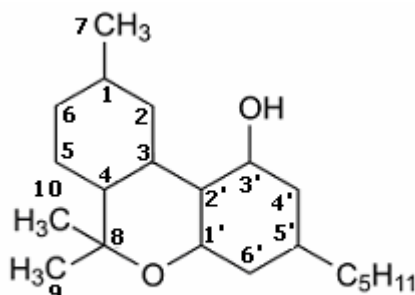
Con el nombre de marijuana se conoce comúnmente a la mezcla de hojas y flores. Bhang, dagga, ganja, kif y maconha son términos usados en diferentes países para describir preparaciones similares. Hashish y charas son los nombres relacionados con las resinas, aunque en algunos países, hashish se lo asocia a las preparaciones del cannabis.

El cannabis contiene alrededor de 60 derivados del 2-(2-isopropil-5-metilfenil)-5-pentilresorcinol, conocidos como cannabinoides. Existe discusión en relación al número de sustituyentes de los monoterpenos o dibenzopirenos.

Numeración dibenzofurano.



Numeración monoterpeneide



Los cannabinoides más importantes son el cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), (-)-*trans*- $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol [ $\Delta^9$ -THC ( $\Delta^1$ -THC)], (-)-*trans*- $\Delta^8$ -tetrahidrocannabinol [ $\Delta^8$ -THC ( $\Delta^{1-6}$ -THC)] y el ácido  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinólico.

### 5.20.1 CANNABIDIOL

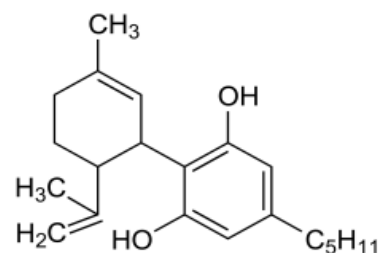
#### Características

Sinónimo: CBD, 2-[3-Methyl-6-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-yl]-5-pentyl-1,3-benzenodiol

Fórmula molecular:  $C_{21}H_{30}O_2$

Peso molecular: 314,5

Nº CAS: 13956-29-1



Cannabidiol

### Propiedades físicoquímicas

Resina amarillo pálido o cristalina. Punto de fusión 66° a 67°. Prácticamente insoluble en agua o en NaOH al 10%; ligeramente soluble en etanol, metanol, éter, benceno, cloroformo.

## 5.20.2 CANNABINOL

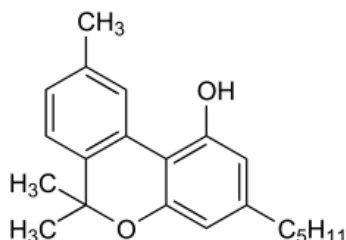
### Características

Sinónimo: . CBN, 6,6,9-Trimethyl-3-pentyl-6*H*-dibenzo[*b,d*]pyran-1-ol

Fórmula molecular: C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>

Peso Molecular =310,4

N° CAS: 521-35-7



Cannabinol

### Propiedades físicoquímicas

Insoluble en agua; ligeramente soluble en metanol, etanol y soluciones alcalinas acuosas.

## 5.20.3 ?<sup>9</sup>-TETRAHYDROCANNABINOL

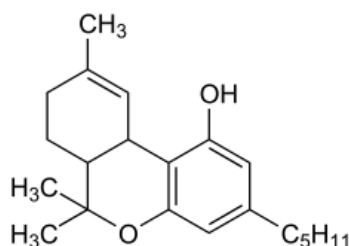
### Características

Sinónimo: (-)-trans-?<sup>9</sup>-Tetrahydrocannabinol; ?<sup>1</sup>-THC; ?<sup>9</sup>-THC.

Fórmula molecular: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>

Peso molecular =314,5

N° CAS: 1972-08-3



D<sup>9</sup>-Tetrahydrocannabinol

### Propiedades físicoquímicas

Aceite viscoso. Prácticamente insoluble en agua; soluble 1 parte en 1 de etanol y en 1 de acetona; ligeramente soluble in cloroformo.

## 5.20.4 ?<sup>8</sup>-TETRAHYDROCANNABINOL

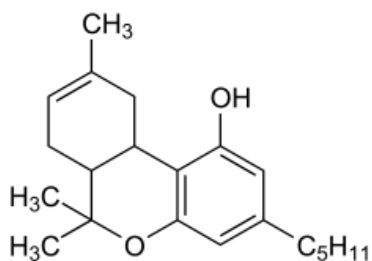
### Características

Sinónimo: (-)-trans-?<sup>8</sup>-Tetrahydrocannabinol; ?<sup>1-6</sup>-THC; ?<sup>8</sup>-THC.

Fórmula molecular: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>

Peso molecular: 314,5

N° CAS: 5957-75-5



D<sup>8</sup>-Tetrahydrocannabinol



### Propiedades físicoquímicas

Prácticamente insoluble en agua, ligeramente soluble en cloroformo.

### 5.20.5 ACIDO $\Delta^9$ -TETRAHYDROCANNABINÓLICO

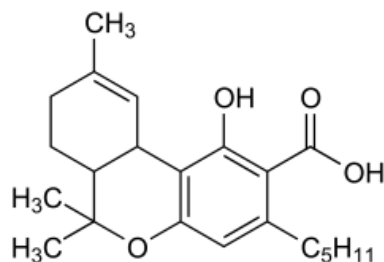
#### Características

Fórmula molecular:  $C_{22}H_{30}O_4$

Peso molecular: 358,5

Nº CAS: 23978-85-0

$pK_a$ : 10,6



Ácido  $\Delta^9$ -  
Tetrahidrocannabinólico

#### Características generales de los cannabinoles

El porcentaje de los constituyentes del cannabis varía entre el 5% y 0%, dependiendo de factores genéticos y climáticos. Todo el efecto y actividad sicomimética de la planta está asociada con el  $\Delta^9$ -THC, el cual se encuentra habitualmente unas 20 veces más que  $\Delta^8$ -THC. El contenido promedio del  $\Delta^9$ -THC ronda el 1, 3 y 5% en la marihuana, ganja y hashish, respectivamente. El cannabidiol y cannabidiol pueden estar presentes en grandes cantidades pero poseen poca actividad.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, restos de la escena, restos de picadura o cigarrillos armados.

#### Reactivos

*p*-Dimetilaminobenzaldehído

Duquenois

**Procedimiento:** La marihuana en presencia del reactivo de Duquenois y por agregado posterior de ácido clorhídrico concentrado, forma un color verde, azul o violeta. Si se agrega cloroformo, el color violeta se extrae y pasa a la fase orgánica. Cabe mencionar que el cannabidiol no da esta reacción.

**Resultados:** Colores observados. Frente al *p*-Dimetilaminobenzaldehído: rojo/violeta (cannabinoles) y al reactivo de Duquenois: violeta-azul/violeta.

#### Barrido al UV

Las soluciones etanólicas presentan los siguientes máximos: cannabidiol 278 nm, cannabinoil 285 nm,  $\Delta^9$ -THC 278 nm y ácido  $\Delta^9$ -tetrahidro-cannabinólico 278 nm y 283 nm. (Figura 5.15)

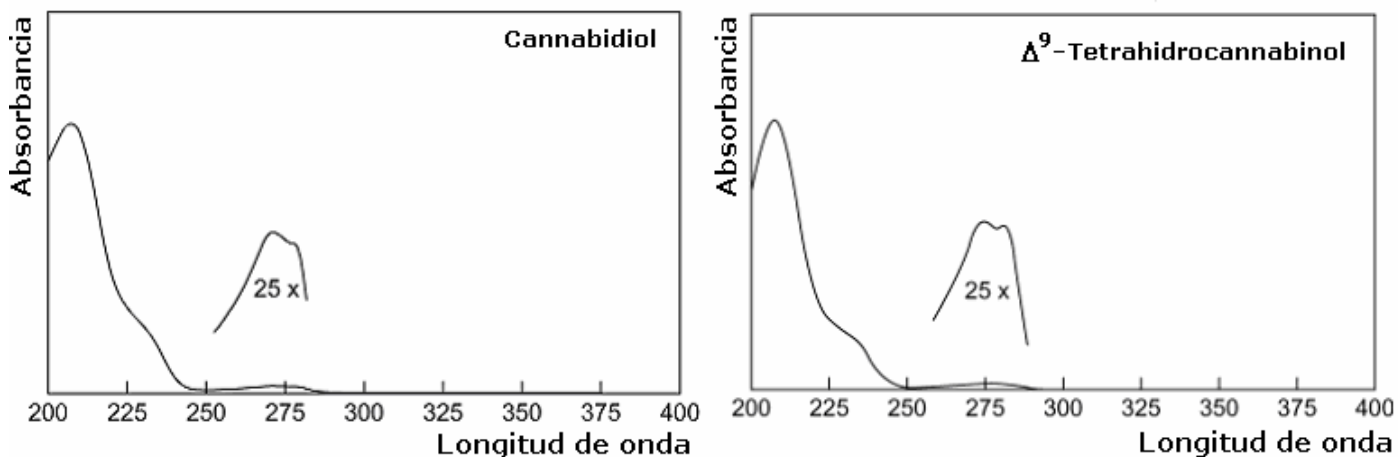


Figura 5.15. Barridos al UV de Cannabidiol y THC

## **Cromatografía en capa delgada**

Los cannabinoides se pueden detectar en cromatografía en capa delgada.

La extracción para orina se realiza de la manera siguiente:

- ml de orina en un tubo de centrifuga de 15 ml.
- 0,5 ml de solución de OHNa 1 N.
- Llevar el tubo a un baño de agua (50-60°C) por 15 minutos.
- Dejar enfriar.
- Acidificar con 1 ml de HCl 1N.
- Adicionar 5 ml de n-hexano, invertir los tubos para mezclar y aplicar agitación mecánica suave por 20 minutos.
- Centrifugar a 1000 rpm por 5 minutos.
- Transferir la fase orgánica a un vial y evaporar.

Extracción para restos de picadura:

- Colocar 100 mg del producto pulverizado en un tubo de ensayo.
- Agregar 2 ml de éter de petróleo y agitar 2 minutos.
- Decantar o filtrar el extracto en cápsula de porcelana y evaporar a sequedad.
- Resuspender el residuo en unas gotas de cloroformo.

Como fase móvil se pueden utilizar los siguientes sistemas:

benceno

cloroformo – benceno (7:3)

metanol – n-hexano (1:15).

éter de petróleo - éter etílico (9:1)

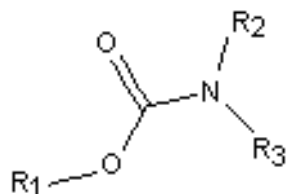
### **Revelado**

Vapores Dietilamina

Fast Blue BB: violeta

## 5.21 CARBAMATOS

Estos compuestos tienen la fórmula general que se muestra debajo. La sustitución de azufre por el oxígeno, hace que tenga la actividad insecticida más baja. Los carbamatos más comunes son aldicarb, carbaryl, methiocarb, pirimicarb, promecarb, propoxur.



**Estructura Química**

### Descripción general

Los carbamatos son usados ampliamente como insecticidas, herbicidas y fungicidas. Los insecticidas carbámicos inhiben la acetilcolinesterasa y así la evidencia de exposición al producto puede obtenerse midiendo la actividad de la colinesterasa.

Los carbamatos herbicidas y fungicidas, como el ditiocarbamato, no producen una inhibición significativa de la colinesterasa por lo cual son menos tóxicos para los seres humanos. La prueba que se describe aquí está basada en la reacción general de los carbamatos con el furfuraldehído en presencia de cloruro de hidrógeno.

### Sintomatología clínica

La exposición a carbamatos puede causar anorexia, dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea, lagrimeos, hipersalivación, sudor, ansiedad, ataxia y edema pulmonar agudo. Para la terapia puede indicarse la Atropina que es un antídoto, la pralidoxima no debe ser usada.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Solución de Furfuraldehído (100 ml/l) en metanol, recientemente preparado.

Acido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).

**Procedimiento:** Acidificar 1 ml de muestra con 0,5 ml de dilución de ácido clorhídrico, extraer con 4 ml de cloroformo mezclando cuidadosamente por 5 minutos. Centrifugar durante 5 minutos, desechar la capa superior acuosa y filtrar el extracto de cloroformo a través de un papel de filtro en un tubo limpio. Evaporar el extracto a sequedad bajo una corriente de aire o nitrógeno a 40°C. Disolver el residuo en 0,1 ml de metanol, aplicar una porción del extracto en un papel de filtro, dejar secar. Agregar al extracto 0,1 ml de la solución de furfuraldehído, dejar secar y exponer el papel a los humos del ácido clorhídrico concentrado por 5 minutos bajo campana.

**Resultados:** En presencia de carbamatos se observa una mancha negra.

**Sensibilidad:** 100 mg/l.

#### Cromatografía en placa delgada

**Muestras:** contenido estomacal, resto de la escena (extracción etérea).

Los carbamatos se pueden investigar por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CW y CX

#### Revelado

4-nitrobencenodiazoniotetrafluorborato al 1% en mezcla de etanol:etilenglicol 8:2.

**Resultado:** Carbaryl: azul y Propoxur: rojo

## 5.22 CARBAMAZEPINA

### Características

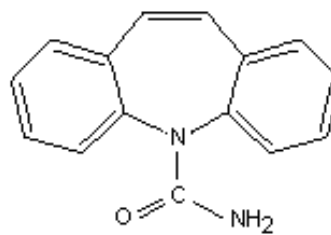
Sinónimo: 5H-Dibenz[b,f]azepine-5-carboxamide

Fórmula molecular:  $C_{15}H_{12}N_2O$

Peso molecular relativo: 236

Nº CAS: 298-46-4

pKa: 7



Estructura Química

### Descripción general

Las Carbamazepinas son ampliamente usadas como anticonvulsivantes. Las reacciones metabólicas incluyen epoxidación dando carbamazepina-10,11-epóxido el cual es farmacológicamente activo, formación de diol, hidroxilación y conjugación. Menos del 10% de la dosis se excreta por orina como droga tal cual sin metabolizar. La dosis letal mínima estimada en un adulto es de 5 g.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda por carbamazepina puede causar dolor de cabeza, vómitos, dolor abdominal, diarrea, constipación ataxia, nistagmus, diplopía, hipotensión, coma, convulsiones y depresión respiratoria. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Reactivo de hipobromito de sodio. Disolver 0,5 ml de bromo elemental cuidadosamente y enfriando en 5 ml de solución de hidróxido de sodio (400 g/l), recientemente preparada.

**Procedimiento:** Agregar en partes iguales la muestra y la solución de ácido clorhídrico (relación 1:1) a 5 ml de cloroformo, mezclar por 1 minutos y centrifugar por 5 minutos. Descartar la capa superior acuosa y agregar la capa clorofórmica a 0,2 ml de solución de hipobromito de sodio en un tubo limpio y mezclar por 30 segundos.

**Resultados:** Un color azul-violeta en la capa del cloroformo indica la presencia de carbamazepina.

**Sensibilidad:** 250 mg/l.

#### Cromatografía en capa delgada

La carbamazepina se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CC y CE

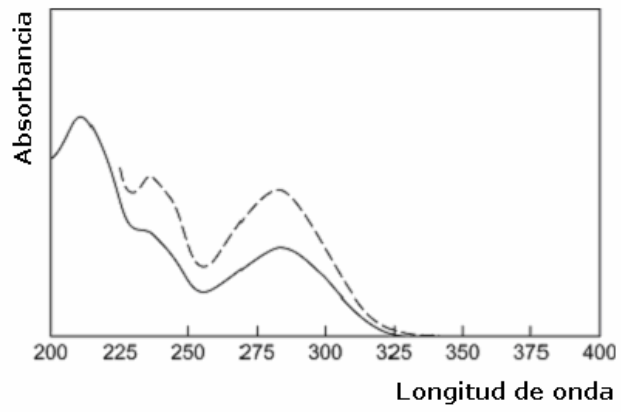
#### Revelado

Bajo luz UV: fluorescencia amarilla

Permanganato de potasio: positivo

#### Barrido al UV:

En solución metanólica presenta dos máximos a 237 y 285 nm (Figura 5.16)



**Figura 5.16 – Barrido al UV de la carbamazepina**

## 5.23 CIANURO

### Descripción general

La intoxicación aguda con cianuro ( $\text{CN}^-$ ) puede producirse después de la inhalación de cianuro de hidrógeno ( $\text{HCN}$ ) o después de la ingestión de cianuro de potasio o de sodio. Las soluciones complejas de cianuro se usan en galvanoplastia y la acidificación de tales soluciones a menudo las lleva a la producción de cianuro de hidrógeno. Los glicósidos cianogénicos como la amigdalina, liberan cianuro en el organismo luego de su ingestión. Varias plantas comestibles los contienen como el melocotón, las semillas de ciertos frutos (duraznos, ciruelas, etc.), la raíz de la yuca (mandioca) y ciertos porotos.

Los insecticidas con tiocianato (tiocianato de etilo, tiocianato de metilo) también se metabolizan a ión cianuro en el organismo y pueden causar serios problemas de toxicidad. El cianuro también es un metabolito del nitroprusiato de sodio (usado como vasodilatador) y otros compuestos que contienen nitrilos, pero son raras las intoxicaciones agudas con cianuro en estos casos.

El tiocianato inorgánico y las sales de ferricianuro y de ferrocianuro no liberan cianuro en el organismo y son relativamente poco tóxicos.

### Sintomatología clínica

La intoxicación con cianuro se caracteriza por ataxia, dolor de cabeza, ansiedad, disnea, confusión, coma, colapso, acidosis metabólica, edema pulmonar y paro respiratorio. La cianosis puede no estar presente.

El tratamiento de soporte incluye la administración de oxígeno. Un número de antídotos se ha usado, incluso la hidroxocobalamina, nitrito de sodio y tiosulfato de sodio, y edetato de dicobalto.

En la intoxicación aguda con sales de cianuro o ácido cianhídrico, las concentraciones del ión cianuro en sangre son del orden de 2-10 mg/l. El ensayo cualitativo descrito anteriormente tiene insuficiente sensibilidad para detectar estas concentraciones y sólo deben usarse para contenido estomacal y residuos de la escena. La medida cuantitativa de cianuros tienen muy poca relevancia en las intoxicaciones agudas ya que la terapia debe comenzarse tan pronto como sea posible.

El cianuro también puede estar presente en la sangre de víctimas de incendios debido a la inhalación de cianuro de hidrógeno generado por la combustión parcial de lana, seda y los polímeros sintéticos como poliuretanos y poliacrilonitrilos. En tales casos, las concentraciones de cianuro en sangre pueden estar comprendidas entre 0,2 y 1,0 mg/l. El monóxido de carbono puede también estar presente. Las concentraciones de cianuro en la sangre de grandes fumadores de cigarrillos pueden ser tan altas como 0,3 mg/l.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

Se basa en la formación de un complejo azul de ferriferrocianuro (azul de Prusia) con los iones ferrosos.

**Muestras:** Contenido estomacal y residuos de la escena.

Tener cuidado con las muestras que contienen cianuros ya que liberan ácido cianhídrico en contacto con el agua y a pH ácido.

#### Reactivos

Solución acuosa de hidróxido de sodio (100 g/l).

Solución acuosa de sulfato ferroso (100 g/l) recientemente preparada.

Solución acuosa de ácido clorhídrico (100 ml/l).

**Procedimiento:** Diluir 1 ml de la muestra con 2 ml de solución del hidróxido de sodio.

Agregar 2 ml de solución de sulfato ferroso. Agregar ácido clorhídrico en cantidad suficiente para disolver el precipitado de hidróxido ferroso.

**Resultado:** Un color azul indica la presencia de cianuro. No existen fuentes comunes de interferencia.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

## Ensayos cuantitativos

**Muestras:** sangre entera heparinizada (0,1 - 1,0 ml) que puede ser conservada a 4°C durante 1-2 días si el análisis no se realiza inmediatamente. El cianuro en sangre es poco estable si se guarda a temperatura ambiente (20°C)

### Métodos por microdifusión

Se basan en la liberación de cianuro de hidrógeno y la formación subsiguiente de un complejo coloreado.

### Método del p-nitrobenzaldehído / o-dinitrobenzeno

#### Reactivos

Solución acuosa de hidróxido de sodio (0,5 mol/l).

Solución acuosa de ácido sulfúrico (3,6 mol/l).

p-nitrobenzaldehído (0,05 mol/l) en 2-metoxietanol.

o-dinitrobenzeno (0,05 mol/l) en 2-metoxietanol.

**Testigos:** Solución acuosa de cianuro de potasio (10 mg/l, correspondiente a 4 mg/l de ión de cianuro).

**Procedimiento:** Tomar tres cámaras de microdifusión y agregar a cada una en el compartimiento central:

- 0,5 ml de solución del p-nitrobenzaldehído.
- 0,5 ml de solución del o-dinitrobenzeno.
- 0,1 ml de solución del hidróxido de sodio.

En el compartimiento exterior agregar 0,1 ml de:

- Cámara N° 1 Agua destilada
- Cámara N° 2 Solución patrón de cianuro de potasio
- Cámara N° 3 Muestra de sangre problema

A cada cámara en la parte exterior agregar 0,5 ml de agua destilada y en el lado opuesto, 1,0 ml de ácido sulfúrico diluido.

Se tapa cada cámara usando silicona y cuidadosamente se mezclan los componentes del compartimiento externo.

Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos y agregar 1 ml de solución acuosa de metanol (1:1) en el compartimiento interno.

Transferir el contenido del compartimiento interno de la cámara a un tubo graduado de 5,0 ml y llevar a volumen (5 ml) con solución acuosa de metanol (1:1)

**Resultados:** El color rojo obtenido con las soluciones que contienen cianuro son estables durante aproximadamente 15 minutos. Medir la absorbancia de las soluciones de las cámaras 2 y 3 a 560 nm contra blanco de agua destilada (cámara N° 1). Calcular la concentración del ión cianuro en la muestra utilizando la concentración y la absorbancia obtenida del patrón.

**Sensibilidad:** 0,5 mg/l.

### Método de la Piridina / ácido barbitúrico

#### Reactivos

Solución acuosa de hidróxido de sodio (0,1 mol/l).

Solución acuosa de cloramina T (2,5 g/l). La cloramina T sólida es inestable, las soluciones deben prepararse en el momento de usar.

Solución acuosa de ortofosfato de sodio (1 mol/l).

Reactivo Piridina - Ácido barbitúrico: Disolver 6 g de ácido barbitúrico (no utilizar el dietil del ácido barbitúrico), en 6 ml de ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18), y diluir con 30 ml de piridina. Diluir la solución resultante a 100 ml con agua destilada. Esta solución debe ser preparada en el momento de la reacción.

Solución acuosa de ácido sulfúrico (1 mol/l).

**Testigos:** Solución patrón de cianuro. Disolver 50 mg de cianuro de potasio en 100 ml de solución acuosa de hidróxido de sodio (0,1 mol/l). Concentración del ión de cianuro: 200 mg/l.

**Tener precaución cuando se usan soluciones de cianuro.**

Solución de calibración de cianuro: Diluir (1:99) la solución patrón del ión cianuro (200 mg/l) en solución acuosa de hidróxido de sodio (0,1 mol/l); obteniéndose una solución de concentración de ión cianuro de 2 mg/l.

**Procedimiento:**

Rotular siete cámaras de microdifusión desde (a) a (g) y agregar en el **compartimiento exterior** de la cámara, los reactivos de acuerdo a lo que indica la tabla que se detalla mas adelante, y el ácido sulfúrico diluido en el lado opuesto de la misma, cuidando no mezclar patrones o muestras con el reactivo liberante (ácido sulfúrico diluido) antes de tapar la cámara.

Agregar 2 ml de solución del hidróxido de sodio al **compartimiento interno**. Se tapa cada cámara usando silicona y cuidadosamente se mezclan los componentes de la parte externa y se dejan a temperatura ambiente durante 4 horas.

Pipetear 1,0 ml de la solución del hidróxido de sodio de cada uno de los compartimentos internos y transvasarlos a tubos rotulados.

Agregar los reactivos siguientes secuencialmente y agitar para mezclarlos.

- 2 ml de Buffer fosfato
- 1 ml de solución de cloramina T
- 3 ml de reactivo piridina - ácido barbitúrico.

**Tabla- Esquema de trabajo para la determinación de cianuros**

Cámara	Solución de CN <sup>-</sup> (ml)	Agua (ml)	Ácido Sulfúrico (ml)	Sangre (ml)
(a) Blanco de reactivo	-	2,0	0,5	-
(b) Muestra problema	-	1,0	0,5	1,0
(c) Muestra problema	-	1,0	0,5	1,0
(d) Cianuro, 0,2 mg/l	0,1	1,9	0,5	-
(e) Cianuro, 1,0 mg/l	0,5	1,5	0,5	-
(f) Cianuro, 2,0 mg/l	1,0	1,0	0,5	-
(g) Cianuro, 4,0 mg/l	2,0	-	0,5	-

**Resultados:** La presencia de cianuro se indica por un color rojo/azulado o violeta. Medir la absorbancia a 587 nm de cada solución contra los blancos de agua diluyendo, si fuese necesario, para permitir que entre en escala. Construir un gráfico de calibración con las concentraciones que se obtuvieron de las soluciones patrones de cianuro y calcular la concentración de cianuro en la muestra.

**Sensibilidad:** 0,2 mg/l.

**Determinación cuantitativa de CN<sup>-</sup> por microdifusión. Método de Tompsett**

**Reactivos**

SO<sub>4</sub> H<sub>2</sub> 6N: 16 ml de ácido sulfúrico concentrado, llevar a 100 ml con agua destilada.

NaOH 1N (4%): disolver 4 g de NaOH llevando a 100 ml con agua destilada.

NaOH 2N: disolver 8 g de NaOH llevando a 100 ml con agua destilada.

Agua de bromo a saturación.

Ácido acético puro.

HCL 0,5 N.

HCL concentrado.

Solución de arsenito de sodio: disolver 1g de As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en el mínimo volumen posible de solución de NaOH 2 N y completar luego a 50 ml.

Reactivo piridina – bencidina: disolver 0,36 g de bencidina en 10 ml de HCl 0,5 N. Por otra parte en una probeta se colocan 12 ml de piridina pura y se llevan a 20 ml con agua destilada agregando luego 2 ml de HCl concentrado. El reactivo se prepara agregando 5 ml de la solución de bencidina a 20 ml de la solución de piridina ácida. La mezcla debe prepararse en el momento de usar.

**Procedimiento:** En una cámara de Conway, convenientemente preparada, colocar en el compartimiento interno 1 ml de NaOH 1 N y en el compartimiento externo 2 ml de sangre (puede adaptarse al método utilizando en lugar de sangre 1 a 2 g de macerado de tejido).



Cubrir la cámara con la tapa de vidrio dejando únicamente el lugar necesario para agregar 0,5 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  6N al compartimiento externo. Una vez agregado el sulfúrico tapar inmediatamente y mezclar con cuidado. Dejar en reposo a temperatura ambiente durante 2 horas. Transcurrido dicho lapso agregar en el compartimiento interno 0,1 ml de agua de bromo y 0,1 ml de arsenito de sodio. Después de la reducción total del bromo agregar 0,5 ml del reactivo piridina – bencidina. Mezclar bien y con una pipeta o gotero se transfiere la solución coloreada del compartimiento interno a un tubo de ensayo. Se efectúan dos lavados del compartimiento interno con 0,6 ml de agua destilada cada vez juntando estos lavados cuantitativamente con la solución del tubo de ensayo. Se mezcla y se deja en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se determina la absorbancia a 520 nm contra un blanco de reactivos.

**Testigos:** Utilizar un testigo de sangre que contenga 10  $\mu\text{g}$  de NaCN por cada 2 ml de sangre. Dos mililitros de ese testigo se procesan de la misma manera y simultáneamente con la muestra problema en otra cámara.

Preparación de la sangre testigo de 10  $\mu\text{g}$ :

Solución madre de NaCN: pesar 100 mg de NaCN, disolver y llevar a 100 ml en matraz aforado con agua destilada.

Solución hija de NaCN: se toman 10 ml de la solución madre y se llevan a 100 ml en matraz aforado con agua destilada. Esta solución contiene 100  $\mu\text{g}$  de NaCN por mililitro.

En un tubo de ensayo se colocan 9,5 ml de sangre y se agregan 0,5 ml de la solución hija. Mezclar.

**Nota:** Debe tenerse la precaución de utilizar un NaCN de buena calidad. Además el frasco que lo contiene debe haber estado perfectamente tapado puesto que de no ser así, en función del tiempo, se produce una carbonatación con pérdida de HCN.

**Resultado:** Expresar el resultado como  $\mu\text{g}$  de NaCN por 100 ml de sangre. En las intoxicaciones por inhalación de HCN pueden registrarse valores de 100  $\mu\text{g}$  o más por 100 ml de sangre.

En los casos de muerte por ingestión de dosis elevadas (200 mg de NaCN) la concentración sanguínea puede ser del orden de los miligramos por 100 ml.

## 5.24 CLORATOS

### Descripción general

El clorato de sodio ( $\text{NaClO}_3$ ) se usa como herbicida y en la fabricación de fósforos y de fuegos artificiales. También se usan los cloratos en cantidades pequeñas en formulaciones para gárgaras y pastas dentífricas. En un adulto, la intoxicación aguda puede aparecer luego de la ingestión de 15 g de clorato de sodio. Los cloratos son muy buenos agentes oxidantes y los ensayos que se describen pondrán de manifiesto a estos compuestos y a otros con similares propiedades oxidantes, como los bromatos, hipocloritos, yodatos, nitratos, y nitritos.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con cloratos puede causar náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, confusión, coma y convulsiones.

A menudo se produce metahemoglobinemia y esto puede observarse por el color chocolate de la sangre. La metahemoglobina en sangre se puede medir pero es inestable si la muestra no se conservó en heladera.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Difenilamina (10 g/l) en ácido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

**Procedimiento:** Filtrar 5 ml del contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml.

Colocar 0,5 ml del filtrado o residuo de la escena en un tubo limpio y agregar cuidadosamente 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de manera que se forme una capa debajo del filtrado.

**Resultados:** Un resultado positivo se visualiza por un color azul fuerte que desarrolla inmediatamente en la unión de las dos capas. Un azul más claro lo suelen dar la mayoría de los contenidos estomacales que contienen material orgánico. Dado que es un agente fuertemente oxidante la prueba debe realizarse tan pronto como sea posible.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

### Ensayo confirmatorio

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Reactivo de sulfato manganoso. Mezclar solución de sulfato de manganoso saturado con ácido o-fosfórico (1:1).

Difenilcarbazida (10 g/l) en metanol.

**Procedimiento:** A 0,1 ml de solución de la muestra agregar 0,2 ml del reactivo de sulfato de manganoso y calentar brevemente bajo lámpara. Enfriar y agregar 0,1 ml de solución del difenilcarbazida.

**Resultados:** Un color púrpura-violeta que se intensifica después de enfriar y agregada la difenilcarbazida indica la presencia de clorato. Los persulfatos y periodatos dan una reacción similar; el persulfato puede eliminarse tratando la solución de la muestra con 0,1 ml de ácido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83) y 0,1 ml de solución de nitrato de plata (10 g/l).

**Sensibilidad:** 100 mg/l.

## 5.25 CLOROFORMO

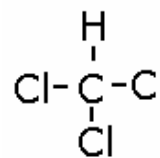
### Características

Sinónimo: Triclorometano

Fórmula molecular:  $\text{CHCl}_3$

Peso molecular relativo: 119

Nº CAS: 67-66-3



Estructura Química

### Descripción general

El cloroformo fue usado como anestésico y como solvente general, pero es tóxico ya que es metabolizado a fosgeno ( $\text{COCl}_2$ ) el cual es un potente tóxico hepatorrrenal.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con cloroformo es rara. Los síntomas clínicos incluyen ataxia, náuseas, vómitos, coma, convulsiones, depresión respiratoria, arritmias cardíacas y daño hepatorrrenal. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestra:** orina.

#### Reactivo

Fujiwara

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a**: 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b**: 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c**: 1 ml de ácido tricloroacético diluído

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviente durante 2 minutos.

**Resultados:** Un intenso color rojo/púrpura en la capa superior de piridina indica la presencia de compuestos triclorados. El blanco con agua destilada excluye la contaminación con los compuestos como el cloroformo de la atmósfera del laboratorio. Otros compuestos reaccionan en este ensayo pero el tricloroacético es el más común.

**Sensibilidad:** Tricloroacetato, 1 mg/l.

## 5.26 CLOROFENOXI HERBICIDAS

### Descripción general

Estos compuestos tienen la estructura general que se indica en la figura.

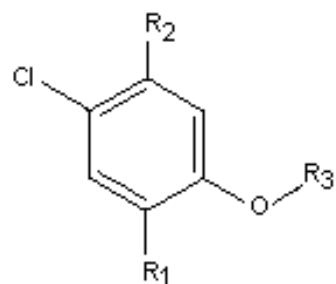
Los herbicidas clorofenoxi más comunes son:

2,4-D (2,4-ácido diclorofenoxiacético)

2,4-DP 2-(2,4-ácido diclorofenoxipropiónico)

2,4,5-T (2,4,5-ácido triclorofenoxiacético)

2,4,5-TP2-(2,4,5-ácido triclorofenoxipropiónico)



Estructura Química

### Sintomatología clínica

La absorción de herbicidas clorofenoxi producen vómitos, diarrea, arreflexia, calambres musculares, edema pulmonar, coma y muerte en casos severos. La alcalinización incrementa la excreción renal de 2,4-D y otros compuestos clorofenoxi y protege de la toxicidad sistémica.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido clorhídrico (1 mol/l).

Nitrito de sodio (100 g/l) en ácido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83), recientemente preparada. Tener cuidado porque liberan humos de dióxido de nitrógeno.

Ácido cromotrópico (2,5-dihidroxi-naftaleno-2,7-ácido disulfónico) (2 g/l) en ácido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83).

**Procedimiento:** Agregar 1 ml de solución de ácido clorhídrico a 10 ml de muestra, extraer con 20 ml de tolueno agitando durante 5 minutos.

Centrifugar 5 minutos, separar la parte superior de tolueno y reextraer la fase acuosa con una segunda porción de 20 ml de tolueno.

Combinar los extractos de tolueno y evaporar a sequedad bajo corriente de aire comprimido o nitrógeno en un baño a 60°C. Disolver el extracto en 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado y dividir en dos cápsulas de porcelana. Agregar 0,1 ml de solución de nitrito de sodio a una de las cápsulas y 0,1 ml de solución de ácido cromotrópico a la otra.

Calentar las cápsulas de porcelana en baño a 80°C.

**Resultados:** Los colores dados por algunos compuestos de clorofenoxi más comunes son los indicados en la tabla. Estos ensayos no son específicos y sólo pueden aplicarse para indicar la presencia de compuestos del clorofenoxi.

Tabla - Reacciones de color de algunos compuestos de clorofenoxi

Compuesto	Con nitrito de sodio	Con ácido cromotrópico
2,4-D	marrón	púrpura
2,4-DP	marrón oscuro	púrpura claro
MCPA	marrón claro	púrpura claro
MCPP	marrón claro	púrpura
2,4,5-T	no reacciona	púrpura
2,4,5-TP	no reacciona	rosa claro/púrpura

**Sensibilidad:** 500 mg/l.

## 5.27 COBRE

### Descripción general

Las sales de cobre como el sulfato, cloruro, y carbonato de cobre (II), las sales de cupramonio como el carbamato de cupramonio ( $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2\text{CO}_3$ ), se usan como insecticidas y fungicidas. Al igual que las sales de hierro, las sales de cobre imparten a menudo un color azul o verde en el contenido estomacal.

Las sales de cupramonio son mucho más tóxicas que las sales de cobre debido a la rápida absorción y a la toxicidad intrínseca del ión del cupramonio.

### Sintomatología clínica

La ingestión de cobre o sales de cupramonio producen inicialmente síntomas gastrointestinales (sabor metálico, náuseas, vómitos, dolor epigástrico y diarrea). En los casos severos, se observa daño hepático (particularmente en los niños), daño renal, hemólisis, coma y colapso circulatorio. Las concentraciones normales de cobre en suero están comprendidas entre 0,7 y 1,6 mg/l, pero en casos de intoxicaciones agudas pueden encontrarse concentraciones mayores a 5 mg/l. El tratamiento es sintomático y de soporte pero también puede incluir terapia de quelación.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Ditiooxamida en metanol (10 g/l).

Hidróxido de amonio concentrado (densidad relativa 0,88).

**Procedimiento:** Colocar 0,1 ml de la muestra en un papel de filtro para producir una mancha no mayor de 1 cm. de diámetro, secando con secador si es necesario. Exponer la mancha a vapores de hidróxido de amonio concentrado bajo campana y agregar 0,1 ml de ditiooxamida para la resolución de la mancha.

**Resultados:** Las sales de cobre producen una mancha color verde aceituna. Las sales de cromo dan una mancha verde visible antes del agregado de ditiooxamida. Otros metales desarrollan color amarillo- castaño o colores rojo-castaño con este reactivo.

**Sensibilidad:** 1 mg/l.

#### Otras reacciones

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de acetato de zinc (10 g/l).

Reactivo de mercuritiocianato de amonio. Mezclar 8 g de cloruro mercuríco y 9 g de tiocianato de amonio en 100 ml de agua destilada.

Solución acuosa de ácido clorhídrico (0,01 mol/l).

**Procedimiento:** Colocar 0,1 ml de la muestra en un pocillo de placa de toque de porcelana y agregar 0,05 ml de ácido clorhídrico diluido. Mezclar 0,1 ml de reactivo de mercuritiocianato de amonio con 0,1 ml de la solución de acetato de zinc y agregarla al pocillo conteniendo la muestra.

**Resultado:** Un precipitado violeta de mercuritiocianato de cinc indica presencia de sales de cobre.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

#### Ensayo cuantitativo

**Muestras:** plasma o suero (1 ml).

#### Reactivos

Reactivo de Oxalil dihidrazida: Mezclar 8 ml de solución acuosa saturada de oxalil dihidrazida con 12 ml de hidróxido de amonio concentrado (densidad 0,88), 20 ml de acetaldehído (400 ml/l) y 20 ml de agua destilada.

Solución acuosa de ácido tricloroacético (200 g/l).

Solución acuosa de ácido clorhídrico (2 mol/l).

**Testigos:** Disolver 1,0 g de lámina, malla o alambre de cobre, en un mínimo volumen de ácido nítrico (500 ml/l) y llevar a 1 litro con ácido nítrico diluido (10 ml/l). Diluir porciones de esta solución con agua para dar soluciones que contengan concentraciones del ión cobre de 1, 2 y 5 mg/l.

**Procedimiento:** Agregar 0,7 ml de ácido clorhídrico a 1 ml de muestra y a los testigos en tubos de centrifuga plástico, mezclar y dejar reposar por 15 minutos.

Agregar 1 ml de solución de ácido tricloroacético y mezclar. Esperar 15 minutos y centrifugar durante 5 minutos. Agregar 3 ml de reactivo de oxalil dihidrazida a 1 ml de las soluciones sobrenadantes. Dejar descansar por 20 minutos. Leer la absorbancia de la solución a 542 nm contra un blanco de agua

**Resultados:** Trazar una curva de absorbancia vs concentración de cobre de las soluciones de los testigos o patrones, interpolar el valor hallado de absorbancia de la muestra en la curva de calibración y calcular su concentración. El gráfico es lineal en concentraciones de cobre comprendidas entre 1 y 25 mg/l.

**Sensibilidad:** 1 mg/l

## 5.28 COCAÍNA

### Características

Sinónimo: Metil benzoilecgonina; azabicyclo[3.2.1]-octane-2-carboxylate

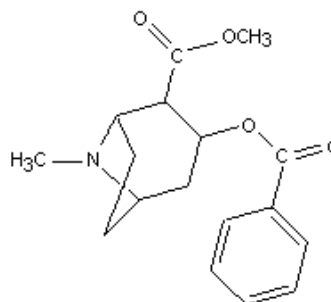
Fórmula química:  $C_{17}H_{21}NO_4$

Peso molecular relativo: 303

N° CAS—50—36—2

pKa= 8,6 (20°C)

Methyl-[1*R*-(*exo,exo*)]-3-(benzoyloxy)-8-methyl-8-



Estructura Química

## CLORHIDRATO DE COCAÍNA

### Características

Fórmula molecular:  $C_{17}H_{21}NO_4, HCl$

Peso molecular relativo: 339,8

N° CAS: 53-21-4

### Descripción general

La cocaína es un alcaloide obtenido de la coca, las hojas secas de *Erythroxylon coca* y otras especies de *Erythroxylon*, o por la síntesis de ecgonina. La sal hidroclorehidrica es un anestésico local muy eficaz, el anestésico se usa en concentraciones de 10-200 g/l, pero normalmente es aplicado en forma de tópicos debido al riesgo de toxicidad sistémica.

El abuso de cocaína frecuentemente es por vía intravenosa o inhalación (aspirando); la cocaína ingerida tiene menos efecto porque se hidroliza en el tracto gastrointestinal. La base libre (crack) es rápidamente absorbida cuando es inhalada por vía nasal o fumada. La dosis mínima fatal en un adulto es de 1-2 g, pero un adicto puede tolerar 5 g/día. Los metabolitos principales son la benzolilecgonina, ecgonina y metil ester ecgonina. Sólo el 1-9% de una dosis intravenosa es excretada en la orina como cocaína, mientras que el 35-55% es excretado como benzoilecgonina.

### Sintomatología clínica

Las intoxicaciones agudas por cocaína causan euforia, inquietud, vómitos, pirexia, midriasis, delirio, temblor, hiperreflexia, hipertensión, hiperventilación, convulsiones y fallo cardiorrespiratorio. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, restos de la escena, polvo blanco sospechoso.

#### Reactivos:

*p*-Dimetilaminobenzaldehído

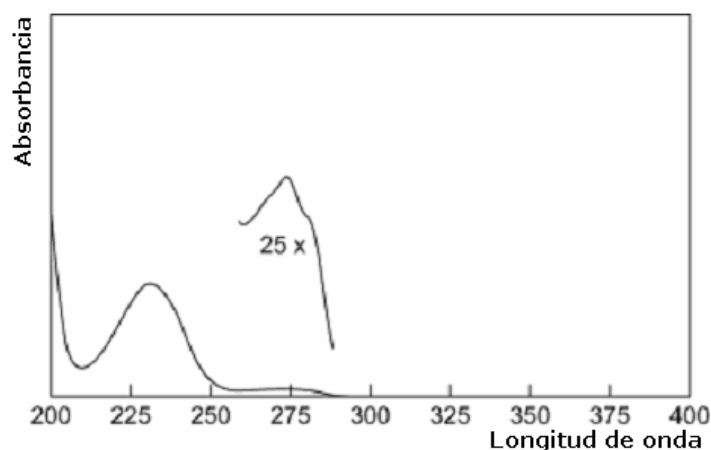
Tiocianato de cobalto

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Colores observados: frente al *p*-Dimetilaminobenzaldehído (100°C por 3 min): rojo y al Tiocianato de cobalto: azul

#### Barrido al UV

La cocaína en medio acuoso ácido presenta dos máximos a 233 nm y 275 nm (Figura 5.17)



**Figura 5.17- Barrido al UV de la cocaína**

### **Cromatografía en capa delgada**

La cocaína se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA y CB

#### **Revelado**

NQS (naftoquinonsulfonato de sodio)

Observación al ultravioleta

HCl

Iodoplatínico acidificado: positivo

Dragendorff: positivo

La cocaína ilícita se encuentra en forma de sal como clorhidrato o sulfato.

### **Otras pruebas**

Pueden realizar la investigación de cocaína sobre muestras en forma de polvo blanco:

**Peso** neto de la muestra.

**Aspecto:** observar el material a simple vista y con lupa. La cocaína presenta cristales blancos, nacarados.

**Ensayo de solubilidad** en agua destilada: una pequeña fracción del producto se coloca en tubo de ensayo y se trata con 2 – 3 ml de agua destilada: observar si la disolución es completa (El clorhidrato de cocaína se solubiliza en forma completa).

**Medición del pH la solución acuosa:** observar la reacción de la solución acuosa obtenida en el punto anterior. Generalmente es ácida, salvo el caso de utilizarse como adulterante asociado el bicarbonato de sodio.

**Identificación del ión cloruro:** una fracción de la solución acuosa o unos centigramos del producto disuelto en agua destilada se tratan con 1 gota de ácido nítrico concentrado y luego con 1 gota de solución de  $\text{NO}_3 \text{Ag}$  al 9%; aparece precipitado blanco, caseoso en presencia de cloruro.

**Identificación del ión sulfato:** tratar una solución acuosa con  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  al 10%. Un precipitado blanco insoluble en HCl indica la presencia de sulfato.

### **Acción de reactivos generales para alcaloides**

**Reactivos:** Valser-Mayer, Dragendorff, ácido pícrico

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** aparecen precipitados en presencia de alcaloides o de otro compuesto básico (los anestésicos locales también precipitan). Este ensayo tiene valor cuando el resultado es negativo.

### **Investigación de ácido bórico-** Ensayo del éster metilbórico

#### **Reactivos**

Metanol

Ácido sulfúrico concentrado



**Procedimiento:** En cápsula de porcelana colocar unos centigramos de la muestra y agregar 5 ml de metanol puro y 3 gotas de ácido sulfúrico; mezclar bien y llevar a habitación a oscuras. Inflamar el alcohol.

**Resultados:** Los bordes de la llama aparecen de color verde esmeralda si existe ácido bórico. En casos negativos el color de la llama es azul.

### **Ensayo para azúcares reductores**

**Reactivo: Benedict**

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** color rojo debido a la formación de óxido cuproso por la presencia de agentes reductores

### **Ensayo con permanganato de potasio en medio acuoso – ácido**

#### **Reactivos**

Ácido clorhídrico al 1% en volumen

Solución acuosa saturada de permanganato de potasio

Reactivo de *p* – DMAB

**Procedimiento:** Colocar en tubo de ensayo, aproximadamente 10 mg del producto y disolver en 1 ml de ácido clorhídrico al 1% en volumen; agregar gota a gota y agitando solución acuosa saturada de permanganato de potasio hasta obtener un precipitado violeta oscuro, neto (caso de la cocaína pura) o bien, de existir sustitutos reductores (anestésicos locales y otros), se observa precipitado color castaño. En caso de reducción del permanganato de potasio colocar, en placa de porcelana, una pequeña fracción del producto y agregar 1 – 2 gotas de solución de reactivo de *p* – DMAB.

**Resultados:** Aparece de inmediato un precipitado o color amarillo intenso o amarillo naranja en presencia de novocaína u otros sustitutos con amino grupo cíclico libre.

En caso de no observarse reducción del oxidante se trataría de cocaína pura.

### **Observación microcristaloscópica**

La cocaína en presencia de permanganato forma cristales en forma de láminas en ocasiones superpuestas de bordes escalonados y transparentes.

Otros cristales típicos son los que se originan con el ácido pícrico, el ácido cloroplatinico, el ioduro de plomo, etc.

## 5.29 CODEÍNA

### Características

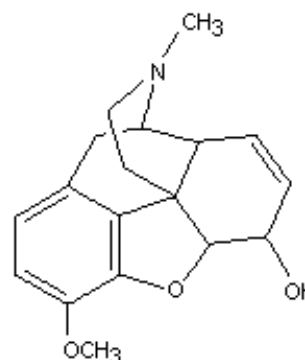
Sinónimos: Metil éster morfina; 3-O-metilmorfina monohidratada, (5*a*,6*a*)-7,8-Didehydro -4,5- epoxy -3-methoxy -17-methylmorphinan -6-ol monohydrate

Fórmula molecular: C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O

Peso molecular relativo: 317

N° CAS: 76-57-3 (anhidra); 6059-47-8 (monohidratada)

pKa= 8,2 (20°C)



**Estructura Química**

### Descripción general

La codeína es un analgésico narcótico obtenido del opio o por metilación de la morfina. La codeína es metabolizada por O-demetilación y N-demetilación para dar morfina y norcodeína, respectivamente, y por conjugación forma glucurónidos y sulfatos de ambas drogas y metabolitos. La dosis fatal estimada de codeína en un adulto es 800 mg. Sin embargo la codeína es mucho menos tóxica que la morfina y la muerte por codeína es rara.

### Sintomatología clínica

La sobredosis aguda de codeína produce pupilas mióticas, hipotensión, hipotermia, coma, convulsiones, edema pulmonar y arritmias cardíacas. La muerte puede ocurrir por depresión respiratoria profunda. La naloxona revierte rápidamente el efecto tóxico central de la codeína

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, restos de la escena.

#### Reactivos

Liebermann

Mandelin

Marquis

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Colores observados frente a los reactivos de Liebermann: negro; Mandelin: verde y Marquis: violeta

#### Cromatografía en capa delgada

La codeína se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA; CC; CE y CAE

#### Revelado

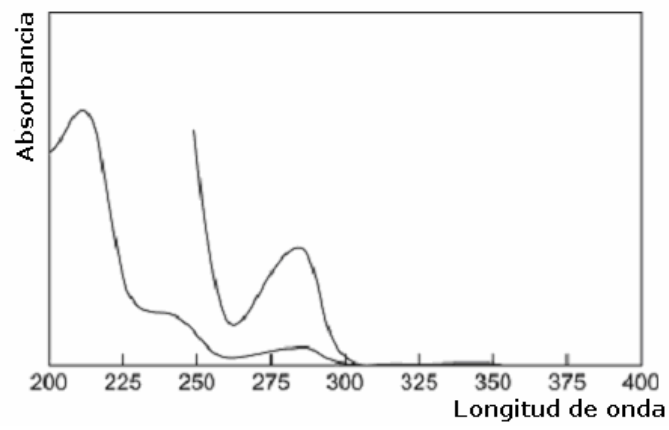
Solución ácida iodoplatínica: positivo

Dragendorff: positivo

Marquis: violeta

#### Barrido al UV

En medio acuoso ácido la codeína presenta un máximo a 285 nm. (Figura 5.18)



**Figura 5.18- Barrido al UV de la codeína**

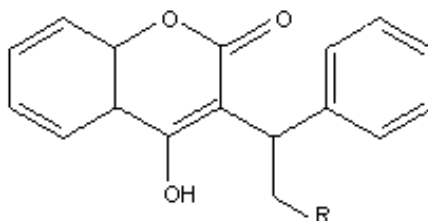
## 5.30 CUMARÍNICOS

### Características

Sinónimo: Fenprocoumon: 4-hidroxi-3-(1-fenilpropil)cumarina

Fórmula química:  $C_{18}H_{16}O_3$

Peso molecular relativo: 280



R =  $CH_3$  (phenprocoumon)

R =  $CO.CH_3$  (warfarin)

### Estructura Química

#### Descripción general

Dentro de este grupo podemos encontrar a los rodenticidas anticoagulantes. Son sustancias derivadas de la 4-hidroxi-cumarina (anticoagulantes de primera generación) y la indano-1,3-diona (anticoagulantes de segunda generación o superwarfarínicos).

Como anticoagulantes tipo hidroxycumarina se pueden citar: la warfarina, coumaclor y coumatetrail; mientras que en el grupo de los superwarfarínicos se encuentran: brodifacoum, bromadiolona, difacinona, clorofacinona y difenacoum.

Estos compuestos se usan ampliamente como agentes terapéuticos. La warfarina es también usada como un rodenticida. Estas sustancias inhiben la coagulación de la sangre por interferencia de la síntesis de los factores de coagulación vitamina-K-dependiente.

Su acción es acumulativa por lo tanto la toxicidad resulta de la administración crónica, aunque también ocurren intoxicaciones agudas accidentales o intencionales.

#### Sintomatología clínica

Las características de la intoxicación aguda con los anticoagulantes incluyen la aparición de petequias, formación de hematomas y hemorragia franca, sobre todo de los tractos genitourinario y gastrointestinal. Las concentraciones en suero de cualquier compuesto mayor a 5 mg/l son acompañados a menudo por complicaciones hemorrágicas. El fenprocoumon y la warfarina tienen una larga vida media en plasma (6 - 7 días y 0,5 - 3 días respectivamente), y pacientes con concentraciones altas en el suero deben tratarse rápidamente. La terapia consiste en suplementación con vitamina K hasta que el tiempo de protrombina llegue al rango normal. En los casos muy severos pueden considerarse la administración intravenosa de plasma fresco o los factores de la coagulación purificados.

#### Laboratorio

El tiempo de protrombina proporciona un método simple, no específico, de medición de la severidad de intoxicaciones con anticoagulantes y para el monitoreo del tratamiento.

#### Ensayo cualitativo

**Muestra:** plasma o suero (1 ml).

#### Cromatografía en capa delgada

Los cumarínicos se pueden detectar en cromatografía en capa delgada, previa extracción de la muestra de sangre:

A 1 ml de la muestra y testigo se agregan 0,9 ml de ácido clorhídrico diluido, 0,1 ml de acetona y 5 ml de cloroformo.

Mezclar durante 2 minutos en un agitador mecánico y centrifugar por 10 minutos.

Retirar la capa superior acuosa, filtrar el extracto cloroformico a través de papel de filtro. El extracto se evapora a sequedad bajo corriente de aire comprimido o nitrógeno.

Disolver el residuo en 50 µl de cloroformo, sembrar en la placa y desarrollarla hasta una altura de 10 centímetros.

Fase móvil el sistema: n-butil acetato:cloroformo:solución acuosa de ácido fórmico (850 ml/l) (60:40:10).

**Revelado**

Observar la fluorescencia al UV

Warfarina: purpúrea oscura

Fenprocoumon: púrpura más brillante

Las concentraciones plasmáticas aproximadas de estos compuestos pueden ser evaluadas por la comparación con los resultados obtenidos con patrones de concentraciones conocidas, sembrados y corridos en la misma placa.

**Sensibilidad:** Warfarina o fenprocoumon 0,5 mg/l.

## 5.31 DEXTROPROPOXIFENO

### Características

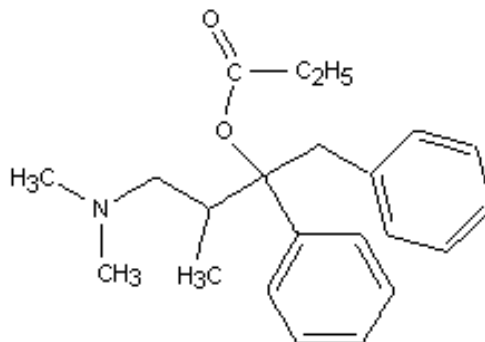
Sinónimos: (+) - Propoxifeno: (+)-(1S,2R)-1-benzil-3-dimetilamino-2-metil-1 propionato de fenilpropil

Fórmula molecular:  $C_{22}H_{29}NO_2$

Peso molecular: 340

N° CAS: 469-62-5

pKa: 6,3



Estructura Química

### Descripción General

El dextropropoxifeno es un analgésico narcótico relacionado estructuralmente con la metadona y a menudo aparece en formulaciones terapéuticas junto al paracetamol. El dextropropoxifeno se metaboliza fundamentalmente a N-desmetildextropropoxifeno (nordextropropoxifeno) el cual es el principal metabolito urinario.

### Sintomatología clínica

La sobredosis con dextropropoxifeno produce miosis, hipotensión, hipotermia, coma, edema pulmonar, convulsiones y arritmias cardíacas. La muerte puede suceder rápidamente por profunda depresión respiratoria, sobre todo si también está presente el etanol.

Antídoto: La naloxona rápidamente revierte los efectos tóxicos centrales del dextropropoxifeno.

### Laboratorio

#### Cromatografía en capa delgada

El dextropropoxifeno se pueden detectar en cromatografía en capa delgada (CCD) a partir del extracto básico de la orina.

Como fase móvil se pueden utilizar los sistemas: CA, CB y CC

#### Revelado

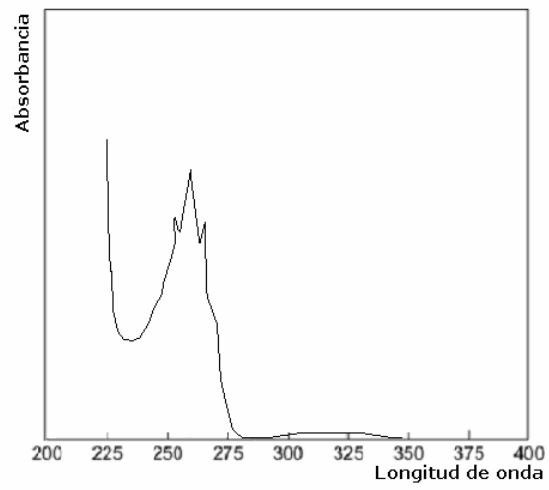
Dragendorff: positivo

Solución ácida iodoplatínica: positivo

Marquis: violeta

#### Barrido al UV

En medio acuoso ácido el dextropropoxifeno presenta máximos a 252, 257 y a 263 nm. En medio alcalino no presenta picos. (Figura 5.19)



**Figura 5.19- Barrido al UV del dextropropoxifeno**

## 5.32 DIQUAT

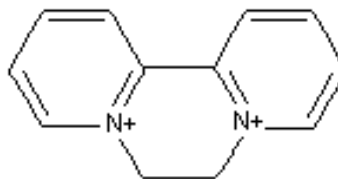
### Características

Sinónimos: 1,1'-etileno-2,2'-bipiridilium ión

Fórmula molecular:  $C_{12}H_{12}N_2$

Peso molecular: 184

N° CAS: 2764-72-9



Estructura Química

### Descripción general

El Diquat es un herbicida de contacto, relacionado con el paraquat con el que a menudo se formula. El Diquat se encuentra frecuentemente como sales de dibromuros y se han reportado muertes por la ingestión de tan solo 2 g de diquat. El diquat y paraquat dan productos muy coloreados con el ditionito de sodio y esta reacción forma la base para su identificación.

### Sintomatología clínica

La ingestión de diquat puede causar irritación de la boca y garganta, dolor epigástrico, vómitos, diarrea, parálisis intestinal, malestar, excitación, convulsiones, coma y fallo hepatorenal. Al contrario del paraquat, el diquat no causa fibrosis pulmonar progresiva. El tratamiento es principalmente sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos

Ditionito

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Colores observados. Ditionito: color amarillo-verdoso.

**Sensibilidad:** Diquat, 5 mg/l

**Observaciones:** Este test no puede evidenciar el diquat en presencia de paraquat (Paraquat da color azul intenso-azul oscuro).

### Barrido al UV

En medio acuoso ácido el diquat presenta un máximo a 310 nm. (Figura 5.20)

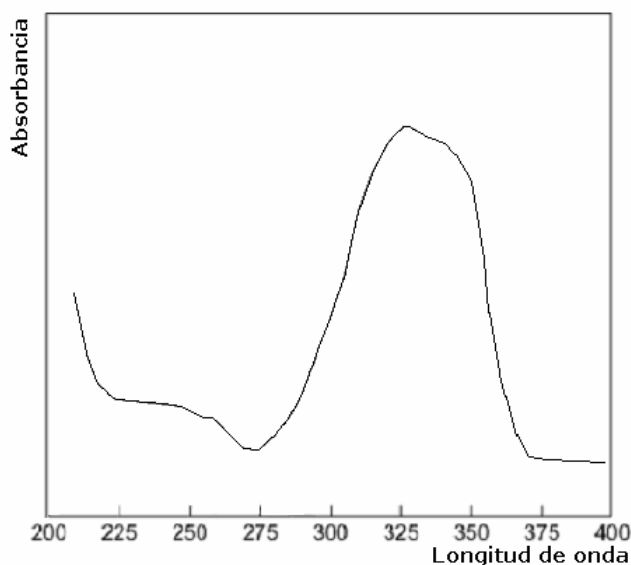


Figura 5.20- Barrido al UV del diquat



## 5.33 EFEDRINA

### Características

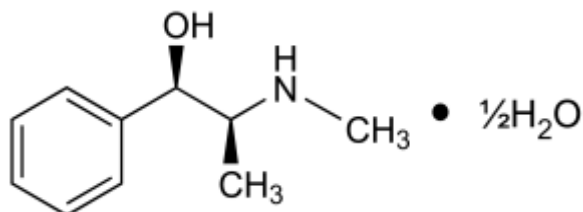
Sinónimos: (1R,2S)-2-Metilamino-1-fenilpropan-1-ol hemihidrato, efedrina hidratada

Fórmula molecular:  $C_{10}H_{15}NO(H_2O) \cdot 1/2 H_2O$

Peso molecular: 174,2

N° CAS: 50906-05-3

pKa: 9,6 (25°C).



Estructura Química

### Descripción general

La efedrina es un agente simpaticomimético. Es un alcaloide obtenido de las especies *Ephedra* o preparado sintéticamente. Se metaboliza por N-demetilación a norefedrina (fenilpropanolamina). También se metaboliza por deaminación oxidativa y posterior conjugación. La efedrina es por sí un metabolito de metilefedrina. La dosis letal mínima estimada de efedrina en un adulto es de 4 g, pero las fatalidades son raras.

### Propiedades fisicoquímicas

La efedrina se presenta en forma de cristales coloreados o polvo blanco cristalino o gránulos que se descomponen con la exposición a la luz. Su solubilidad es 1 parte en 20 de agua, 1 parte en 1 de etanol, es soluble en cloroformo con turbidez y soluble en éter.

### Sintomatología clínica

La sobredosis de efedrina puede causar náuseas, vómitos, dolor de cabeza, sed, irritabilidad, fiebre, taquicardia, sudoración, midriasis, convulsiones, coma y depresión respiratoria. El tratamiento es sintomático y de soporte.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** Liebermann

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Liebermann: rojo-naranja

#### Cromatografía en capa delgada

Pueden ser detectados e identificados por cromatografía en capa delgada a partir de la orina de la cual se extrae el analito a investigar mediante una extracción con solvente en medio básico.

La efedrina se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CE y CAE

#### Revelador

Dragendorff: positivo

Ninhidrina: positivo

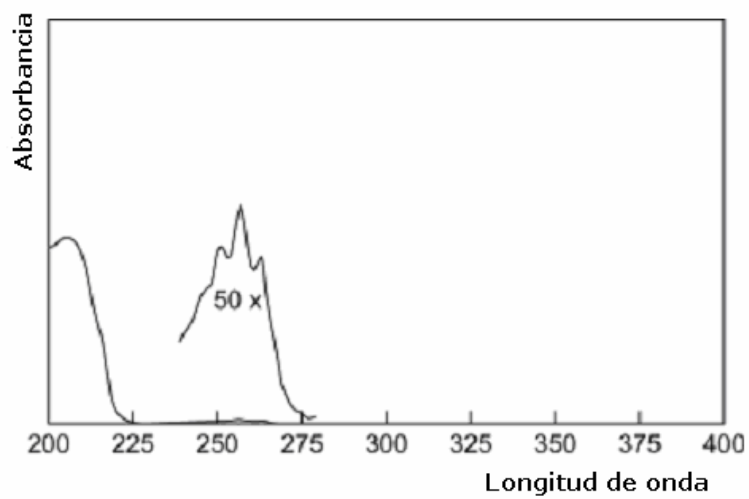
Solución de iodoplatínico acidificada: positivo

Marquis: marrón

Permanganato de potasio ácido: positivo

#### Barrido al UV

En solución ácida se puede realizar un barrido al UV obteniendo un espectro característico con máximos a 251, 257 y 263 nm. (Figura 5.21)



**Figura 5.21. Barrido al UV de la efedrina**

## 5.34 ESTRICNINA

### Características

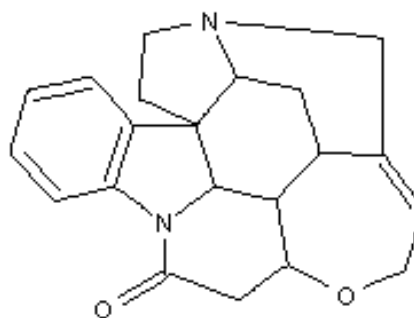
Sinónimos: Estrictina-10-ona

Fórmula estructural:  $C_{21}H_{22}N_2O_2$

Peso molecular relativo: 334,4

N° CAS : 57-24-9

pKa: 2,3 ; 8,0 (25°C)



Estructura Química

### Descripción general

La estricnina y los compuestos relacionados con la brucina (10, 11- dimetoxiestricnina) son alcaloides muy tóxicos derivados de las semillas de *Strychnos nux-vomica* y otras especies de *Strychnos*. La estricnina tiene un sabor amargo y a veces se usó en tónicos por esta razón. Es también usado para exterminar roedores y otras plagas de mamíferos. Ha sido usado para adulterar la diamorfina. En Argentina ha sido prohibido su uso mediante la Resolución 774/2004 del Ministerio de Salud de la Nación.

### Propiedades fisicoquímicas

La estricnina se presenta en forma de cristales traslúcidos, coloridos o polvo cristalino blanco. Es ligeramente soluble en agua y éter, soluble 1 parte en 182 de etanol, 1 en 250 de metanol, 1 en 150 de benceno, 1 en 83 de piridina y 1 en 65 de cloroformo.

### Sintomatología clínica

La ingestión de estricnina puede causar convulsiones y posiciones opistótonas las cuales son características. El tratamiento es sintomático y el paciente puede necesitar cuidados intensivos.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

**Reactivos:** Mandelin

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Colores observados frente al reactivo de Mandelin: violeta

#### Cromatografía en capa delgada

La estricnina se puede investigar mediante cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA y CE

**Muestras:** orina

#### Revelador

Dragendorff: positivo

Solución de iodoplatínico acidificada: positivo

#### Otras reacciones

##### Reacción frente al vanadato de amonio

##### Reactivos

Hidróxido de amonio concentrado (densidad relativa 0,88).

Vanadato de amonio (5 g/l) en ácido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

**Procedimiento:** Agregar 5 ml de muestra a 1 ml de hidróxido de amonio concentrado y extraer con 20 ml de cloroformo durante 10 minutos usando un mezclador rotatorio.

Centrifugar durante 10 minutos, quitar la capa superior acuosa y transferir el extracto del solvente orgánico a un tubo limpio. Evaporar el extracto a sequedad bajo una corriente de aire comprimido o de nitrógeno y disolver el residuo en 100 µl de cloroformo.

Transferir 50 µl del extracto reconstituido a una placa de porcelana y agregar 50 µl de solución de vanadato de amonio.

**Resultados:** Un color violeta que cambia a rojo y luego amarillo después de 10 minutos hace pensar en la presencia de estricnina.

**Sensibilidad:** 100 mg/l.

### Reacción frente a los Nitritos

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Zinc granulado.

Ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).

Solución acuosa de nitrito de sodio (100 g/l, recientemente preparada).

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min. Agregar gránulos de zinc a 1 ml de muestra y 1 ml de ácido clorhídrico y calentar en un baño de agua hirviente por 10 minutos. Enfriar y quitar el zinc restante y agregar 50 µl de solución de nitrito de sodio.

**Resultados:** En presencia de estricnina se observa un color rosa.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

### Reacción de Malaquín-Denigés

#### Reactivos

Solución de Cloruro Mercuríco al 10% en ácido clorhídrico.

Granallas de Zinc.

Nitrito de sodio solución al 0,5%.

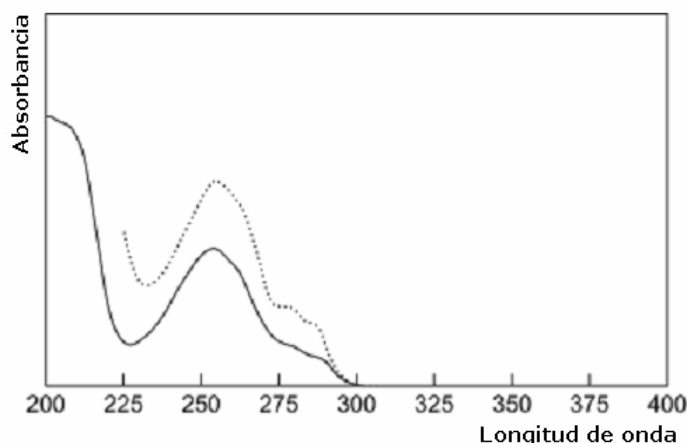
Agua de Bromo a saturación.

**Procedimiento:** Colocar en un tubo de ensayo 1 - 2 ml de solución sospechosa de contener alcaloide con igual volumen de una solución clorhídrica de cloruro mercuríco al 10% y 2 a 3 g de Zn en granallas. Hervir en baño maría 5 a 10 minutos, enfriar.

Colocar unas gotas sobre placa de toque en dos de las cavidades. A una de ellas se le agregan 1 - 2 gotas de solución reciente de nitrito de sodio al 0,5% y a la otra 1 - 2 gotas de agua de bromo a saturación. En caso positivo aparecerá en la primera cavidad un color rojo de intensidad variable y en la segunda un color rojo púrpura (reacciones de la tetrahidroestricnina).

### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico en medio ácido con picos de absorción máxima a 254 nm y en medio alcalino a 255 y 278 nm. (Figura 5.22)



**Figura 5.22. Barrido al UV de la estricnina**

## 5.35 ETANOL

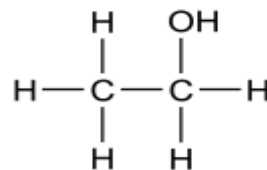
### Características

Sinónimos: Alcohol etílico; alcohol

Fórmula estructural: C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

Peso molecular : masa molecular relativa, 46

N° CAS: 64-17-5



Estructura  
Química

### Descripción general

Las intoxicaciones agudas con etanol son el resultado de la ingestión de bebidas alcohólicas. También ocurren intoxicaciones con alcohol industrial conteniendo varias sustancias desnaturalizantes como por ejemplo el metanol.

### Propiedades fisicoquímicas

Es una sustancia volátil, rápidamente inflamable, higroscópica. Es miscible en agua, cloroformo y éter.

### Sintomatología clínica

El etanol se absorbe rápidamente por intestino y causa desinhibición, visión borrosa, adormecimiento, incoordinación, confusión, náuseas, vómitos y coma en los casos severos.

La hipoglucemia y convulsiones pueden estar presentes, sobre todo en jóvenes y niños. El tratamiento de la intoxicación aguda es sintomático y de sostén, aunque la diálisis puede ser considerada en los casos severos.

Una guía simple para interpretar los resultados de la concentración de etanol en sangre se observa en la Tabla

Sin embargo, se debe tener presente que el etanol potencia los efectos depresivos de muchas otras drogas que actúan sobre el sistema nervioso central y que los alcohólicos crónicos pueden mostrar pocos efectos de intoxicación incluso con concentraciones de etanol sanguíneo de 4 g/l o más.

**TABLA: Interpretación de las concentraciones del etanol en sangre**

Etanol en sangre g/l	Rasgos Clínicos (consumidores no habituales de alcohol)
0,5	Cara carmesí, euforia, pocos efectos clínicos en los adultos. Puede asociarse con hipoglucemia en los niños.
1,0	Incoordinación, defectos del discurso.
1,5	Marcada incoordinación, andar tambaleante, midriasis, nistagmus.
3,0	Incoordinación total, estupor, vómitos.
5,0	Coma

El etanol puede administrarse para el tratamiento de las intoxicaciones con etilenglicol y metanol, ya que inhibe la producción de metabolitos tóxicos. Es necesario supervisar las concentraciones de etanol en sangre.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena

#### Reactivos

Dicromato de potasio

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Color observado frente al Dicromato de potasio: verde

### Otras reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Dicromato de potasio (25 g/l) en solución de ácido sulfúrico (500 ml/l).

**Procedimiento:** Aplicar 50 µl de solución de dicromato de potasio a una tira papel filtro e insertar el papel en el cuello del tubo de vidrio que contiene 1 ml de muestra. Cerrar ligeramente el tubo con tapón y colocarlo en un baño de agua hirviendo durante 2 minutos.

**Resultados:** Un cambio en el color de naranja al verde indica la presencia de los agentes volátiles reductores como etanol, acetaldehído, metanol y paraldehído los cuales tienen poder reductor frente al dicromato.

**Sensibilidad:** 0,5 g/l.

### Ensayo cuantitativo

**Muestras:** sangre entera, plasma, suero, orina (0,8 ml) u homogeneizado de tejido (4 ml de tejido homogeneizado equivalente a 0,8 g de tejido).

### Determinación por Microdifusión

**Muestras:** sangre entera, plasma, suero, orina u homogeneizado de tejido.

En el caso de sangre, usar sangre entera, de preferencia con fluoruro de sodio como anticoagulante. También puede usarse heparina o EDTA. Puede usarse suero o plasma, pero sus valores representarán 1,18 veces los valores de la sangre total.

#### Reactivos:

**Solución de dicromato de potasio en ácido sulfúrico:** Se pesan 3,75 gr de dicromato de potasio y se disuelven en 150 ml de agua destilada, calentando si fuera necesario. A continuación se agregan 280 ml de ácido sulfúrico concentrado en forma lenta y agitando continuamente. Durante esta operación se mantiene refrigerado el recipiente. Una vez adquirida la temperatura ambiente se completa a un volumen de 650 ml con agua destilada.

**Solución saturada de Carbonato de potasio:** Se pesan 112 g de carbonato de potasio anhidro y se disuelven en agua destilada. Dejar a temperatura ambiente y llevar a un volumen de 100 ml.

**Solución Madre de alcohol:** Se prepara una solución al 1% en peso de etanol, midiendo 1,27 ml de alcohol absoluto o 1,34 ml de alcohol 95° y se lleva a un volumen de 100 ml con agua destilada.

**Soluciones de los testigos:** Preparar a partir de la solución madre testigos conteniendo, 0,5; 1,0; 2,0 y 3,0 g /l

**Procedimiento:** En cámara de Conway colocar en el compartimento interno 2 ml de solución de dicromato de potasio en medio ácido. En el compartimento externo colocar 1 ml de solución saturada de carbonato de potasio como liberante. Colocar la tapa esmerilada lubricada hasta cerrar parcialmente y depositar en el otro extremo del compartimento externo 0,8 ml de sangre o 4 ml de tejido homogeneizado. Cerrar e imprimir un movimiento rotatorio sobre una superficie plana, a fin de mezclar la muestra con el reactivo liberante. Es importante colocar la solución de carbonato de potasio en el lado opuesto al que se halla la muestra de sangre sin que tomen contacto hasta que la cámara este perfectamente tapada. Si se mezclaran antes de tapar comenzaría la liberación de alcohol de inmediato y se cometería error por defecto.

Proceder de forma similar en otra cámara de Conway colocando 0,8 ml de testigo en lugar de la muestra.

Dejar difundir a temperatura ambiente 3 horas para muestras de sangre u orina; o toda la noche para muestras de tejido.

Una vez cumplido el tiempo de difusión, trasvasar el contenido del compartimento interno en forma cuantitativa (enjuagando el compartimento con pequeños volúmenes de agua destilada varias veces) a un tubo graduado de 10 ml de capacidad. Llevar a 10 ml con agua, mezclar por inversión.

Preparar un blanco en tubo graduado de 10 ml, colocando 2 ml de solución sulfúrica de dicromato de potasio y llevar a 10 ml con agua. Mezclar por inversión.

Leer en espectrofotómetro a 450 nm llevando a cero con agua destilada.

**mg de volátiles reductores/100 ml = ( Abs. del blanco - Abs. de la muestra) x F**

$$F = \frac{\text{Concentración del testigo}}{\text{Abs. del blanco} - \text{Abs. del testigo}}$$

O también puede realizarse una curva de calibración con testigos de concentraciones conocidas crecientes de etanol y calcular el valor en la muestra a partir de la curva obtenida.

**Observaciones:** La presencia de acetaldehído o alcohol isopropílico da lugar a reacciones similares con formación de ácido acético y acetona respectivamente, con la consiguiente reducción del dicromato de potasio.

La posibilidad de que ocurran estas reacciones le restan especificidad al método, siendo por ello conveniente informar los resultados de las determinaciones como **“contenido en sustancias reductoras volátiles”**. Ante la sospecha de estar frente a una intoxicación por otro alcohol o sustancias reductoras deben efectuarse previamente reacciones de identificación de estos compuestos mediante reacciones específicas.

### **Determinación por el Método enzimático**

#### **Reactivos**

Solución testigo de etanol: 80 mg/dl.

Buffer glicina.

Viales individuales de NAD -ADH

**Procedimiento:** Reconstituir los viales de NAD -ADH con 3 ml de buffer glicina. No agitar.

Agregar a cada vial:

Blanco	10 µl de agua destilada
Testigo	10 µl de testigo
Muestra	10 µl de muestra

Tapar y mezclar por inversión.

Incubar por 10 minutos a una temperatura entre 22 y 37 °C.

Transferir las soluciones a una cubeta y leer las absorbancias a 340 nm de la muestra y del testigo frente al blanco.

#### **Cálculos:**

$$\text{Conc. de alcohol (mg/dl)} = \frac{\text{Abs. muestra} \times \text{concentración del testigo (mg/dl)}}{\text{Abs. testigo}}$$

$$\text{Alcohol mg/dl} = \frac{\text{Abs. muestra} \times 80}{\text{Abs. testigo}}$$

Si la concentración de alcohol en la muestra excede los 300 mg/dl diluir 1 parte de la muestra con 1 parte de solución fisiológica. Repetir la determinación y el resultado multiplicarlo por 2.

## 5.36 FENACETINA

### Características

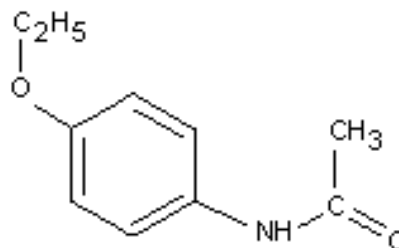
Sinónimos: p-Etoxiacetanilida; acetofenetidina; p-Acetiphenetidide; Aceto-p-phenetidide; Acetofenetidin; Acetilfenetidina; Paracetofenetidina

Fórmula estructural:  $C_{10}H_{13}NO_2$

Peso molecular: 179,2

Nº CAS: 62-44-2

pKa: 2,2.



Estructura Química

### Descripción general

La fenacetina se usó previamente como analgésico, pero el uso a largo plazo estaba asociado con nefrotoxicidad. Se metaboliza principalmente a paracetamol.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda de fenacetina puede causar vértigo, euforia, cianosis, anemia hemolítica, depresión respiratoria, y paro cardiorrespiratorio. A menudo se produce metahemoglobinemia y se puede observar sangre de color chocolate. Es importante usar muestras frescas de sangre ya que la metahemoglobina es muy inestable. Metabolizada a paracetamol, la fenacetina no causa necrosis hepatorenal aguda.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos

Reactivo de Lieberman

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Liebermann: violeta que pasa a rojo

### Otras reacciones de color

**Muestras:** orina hidrolizada

#### Reactivos

o-cresol amoníaco

**Procedimiento:** A 0,5 ml de la muestra agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado calentar en baño de agua hirviendo por 10 minutos y enfriar. Agregar 1 ml de la solución de o-cresol a 0,2 ml del hidrolizado y 2 ml de solución de hidróxido de amonio, mezclar por 5 segundos.

**Resultados:** Color observado frente al o-cresol / amoníaco: azul-fuerte, indica presencia de paracetamol. Esta prueba es muy sensible y pondrá de manifiesto dosis terapéuticas de fenacetina 24-48 horas después de haber sido administrada.

### Cromatografía en capa delgada

La fenacetina se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando los sistemas: CD, CE y CAE

**Revelado:** ver Anexo 1 preparación de reactivos

Solución de permanganato de potasio acidificada: positivo

### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico de la fenacetina en solución ácida con un máximo a 244 nm (Figura 5.23)



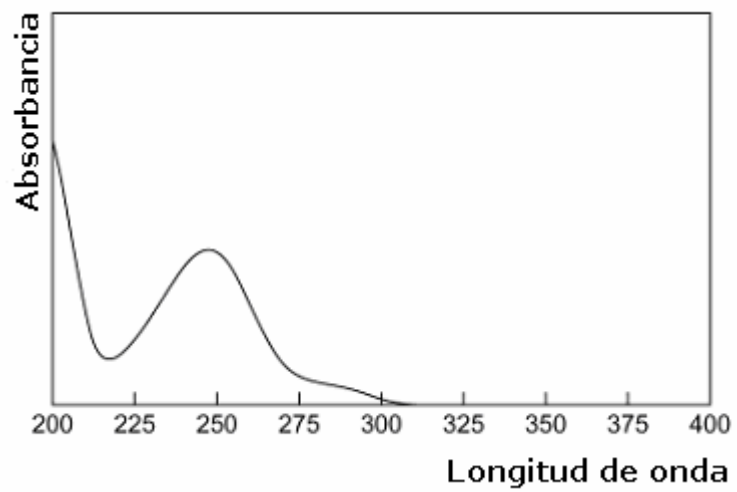


Figura 5.23. Barrido al UV de la fenacetina

## 5.37 FENITOÍNA

### Características

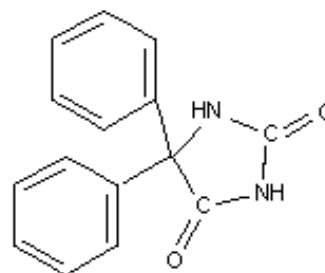
Sinónimos: Difenhidantoína; 5,5-difenilimidazolidina-2,4-diona;

Fórmula estructural:  $C_{15}H_{12}N_2O_2$

Peso molecular : 252,3

N° CAS: 57-41-0

pKa: 8,3 (25°C).



**Estructura Química**

### Propiedades fisicoquímicas

Es un polvo cristalino. Prácticamente insoluble en agua, soluble 1 parte en 60 de etanol, 1 en 500 de cloroformo, 1 en 30 de acetona y 1 en 600 de éter y soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos.

### Descripción general

La fenitoína es un anticonvulsivante ampliamente usado. Las vías metabólicas incluyen la hidroxilación aromática y conjugación. Se ha observado que menos del 5% de una dosis, se excreta inalterada en la orina. La dosis letal mínima estimada para un adulto es de 5 g. Pocos casos involucran a esta sustancia con sobredosis fatales.

### Sintomatología clínica

Los síntomas de intoxicación con fenitoína incluyen temblor, nistagmus, ataxia, coma, depresión respiratoria. La sobredosis intravenosa está asociada con toxicidad cardíaca. El tratamiento es sintomático y de sostén. La hemoperfusión debe ser evaluada en casos severos.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos

Zwikker-Koppanyi

Liebermann

Nitrato mercurioso

**Procedimiento:** Disolver la muestra en 1 ml de etanol, agregar gota a gota del reactivo de Zwikker-Koppanyi seguido por 10  $\mu$ l de pirrolidina y agitar.

A una alícuota de una solución de la muestra colocada en tubo agregar 1 ml de ácido nítrico y 3 ml de nitrato mercurioso y calentar a ebullición.

**Resultados:** Colores observados frente a los siguientes reactivos: Zwikker-Koppanyi: violeta  
Liebermann: rojo-naranja y Nitrato mercurioso: negro

### Cromatografía en capa delgada

La fenitoína se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CE, CF y CAE

#### Revelado

Cloruro de mercurio-difenilcarbazona: positivo

Nitrato mercurioso: negro

### Barrido al UV

El barrido al UV característico de la fenitoína en metanol presenta dos máximos de absorción a 258 y 264 nm (Figura 5.24)

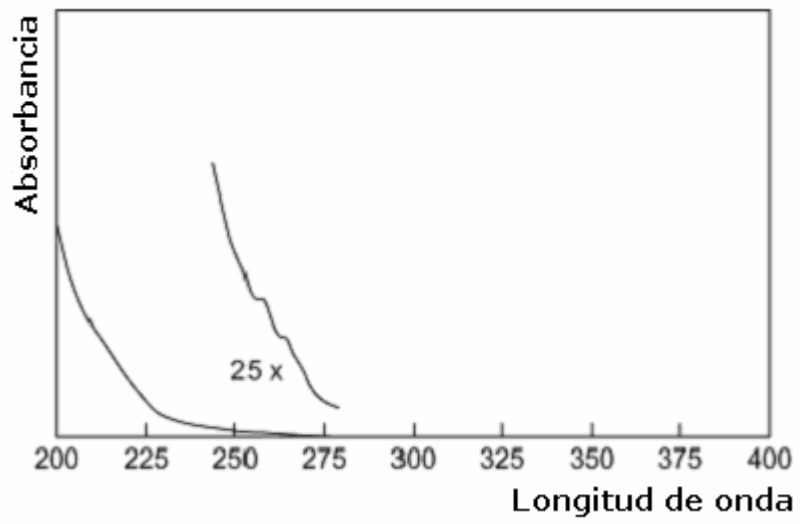


Figura 5.24. Barrido al UV de la fenitoína

## 5.38 FENOL

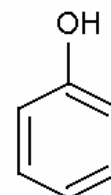
### Características

Sinónimos: hidroxibenceno; ácido fénico

Fórmula estructural:  $C_6H_5OH$

Peso molecular: 94

N° CAS: 108-95-2



Estructura Química

### Descripción general

El fenol y el cresol son usados como desinfectantes y en la industria de los plásticos. La dosis mínima letal estimada de fenol o cresol en un adulto es de 1-2 g.

Ambos compuestos, fenol y cresol, son absorbidos a través de la piel y por vía gastrointestinal. Se excretan en la orina principalmente como glucurónidos y sulfatos conjugados.

### Sintomatología clínica

Los fenoles queman y provocan despigmentación de la piel, corroe los labios y la boca si fueron ingeridos. La intoxicación aguda provoca náuseas, vómitos, dolor abdominal, hemorragia gástrica o perforación, acidosis metabólica, coma, hipotensión y shock. La muerte sobreviene por depresión respiratoria. El fallo hepatorenal es una complicación adicional y la orina puede desarrollar un color oscuro debido a la presencia de hemoglobina libre. Aparte de la decontaminación superficial con aceite de ricino o aceite de oliva, el tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Prueba cualitativa

**Muestra:** orina

#### Reactivos

Folin-Ciocalteu

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Un color azul indica la presencia de compuestos fenólicos. Los fenoles halogenados como el 2,4,6-triclorofenol reaccionan menos que el fenol no halogenado.

**Sensibilidad:** 10 mg/l.

#### Barrido al UV

En medio acuoso ácido el fenol presenta máximos a 270 y en medio alcalino a 287 nm. (Figura 5.25)

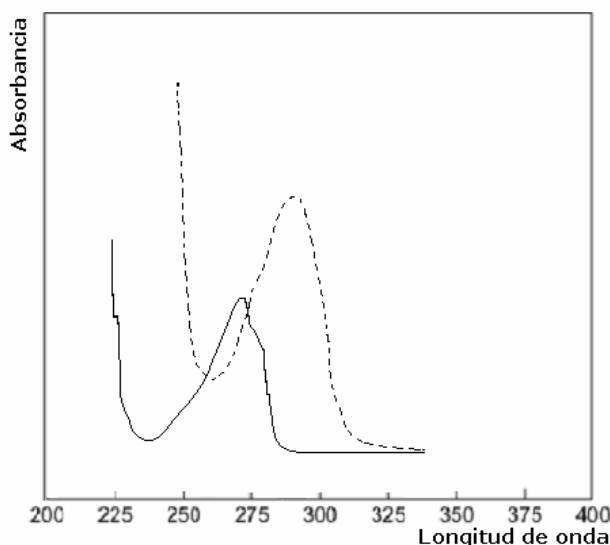


Figura 5.25. Barrido al UV del fenol

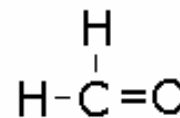
## 5.39 FORMALDEHÍDO

### Características

Sinónimos: Acetaldehído Fórmico, Metanal, Oxido de metileno.

Fórmula estructural: CH<sub>2</sub>O

Peso molecular: 30,0



Estructura Química

### Propiedades fisicoquímicas

Es un gas inflamable, soluble en agua, etanol y éter.

## SOLUCIÓN DE FORMALDEHÍDO

### Características

Sinónimos: formalina o formol

Fórmula estructural: CH<sub>2</sub>O

Peso molecular 30,0

Nº CAS: 50-00-0

### Propiedades físicoquímicas:

En solución acuosa contiene 34-28% p/p de CH<sub>2</sub>O y metanol como estabilizador. Es un líquido incoloro y su densidad es 1,08. Es miscible en agua, etanol, acetona e inmisible en cloroformo, éter.

### Características generales

El formaldehído se metaboliza rápidamente a formiato en el organismo y es metabolito del metanol. La intoxicación aguda con formaldehído es rara, pero 30 ml de formalina pueden ser fatales en un adulto.

### Sintomatología clínica

Los vapores de formaldehído son muy irritantes por inhalación y pueden causar conjuntivitis, tos y el edema laríngeo y pulmonar, bronquitis, neumonía. La ingestión de solución de formaldehído puede producir dolor abdominal, vómitos, diarrea, hipotensión, coma, acidosis metabólica y fallo renal agudo.

## Laboratorio

### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

### Reactivos

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Ácido cromotrópico (sólido).

Ácido sulfúrico concentrado (densidad 1,83).

### Procedimiento

Agregar 0,1 ml de solución 2M de ácido clorhídrico a 0,1 ml de solución de la muestra y mezclar durante 5 segundos.

Agregar aproximadamente 100 mg de ácido del cromotrópico y mezclar por 5 segundos.

Cuidadosamente agregue 1,5 ml de ácido sulfúrico concentrado y caliente en un baño de agua a 60°C durante 10 minutos.

**Resultados:** frente al Ácido cromotrópico y en presencia de formaldehído se observa color rojo-violeta

## 5.40 FÓSFORO Y FOSFUROS

### Descripción general

El Fósforo amarillo (P) y el fosfuro de cinc, aluminio y magnesio se usan como rodenticidas, en forma de pasta de azúcar y salvado. Estos compuestos han sido prohibidos en Argentina por Resolución N° 224/2004 del Ministerio de Salud de la Nación.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con fósforo amarillo da lugar a úlceras gastrointestinales, náusea y vómitos, llevando al coma, hipotensión y daño hepatorenal. Los fosfuros se convierten en fosfina ( $\text{PH}_3$ ) al contacto con el agua o el aire húmedo y este gas actúa sobre el sistema nervioso central y el gastrointestinal. El dolor abdominal puede ser seguido de náuseas, vómitos, ataxia, convulsiones y coma, llevando a la muerte, normalmente dentro de las 2 horas, en casos severos. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

**Muestra:** residuos de la escena.

#### Reactivos:

Solución saturada de nitrato de plata en metanol

Solución acuosa de acetato de plomo (100 g/l).

**Procedimiento:** **Mojar** una tira de papel de filtro en la solución de nitrato de plata y dejar secar a la temperatura ambiente.

Mojar una tira similar de papel de filtro en la solución de acetato de plomo y secar a temperatura ambiente. Colocar 5 ml de muestra en un tubo resistente al calor, colocar un corcho en la boca del tubo y cortar a cada lado una ranura. Insertar los papeles de filtro en las ranuras (de modo que estén en contacto con la atmósfera que contiene la muestra), colocar el tapón en el tubo y calentar en baño maría a  $60^\circ\text{C}$  durante 20 minutos.

**Resultados:** Si sólo el papel de filtro que contiene el nitrato de plata se tiñe de negro pueden estar presentes fósforo o fosfuros. Si se tiñen de negro ambos papeles pueden estar presentes sulfuros y el resultado es inconcluso.

**Sensibilidad:** 1 g/l.

### Otros Ensayos

#### Ensayo del molibdato de amonio- o-Toluidina

Con el papel de filtro teñido de negro con nitrato de plata en la prueba realizada anteriormente se continúa de la siguiente manera:

#### Reactivos

Reactivo de molibdato de amonio. Mezclar 5 g de molibdato de amonio en 100 ml de agua destilada y 35 ml de ácido nítrico concentrado (densidad 1,42).

Reactivo de o-Toluidina. Mezclar 50 mg de o-toluidina y 10 ml de ácido acético glacial, diluido a 100 ml con el agua destilada.

Hidróxido del amonio concentrado (densidad relativa 0,88)

Hipoclorito de calcio polvo.

**Procedimiento:** Colocar el papel de filtro con nitrato plata en un portaobjeto al microscopio, cubrir con un cubreobjeto y agregar hipoclorito de calcio.

Llevar a una cámara húmeda durante 15 minutos para permitir que se oxide el fosfuro a fosfato.

Remover el exceso de hipoclorito por lavado cuidadoso con una cantidad pequeña de agua destilada y secar el papel del ensayo con papel absorbente.

Agregar 50  $\mu\text{l}$  de reactivo de molibdato de amonio al papel seco seguido por 50  $\mu\text{l}$  de reactivo del o-toluidina y exponer el papel a los humos de amoníaco (hidróxido de amonio) concentrado bajo campana.

**Resultados:** Un color azul confirma la presencia de fósforos.

**Sensibilidad:** Fósforo, 1 g/l.

## 5.41 HIDRATO DE CLORAL

### Características

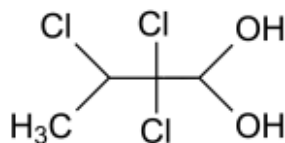
Sinónimos: cloral; 2,2,2-tricloroetano-1,1-diol; croton; hidrato de butilclorato, triclorobutildeno glicol, 2,2,3-Trichlorobutane-1,1-diol

Fórmula química:  $C_2H_3O_2Cl_3$

Peso molecular: 165

N° CAS: 76-40-4C

$C_4H_7Cl_3O_2=193,5$



Estructura Química

### Descripción general

El hidrato de cloral es un sedante y un agente hipnótico. La actividad farmacológica del hidrato de cloral y compuestos relacionados como la dicloralfenazona, se estima que proviene de un metabolito el 2,2,2-tricloroetanol el que a su vez se metaboliza a ácido tricloroacético. Este último compuesto se puede identificar en la orina usando la prueba de Fujiwara.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con el hidrato del cloral puede causar vómitos, excitación, ataxia, confusión, adormecimiento, estupor, hipotensión, coma, arritmias cardíacas, depresión respiratoria y edema pulmonar.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

## Laboratorio

### Reacciones de color

#### Ensayo de Fujiwara

**Muestra:** orina,

#### Reactivos

Reactivo de Fujiwara

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a:** 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b:** 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c:** 1 ml de ácido tricloroacético acuoso

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviente durante 2 minutos.

**Resultados:** Un intenso color rojo/púrpura en la capa superior de piridina indica la presencia de compuestos de triclorados. El blanco de agua destilada excluye la contaminación con los compuestos como el cloroformo de la atmósfera del laboratorio. Otros compuestos reaccionan con esta prueba pero el tricloroacético es el más común.

Este ensayo es muy sensible y pondrá en evidencia una dosis terapéutica de hidrato de cloral luego de 12-24 horas de producida la ingestión.

**Sensibilidad:** tricloroacetato, 1 mg/l.

## 5.42 HIDROXIBENZONITRILLO HERBICIDAS

### Características

La mayoría de los hidroxibenzonitrilos son:

**Bromoxinil** (3,5-dibromo-4-hidroxibenzonitrilo)

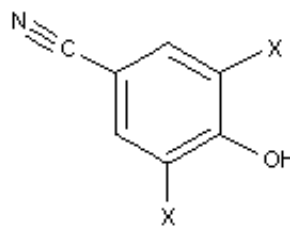
Fórmula estructural:  $C_7H_3Br_2NO$

Peso molecular: 277

**Loxynil** (3,5-diiodo-4-hidroxibenzonitrilo)

Fórmula estructural:  $C_7H_3I_2NO$

Peso molecular: 371



Estructura Química

### Descripción general

Estos compuestos son herbicidas de contacto con actividad sistémica y son usados ampliamente en los cultivos de los cereales. Tanto el Bromoxinil como el Loxynil producen desacople de la fosforilación oxidativa, por lo que la intoxicación con estos compuestos sigue un comportamiento similar a otras sustancias que producen este desacople como los pesticidas dinitrofenol y pentaclorofenol y pueden ser debidas tanto por exposición profesional, como por ingestión oral.

### Sintomatología clínica

La absorción de bromoxinil y loxinil puede dar lugar a fatigas, irritabilidad, sudoración excesiva, hipertermia, taquicardia, vómitos y sed que puede ser seguido por agotamiento y fallo cardiorrespiratorio. Sin embargo no aparecen manchas características en la piel como ocurre con los pesticidas dinitrofenólicos. El tratamiento es principalmente sintomático y de sostén.

Al igual que con los herbicidas clorofenoxiacéticos, la alcalinización puede proteger contra la toxicidad sistémica de estos compuestos.

Concentraciones mayores que 20 mg/l en plasma de cualquier de estos compuestos pueden desencadenar las características clínicas de esta intoxicación.

### Laboratorio

#### Ensayo Cuantitativo

**Muestras:** plasma o suero (1,0 ml).

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido tricloroacético (10 g/l).

Testigos: Soluciones que contienen alguno de los compuestos señalados en concentraciones de 20, 50, 100, 200 y 400 mg/l en plasma blanco.

**Procedimiento:** Agregar 1 ml de la solución de ácido tricloroacético a 1 ml de muestra, plasma blanco y los testigos colocados en sendos tubos de vidrio de 10 ml provistos con tapón de vidrio.

Agregar a cada tubo 5 ml de éter metil butil terciario, mezclar en vortex por 30 segundos y centrifugar durante 5 minutos.

Separar las capas superiores (etérea), filtrar a través de papel filtro y transvasarlos a tubos limpios.

Medir la absorbancia a 255 nm contra el blanco del extracto del plasma.

**Resultados:** Construir un gráfico de absorbancias vs. concentraciones del hidroxibenzonitrilo de los testigos preparados y calcular la concentración del hidroxibenzonitrilo en la muestra. Debe tomarse cuidado para minimizar la pérdida del éter metil butil terciario por evaporación antes de la medición de la absorbancia del extracto.

**Observaciones:** Los herbicidas Clorofenoxiacéticos y otros compuestos que son solubles en agua no interfieren. Sin embargo, si se realiza un barrido espectrofotométrico comparando los espectros de absorción de las muestras y extractos de los patrones entre 220-300 nm se puede revelar la presencia de otros compuestos interferentes.

**Sensibilidad:** Bromoxinil o loxinil, 20 mg/l



## 5.43 HIERRO

### Descripción general

Las sales ferrosas (hierro II) se usan en el tratamiento de las anemias por deficiencia de hierro. Las sales férricas (hierro III) son más tóxicas y han sido usadas como abortivos. La dosis letal mínima del sulfato ferroso en un adulto es del orden de 30 g, pero 1 g puede ser peligroso en un infante. Los vómitos o contenido estomacal de color verde o azul hacen pensar en la presencia de hierro o las sales de cobre.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con las sales férricas es sumamente peligrosa, sobre todo en los niños pequeños. El hierro absorbido puede exceder rápidamente la capacidad de enlace de transferrina y entonces el hierro libre aumenta en sangre. La necrosis rápida de la mucosa gastrointestinal puede cursar con hemorragias y pérdida de electrolitos y fluidos. El tratamiento puede incluir terapia de quelación con deferoxamina por vía intravenosa u oral.

Las concentraciones férricas normales en suero están por debajo 1,8 mg/l (34  $\mu\text{mol/l}$ ). La toxicidad puede ocurrir a concentraciones sérica por encima de 5 mg/l (90  $\mu\text{mol/l}$ ) en niños y 8 mg/l (145  $\mu\text{mol/l}$ ) en adultos. En suero la concentración férrica debe medirse antes y durante la terapia de quelación; ambos confirman la necesidad del tratamiento y supervisa su eficacia. La medición se puede realizar con equipos de rutina de laboratorio de ferremia.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena

**Reactivos:**

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Solución de ferricianuro de potasio (10 g/l).

Solución de ferrocianuro de potasio (10 g/l).

**Procedimiento:** A 0,1 ml de muestra agregar 0,1 ml de solución de ácido clorhídrico y 0,05 ml de solución de ferricianuro de potasio y mezclar por 5 segundos.

A otros 0,1 ml de muestra agregar 0,1 ml de solución de ácido clorhídrico y 0,05 ml de solución de ferrocianuro de potasio, mezclar durante 5 segundos.

Dejar durante 5 minutos a temperatura ambiente y centrifugar por 5 minutos.

Resultados: Un precipitado azul profundo en presencia de ferricianuro de potasio (paso 1) y con ferrocianuro de potasio (paso 2) indica presencia de hierro ferroso y férrico, respectivamente. Esta prueba cualitativa puede usarse para diferenciar entre el hierro ferroso, férrico y otros metales, mientras que el ensayo cuantitativo puede usarse para medir hierro en suero.

**Sensibilidad:** Hierro ferroso o férrico, 10 mg/l.

#### Ensayo Cuantitativo

**Muestra:** Aplicable a suero no hemolizado (2 ml).

Cuidado al tomar la muestra: la descarga vigorosa desde la jeringa de extracción puede provocar una hemólisis suficiente para inutilizar este ensayo.

**Reactivos:**

Solución acuosa de sulfito de sodio de 0,1 mol/l, recientemente preparada.

2,2'-Bipiridilo 1 g/l en solución acuosa de ácido acético (30 ml/l).

Acido clorhídrico 0,005 mol/l.

**Testigos:** Preparar soluciones acuosas conteniendo ión ferroso en concentraciones de 1, 2, 5 y 10 mg/l por dilución de una solución madre de sulfato doble ferroso y de amonio (1 g de ión ferroso por litro) en ácido clorhídrico.

**Procedimiento:** Mezclar 2 ml de muestra, 2 ml de sulfito de sodio y 2 ml de 2,2'-Bipiridilo en un tubo de centrifuga de 10 ml de vidrio con cuello esmerilado.

Calentar en un baño maría a ebullición por 5 minutos, enfriar y agregar 1 ml de cloroformo.

Tapar, mezclar por rotación durante 5 minutos y luego centrifugar por 5 minutos.

Si se forma una emulsión tratar con vortex por 30 segundos y repetir la centrifugación.

Separar la fase clorofórmica, filtrarla usando papel de filtro separador de fases y medir la absorbancia del extracto a 520 nm contra blanco de reactivo.

**Resultados:** Construir una curva de calibración de absorbancia vs. concentración de los testigos del ión ferroso y calcular la concentración de hierro en la muestra.

**Observaciones:** Este método no debería ser usado si agentes quelantes, tales como deferoxamina, han sido dados antes de obtener la muestra, ya que el resultado no será confiable.

**Sensibilidad:** 0, 5 mg/l.

## 5.44 HIPOCLORITOS

### Descripción general

Los hipocloritos, como el hipoclorito de sodio (NaOCl) y el hipoclorito de calcio (polvo blanqueador) y la cal tratada con cloro,  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) se usan ampliamente en el blanqueo y en soluciones desinfectantes. La lavandina doméstica es una solución acuosa de 30-60 g/l de hipoclorito de sodio, pero concentraciones superiores a 200 g/l se pueden usar, por ejemplo, para tratar con cloro el agua de las piletas de natación.

Los hipocloritos son agentes oxidantes fuertes y las determinaciones dadas mas adelante también pondrán en evidencia compuestos con propiedades similares, como bromatos, cloratos, iodatos, nitratos y nitritos.

### Sintomatología clínica

La ingestión de hipoclorito puede llevar a la formación de ácido hipocloroso por la reacción con el ácido gástrico y esto puede a su vez liberar cloro libre que puede inhalarse. Los síntomas de intoxicación con hipoclorito incluyen náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, confusión, hipotensión, coma y edema pulmonar. La irritación y corrosión de las membranas mucosas y la perforación esofágica y gástrica también puede aparecer, sobre todo cuanto más concentradas son las formulaciones. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Difenilamina

**Procedimiento:** Filtrar, si es necesario 5 ml de contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml. Agregar 0,5 ml del filtrado o del residuo de la escena en un tubo limpio y lentamente agregar 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de tal manera que se forme una capa por debajo de la muestra evitando que se mezclen ambos líquidos.

**Resultados:** La aparición de un color azul fuerte que se desarrolla inmediatamente en la unión de las dos capas indica la presencia de oxidantes.

**Interferencias:** Un color azul ligero se observa en la mayoría de las muestras de contenido estomacal por la presencia de material orgánico. Como los agentes oxidantes fuertes son rápidamente reducidos en las muestras biológicas, el ensayo debe realizarse lo mas pronto que sea posible después de recibida la muestra.

**Observaciones:** En contraste con otros agentes oxidantes fuertes, los hipocloritos tienden a liberar gas cloro verde nocivo (tenga cuidado) cuando se trata con ácido sulfúrico concentrado y ésta es una propiedad importante que permite su identificación.

**Sensibilidad:** Hipoclorito, 10 mg/l

#### Otras reacciones

#### Ensayo del acetato

**Muestras:** Contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos:

Ácido acético glacial.

Solución acuosa de acetato de plomo (50 g/l).

**Procedimiento:** Agregar ácido acético gota a gota a 1 ml de solución de la muestra hasta pH final de aproximadamente 6 (medir con papel del indicador universal). Agregar 0,5 ml de solución de acetato de plomo y llevar a ebullición durante 2-3 minutos.

**Resultados:** Un precipitado castaño confirma la presencia de hipoclorito. Los sulfhidrilos dan inmediatamente un precipitado marrón / negro con la solución de acetato de plomo.

**Sensibilidad:** Hipoclorito, 10 mg/l.

#### Ensayo de ioduro de potasio / almidón

#### Reactivos

Solución acuosa de ioduro de potasio (100 g/l).

Ácido acético glacial.

Almidón (sólido).

**Procedimiento:** Agregar 0,1 ml de solución de la muestra a 0,1 ml de ácido acético y 0,1 ml de la solución de ioduro de potasio. Mezclar y agregar aproximadamente 20 mg de almidón.

**Resultados:** Un color azul confirma la presencia de hipoclorito.

**Sensibilidad:** Hipoclorito, 10 mg/l.

## 5.45 IODATOS

### Descripción general

Los iodatos como el iodato de potasio ( $\text{KIO}_3$ ) y el iodato de sodio ( $\text{NaIO}_3$ ) se usan como desinfectantes, aditivos alimentarios, en suplementos dietarios y reactivos químicos. Los iodatos son agentes oxidantes fuertes.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con iodatos puede causar náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, confusión, coma y convulsiones. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

#### Ensayo de la Difenilamina

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Difenilamina

**Procedimiento:** Filtrar, si es necesario 5 ml de contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml. Agregar 0,5 ml del filtrado o del residuo de la escena en un tubo limpio y lentamente agregar 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de tal manera que se forme una capa por debajo de la muestra evitando que se mezclen ambos líquidos.

**Resultados:** Aparición de un color azul fuerte que se desarrolla inmediatamente en la unión de las dos capas indica presencia de oxidantes.

**Sensibilidad:** Iodato, 1 mg/l

#### Ensayo del tiocianato

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos:

Solución acuosa de ácido acético (50 ml/l).

Solución acuosa de almidón (10 g/l, preparada en el momento).

Solución acuosa de tiocianato de potasio (50 g/l).

**Procedimiento:** A 0,1 ml de solución de almidón agregar 0,3 ml de agua destilada y 0,1 ml de solución de tiocianato de potasio. Mezclar bien y agregar 0,1 ml de solución de la muestra acidificada con 0,1 ml de la solución de ácido acético.

**Resultados:** Una coloración azul es específica para el Iodato

**Sensibilidad:** Iodatos, 100 mg/l.

## 5.46 IODO, IODUROS

### Descripción general

El Iodo ( $I_2$ ) es uno de los antisépticos más antiguos en medicina. Se usa tópicamente en solución etanólica (tintura de Iodo) conteniendo Iodo elemental y Ioduro de potasio (KI) adicionado de Ioduro de sodio (NaI) que refuerza la solubilidad del Iodo formando el ión poliiodato. El Ioduro de potasio y el Ioduro de sodio se usan como suplementos dietarios y en fotografía, pero es relativamente inócuo comparado con el Iodo.

Cuando se aplica Iodo a las membranas superficiales o mucosas se absorbe como Ioduros.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con soluciones de Iodo puede causar corrosión de las membranas mucosas de la boca, esófago y estómago, vómitos, diarrea y dolor abdominal. En los casos severos, delirio, coma, colapso circulatorio y fallo renal agudo. La absorción de una pequeña concentración de 2-4 g de Iodo libre puede causar la muerte.

El tratamiento es generalmente sintomático y de sostén. El almidón puede administrarse para adsorber el Iodo ingerido oralmente.

La ingestión aguda de sales de Ioduros puede causar angioedema, inflamación de laringe y hemorragias cutáneas. Sin embargo, como con los bromuros, las señales de toxicidad para una intoxicación aguda, incluyen sensación de quemazón en boca y garganta, sabor metálico, dolor en dientes y encías, hipersalivación, dolor de cabeza, edema pulmonar, agrandamiento de las parótidas y glándulas del submaxilar, anorexia, diarrea, fiebre y depresión.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

## Laboratorio

### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido nítrico 2 mol/l.

Solución de nitrato de plata (10 g/l).

Hidróxido del amonio (densidad relativa 0,88).

**Procedimiento:** Agregar 0,1 ml de ácido nítrico a 1 ml de solución de la muestra, mezclar y agregar 0,1 ml de solución del nitrato de plata.

Centrifugar para aislar cualquier precipitado y tratarlo con 0,1 ml de solución de hidróxido de amonio.

**Resultados:** Un precipitado insoluble en el medio amoniacal indica la presencia de Ioduros.

**Sensibilidad:** 100 mg/l.

### Otras reacciones

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Acido clorhídrico (2 mol/l).

Almidón (sólido).

Solución del nitrito de sodio (100 g/l, preparado en el momento)

**Procedimiento:** Mezclar 0,1 ml de solución de muestra, aproximadamente 20 mg de almidón, 0,1 ml de ácido clorhídrico diluido y 0,1 ml de solución de nitrito de sodio en un tubo de prueba.

**Resultados:** Una coloración azul confirma la presencia de Ioduros.

**Sensibilidad:** 100 mg/l.

## 5.47 ISONIAZIDA

### Características

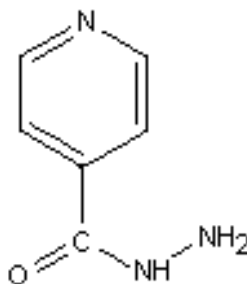
Sinónimos: INAH; INH; Acido Isonicotínico Hidrazida; Isonicotinoilhidrazina; Isonicotinilhidrazida; Isonicotinilhidrazina; Tubazida; RP-5015; FSR-3.

Fórmula estructural :  $C_6H_7N_3O$

Peso molecular: 137

N° CAS: 2066-89-9

pKa: 1,8; 3,5; 10,8 (20°C).



Estructura Química

### Descripción general

La isoniazida se usa en el tratamiento de la tuberculosis. La principal vía metabólica es la acetilación, pero otras reacciones incluyen hidrólisis, unión con la glicina y N-metilación. Un 70% de una dosis se excreta en la orina como metabolitos. Intoxicaciones graves pueden ocurrir en adultos con dosis de 3 g.

### Sintomatología clínica

La sobredosis de isoniazida puede causar náuseas, vómitos, midriasis, hipotensión, hiperglucemia, oliguria, acidosis metabólica, coma, convulsiones, y falla circulatoria y respiratoria. El tratamiento es generalmente sintomático y de sostén, aunque la administración de piridoxina intravenosa (vitamina B<sub>6</sub>) se indica en casos severos.

Las concentraciones de isoniazida en plasma durante la terapia son menores de 10 mg/l. Efectos tóxicos se han sido asociado a concentraciones mayores de 20 mg/l en el plasma y son fatales concentraciones mayores a 150 mg/l.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

**Reactivo:** reactivo de Nessler

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Aparición de color negro

#### Cromatografía en capa delgada

La isoniazida se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CC, CE y CAE

#### Revelado

Ácido iodoplatínico: positivo

#### Ensayo cuantitativo

**Muestras:** plasma o suero (2 ml).

#### Reactivos

Solución de ácido metafosfórico (200 g/l).

Solución de ácido acético (2 mol/l).

Reactivo de nitroprusiato de sodio. Mezclar 25 ml de solución nitroprusiato de sodio (20 g/l) con 25 ml de solución de hidróxido de sodio (4 mol/l), recientemente preparado.

**Testigos:** Soluciones patrones que contengan concentraciones de isoniazida de 5, 10, 20 y 50 mg/l en plasma blanco.

**Procedimiento:** Agregar a 2 ml de la muestra colocada en tubo de centrifuga 4 ml de agua destilada y 2 ml de ácido metafosfórico diluido. Mezclar durante 30 segundos y dejar

descansar durante 10 minutos. Centrifugar durante 5 minutos y transferir 4 ml del sobrenadante a un tubo limpio.

Agregar 2 ml de solución de ácido acético, 2 ml de reactivo de nitroprusiato de sodio y mezclar durante 5 segundos. Esperar 2 minutos y medir la absorbancia a 440 nm contra un blanco de plasma.

**Resultados:** Construir un gráfico de calibración con las soluciones de los testigos de isoniazida y calcular la concentración de isoniazida en la muestra.

**Observaciones:** Las muestras que contienen concentraciones de isoniazida mayores que 50 mg/l deben diluirse adecuadamente.

Las drogas relacionadas como la iproniazida y la pirazinamida interfieren en este ensayo. El 4-aminosalicilato también interfiere, pero sólo si está presente a una alta concentración.

**Sensibilidad:** 5 mg/l.

### Barridos al UV

En medio acuoso ácido se observa un máximo a 266 nm y en medio alcalino a 298 nm. (Figura 5.26)

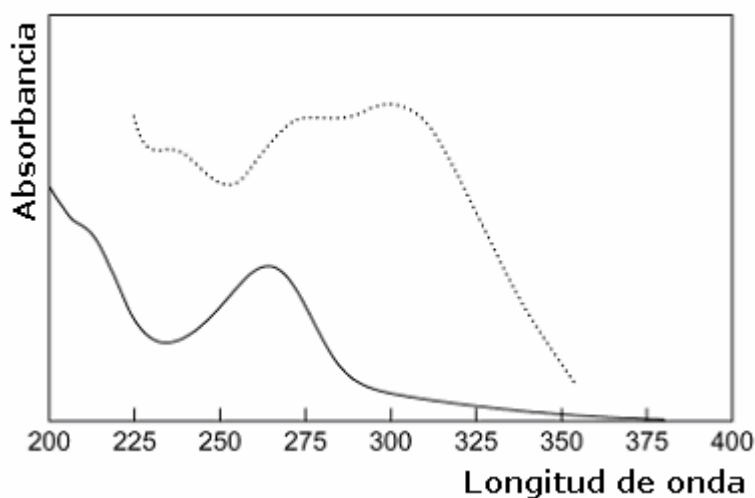


Figura 5.26. Barrido al UV de la isoniazida



## 5.48 LIDOCAÍNA

### Características

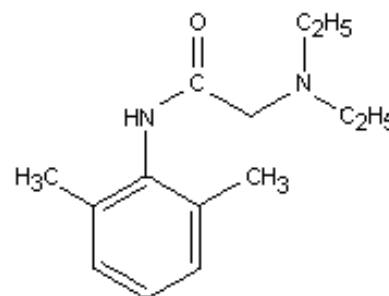
Sinónimos: Lignocaina; 2-dietilaminoacetato-2',6'-xilidida.

Fórmula estructural:  $C_{14}H_{22}N_2O$

Peso molecular: 234

N° CAS: 137-58-6

pKa: 7,9 (25°C).



Estructura Química

### Descripción general

La lidocaína se usa como un anestésico local y se encuentra en los geles lubricantes para el uso de catéteres. También se usa como un antiarrítmico pero sólo es eficaz cuando se administra en forma intravenosa. Las vías de metabolización son la N-dealquilación, hidroxilación, hidrólisis de la amida y la formación del glucurónido. Sólo un 3% de la dosis oral se excreta inalterada por orina. La dosis letal por vía oral de lidocaína es aproximadamente de 25 g en adultos.

La lidocaína se encuentra a menudo en orina y otras muestras de intoxicados, a veces en concentraciones muy altas. Esto resulta del uso tópico del gel lubricante que contiene lidocaína.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con lidocaína puede causar confusión, parestesia, hipotensión, coma, convulsiones y fallo circulatorio. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena

#### Reactivos

Ácido nítrico / nitrato mercurioso

**Procedimiento:** A una alícuota de una solución de la muestra colocada en tubo agregar 1 ml de ácido nítrico y 3 ml de nitrato mercurioso y calentar a ebullición.

**Resultado:** coloración amarilla o amarilla-verdosa.

#### Cromatografía en capa delgada

La lidocaína se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CB, CC, CE y CAE

#### Revelado

Solución ácida iodoplatínica: positivo

Marquis: rosado

Dragendorff: positivo

#### Barridos al UV

En solución acuosa ácida presenta dos máximos a absorción a 263 nm y 272 nm. (Figura 5.27)

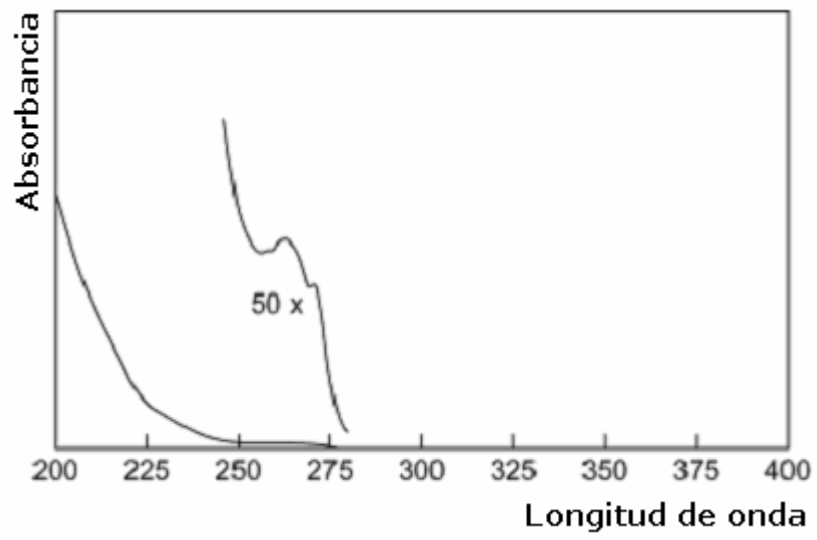


Figura 5.27. Barrido al UV de la lidocaína

## 5.49 MEPROBAMATO

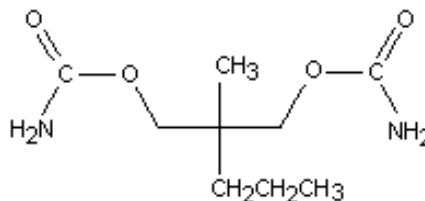
### Características

Sinónimos: 2-Metil-2-iso-propilpropano-1,3-diol dicarbamato

Fórmula química:  $C_9H_{18}N_2O_4$

Peso molecular: 218

N° CAS: 57-53-4



Estructura Química

### Descripción general

El meprobamato es un sedante y tranquilizante. Sus metabolitos incluyen meprobamato n-óxido y 2 hidroxipropilmeprobamato. Con una sola dosis, cerca del 90% se excreta como metabolitos por orina y el 10% se excreta sin modificaciones. La dosis letal mínima estimada en un adulto es de 12 g pero se han producido intoxicaciones con dosis mayores.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con meprobamato causa hipotensión, hipotermia, debilidad muscular, nistagmus, acidosis, coma, depresión respiratoria, edema pulmonar, falla aguda renal y coagulación intravascular diseminada.

El tratamiento normalmente es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, resto de la escena.

#### Reactivos:

Furfuraldehído

Nessler

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Colores observados frente al Furfuraldehído: negro y al reactivo de Nessler: gris-negro

#### Cromatografía en capa delgada

El meprobamato se puede detectar en cromatografía en capa delgada a través de una extracción ácida, utilizando como fase móvil el sistema: CA

#### Revelado secuencial

Furfuraldehído/ácido sulfúrico: violeta

Van Urk: amarillo

Dragendorff: positivo

## 5.50 MERCURIO

### Características

Sinónimos: Azogue, Hidrargirio

Símbolo químico: Hg

Peso molecular: 200,6

N° CAS: 7439-97-6

### Descripción general

El mercurio (Hg) y sus sales inorgánicas son usadas en la manufactura de termómetros, filtros, pinturas, explosivos, lámparas, equipamiento eléctrico y baterías. El dietil mercurio, dimetil mercurio y una variedad de compuestos mercúricos, incluyendo compuestos mercuriales inorgánicos se utilizaron como fungicidas primariamente sobre semillas y bulbos y en tierras con césped. El cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) es extremadamente tóxico y la ingestión de 1 g puede provocar una intoxicación fatal en un adulto. Como el antimonio, arsénico y bismuto, el mercurio puede detectarse usando el test de Reinsch.

### Sintomatología clínica

El mercurio elemental se absorbe muy poco en el aparato gastrointestinal y no es considerado tóxico por esta vía. Los vapores de mercurio son absorbidos a través de piel y por vía respiratoria y producen estomatitis, se incrementa la salivación, gusto metálico, diarrea y falla renal. La ingestión de sales de mercurio produce dolor gástrico, vómitos, diarrea sanguinolenta y también falla renal que usualmente causa la muerte. Los compuestos mercuriales son concentrados en el sistema nervioso central y producen ataxia y convulsiones.

El tratamiento es sintomático y de soporte y debe incluir terapia con quelantes. La concentración de mercurio en sangre y orina son buenos indicadores de exposición pero sólo métodos de espectrofotometría de absorción atómica son confiables para estos casos.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

##### Ensayo de Reinsch

**Muestras:** Orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

##### Reactivos

Ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18).

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

Lámina o malla de cobre (5 x 10 mm) o alambre (2-3 cm).

Solución del ácido nítrico (500 ml/l).

**Procedimiento:** Inmediatamente antes de usar la lámina, limpiarla con ácido nítrico hasta que el cobre adquiera una superficie luminosa.

Enjuagar la lámina de cobre con agua destilada, colocarla en un erlenmeyer de 100 ml y agregar 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y 20 ml de solución a investigar.

Calentar en un baño de agua hirviente, bajo campana, durante 1 hora. Mantener el volumen de la solución agregando ácido clorhídrico diluido cuando sea necesario.

Enfriar y suavemente lavar la laminilla de cobre con el agua destilada.

**Resultados:** Brillo plateado - Mercurio

##### Otras reacciones:

Se utiliza para este ensayo la lámina metálica obtenida mediante el test de Reinsch.

##### Reactivo

Suspensión de ioduro de cobre (I). Disolver 5 g de sulfato de cobre (II) y 3 g de sulfato ferroso en 10 ml de agua destilada con movimientos continuos y agregar 7 g de ioduro de potasio en 50 ml de agua. Permitir la precipitación de ioduro de cobre (I) filtrar y lavar con agua. Transferir a un frasco de color marrón o caramelo. La suspensión es estable poco tiempo.

**Procedimiento:** Agregar 0,1 ml de suspensión de ioduro de cobre (I) en un papel de filtro, colocar la lámina metálica sobre el papel de filtro, tapar y dejar por 1-12 horas.

**Resultados:** Una coloración salmón indica la presencia de mercurio. El resultado positivo debe ser obtenido dentro de 1 hora, pero con bajas concentraciones el color se desarrolla hasta en 12 horas.

**Sensibilidad:** 5 mg/l.

## 5.51 METACUALONA

### Características

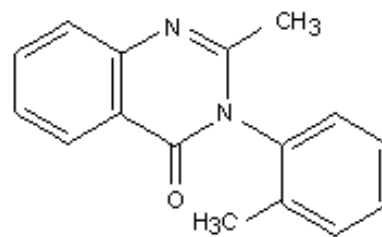
Sinónimos: 2-Metil-3-(2-metilfenil)-4(3H)-quinazolinona.

Fórmula química:  $C_{16}H_{14}N_2O$

Peso molecular: 250

Nº CAS: 72-44-6

pKa: 2,5.



Estructura Química

### Descripción general

La metacualona es un hipnótico no barbitúrico, que actualmente es poco usado debido a su toxicidad. El producto del metabolismo incluye hidroxilación aromática, n-oxidación y conjugación. Menos del 2 % de una dosis es excretada por orina sin cambios. La dosis letal mínima estimada de metacualona en un adulto es de 5 g.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con metacualona puede causar hipertensión, mioclonía, papiloedema, taquicardia, edema pulmonar, coma y convulsiones.

El tratamiento es generalmente sintomático y de soporte. La hemoperfusión debe ser indicada en casos severos.

### Laboratorio

#### Cromatografía en capa delgada

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

La metacualona se puede detectar, en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CE y CC

#### Revelador

Dragendorff: positivo

Solución de yodo platínico acidificada: positivo

#### Barrido al UV

En solución acuosa ácida presenta picos 234 y 269 nm y en solución alcalina a 265 y 306 nm. (Figura 5.28)

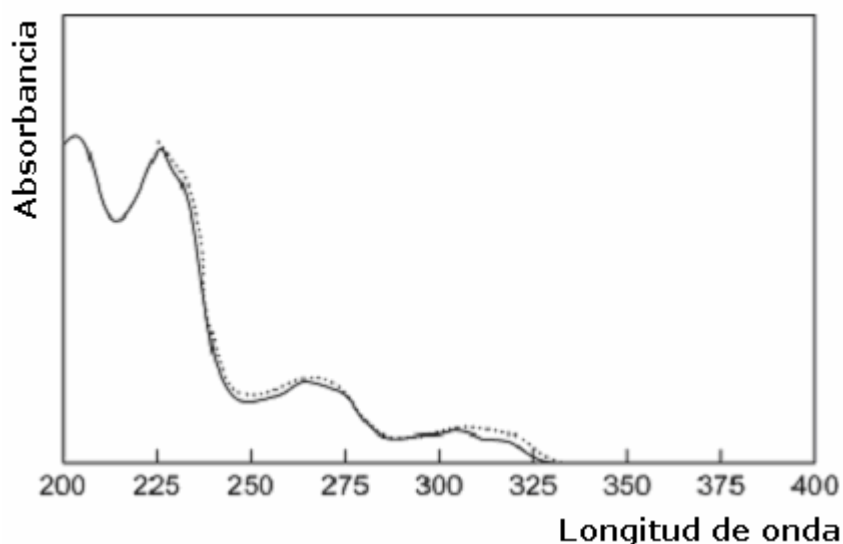


Figura 5.28. Barrido al UV de la metacualona

## 5.52 METADONA

### Características

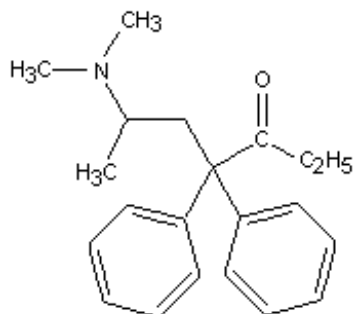
Sinónimos: (±)-6-Dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanona, Amidina; Amidona.

Fórmula molecular:  $C_{21}H_{27}NO$

Peso molecular: 309,4

N° CAS: 76-99-3

pKa: 8,3 (20°C); 8,94 (25°C).



Estructura Química

### Descripción general

La metadona es un analgésico narcótico estructuralmente relacionado con el dextropropoxifeno y es ampliamente usado en tratamientos en casos de dependencia con opioides. La metadona se metaboliza ampliamente por n-demetilación e hidroxilación. Aproximadamente el 30% de la dosis oral es excretada sin cambios en orina. Las concentraciones de metadona alcanzadas en el plasma de individuos tratados crónicamente con metadona son mucho más altas que en casos de toxicidad aguda.

### Propiedades fisicoquímicas

Son cristales coloreados o polvo blanco cristalino. La solubilidad en agua es de 12 g%, en alcohol 8 g%, cloroformo 3%, isopropanol 2,4% y prácticamente insoluble en éter y glicerol.

### Sintomatología clínica

La sobredosis aguda con metadona produce miosis, hipotensión, hipotermia, coma, convulsiones y edema pulmonar. La muerte sobreviene por una depresión respiratoria profunda. La aplicación de naloxona revierte rápidamente el cuadro de los efectos tóxicos centrales de la metadona.

## Laboratorio

### Reacciones de color

**Muestras:** orina, residuos de la escena, contenido estomacal.

**Reactivo:**

Liebermann

Mandelin

**Procedimiento:** Agregar 0,5 ml de reactivo a la muestra, calentar en baño maría durante 3 min.

**Resultados:** Frente al reactivo de Liebermann: rojo-naranja y Mandelin: verde-azulado

### Cromatografía en capa delgada

**Muestras:** orina o residuos de la escena.

La metadona puede ser investigada por cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA y CE

**Revelador**

Dragendorff: positivo

Solución de iodoplatínico: positivo

### Barrido al UV

En solución acuosa ácida presenta picos a 253, 259, 264 y 292 nm (Figura 5.29)

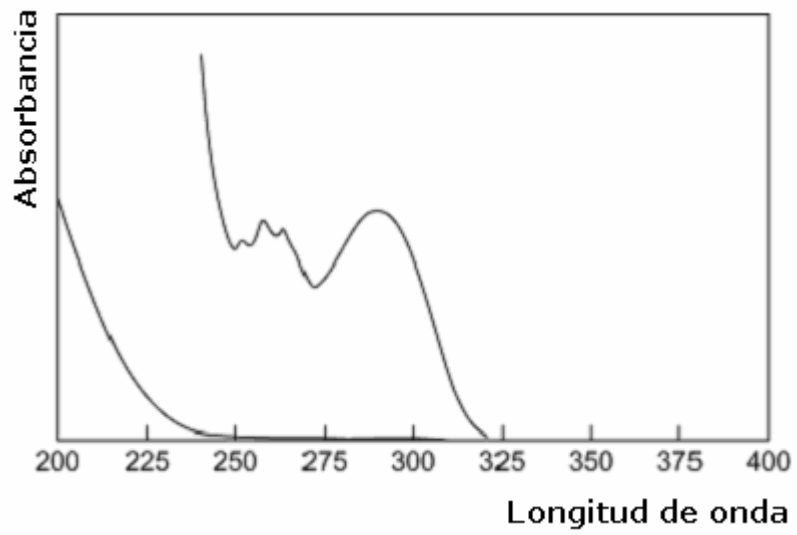


Figura 5.29. Barrido al UV de la metadona



## 5.53 METANOL

### Características

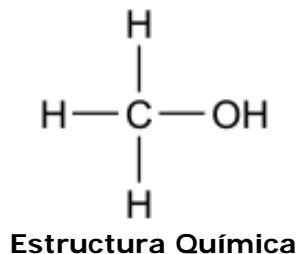
Sinónimos: alcohol metílico; alcohol de madera.

Fórmula molecular: CH<sub>3</sub>OH

Peso molecular: 32

pK<sub>a</sub>: 15,3.

Nº CAS: 67-56-1



### Descripción general

El metanol es usado como solvente en laboratorios, como refrigerante (muchas veces con etilenglicol), y como aditivo para lavar vidrios. En un adulto, la muerte puede ocurrir por ingestión de 20-50 ml de metanol. También otros solventes industriales como el etanol desnaturalizado contienen metanol como desnaturalizante. El cuadro tóxico es menos serio que con metanol puro. Esto es porque la toxicidad del metanol resulta del metabolismo a formaldehído y ácido fórmico por la alcohol deshidrogenasa, una reacción inhibida por el etanol.

### Propiedades fisicoquímicas

Altamente inflamable a 63,5° - 65,7°. Miscible con agua, etanol, benceno, cloroformo, éter, cetonas y otros solventes orgánicos.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda por metanol se caracteriza por coma, cianosis, falla respiratoria, acidosis metabólica marcada, desbalance electrolítico, hiperglucemia y ceguera, la cual puede ser permanente. El tratamiento comienza por corregir la anormalidad metabólica dando etanol y removiendo el metanol por diálisis peritoneal o hemodiálisis. La medida de la concentración de etanol en plasma puede ser útil en el monitoreo de la terapia con este compuesto.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

**Muestras:** El metanol puede ser analizado en orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Reactivo de dicromato de potasio (25 g/l) en agua destilada

Ácido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83) (1:1)

**Procedimiento:** Aplicar 50 µl de reactivo de dicromato de potasio en un papel de filtro en banda e insertar el papel en la boca de un tubo donde hay 1 ml de muestra de orina.

Colocar el tubo cerrado en un vaso de agua hirviendo por 2 minutos.

#### Resultados

Un cambio de color de naranja a verde indica la presencia de sustancias volátiles reductoras como el metanol. Aunque otros compuestos por ejemplo etanol, metaldehído, paraldehído también dan la reacción.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

### Microdifusión

**Muestras:** sangre, orina, contenido estomacal, residuos de la escena.

#### Reactivos:

SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 10% (V/V).

Solución saturada de carbonato de potasio.

Permanganato de potasio al 5%.

Solución saturada de bisulfito de sodio (preparación extemporánea).

Solución reciente de ácido cromotrópico al 0,5%.

Solución de salicilaldehído en etanol 20 % (P/V) recientemente preparada.

NaOH al 40%.

Solución madre de alcohol metílico: diluir 1 ml de metanol absoluto con cantidad suficiente de agua destilada y completar a 1000 ml.

Soluciones testigos de alcohol metílico: diluir 2, 4, 6, 8 y 10 ml de la solución madre de alcohol metílico con cantidad suficiente de agua destilada para obtener 10 ml y llevar a 100 ml con solución acuosa de ácido sulfúrico al 10% (Las soluciones equivalen a 1,58; 3,16; 4,74; 6,32 y 7,9 mg/100 ml).

**Procedimiento:** En cámara de Conway colocar:

Compartimiento interno: 2,2 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  al 10%.

Compartimiento externo: 1 ml de sangre u orina o 5 ml de homogenato de tejido (equivalente a 1 g) y 1 ml de carbonato de K.

Tiempo de difusión: 2 hs a temperatura ambiente para sangre u orina y 5 hs para tejido.

Luego de la difusión tomar 1 ml de la solución del compartimiento interno y colocar en dos tubos de ensayo para la investigación de metanol e isopropanol respectivamente.

En ambos tubos agregar 1 gota de  $\text{MnO}_4\text{K}$  al 5%, dejar 10 minutos y adicionar 1 gota de bisulfito de sodio para decolorar.

A uno de los tubos agregar 2 ml de solución de ácido cromotrópico y 2 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  concentrado, llevar a baño María hirviente. (Investigación de metanol)

Al segundo tubo con la solución ya oxidada, se le agrega 4 ml de solución de  $\text{HONa}$  al 40% y 0,5 ml de solución de salicilaldehído al 20% en etanol y colocar en baño María hirviente. (Investigación de Isopropanol)

**Resultados:** El desarrollo de una coloración violeta en el primer tubo indica un resultado positivo para el **Metanol**.

La aparición de una coloración naranja o rojiza en el segundo tubo indica la presencia de Isopropanol.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

## Ensayos Cuantitativos

### Espectrofotométrico luego de la microdifusión

Luego de efectuada y transcurrido el tiempo de microdifusión, pipetear en un tubo de ensayo 1 ml de la solución del compartimiento interno y agregar una gota de permanganato de potasio al 5 %. Procesar paralelamente un blanco de muestra colocando en otro tubo 1 ml de la solución del compartimiento interno, sin el agregado de la solución de permanganato de potasio. Preparar un blanco de reactivos utilizando 1 ml de ácido sulfúrico al 10% y una gota de solución acuosa de permanganato de potasio al 5%. Dejar en reposo 10 minutos. Agregar luego a todos los tubos una gota de solución saturada de bisulfito para decolorar (no agregar en exceso). Una vez incolora la solución, agregar 0,2 ml de ácido cromotrópico y con los tubos en baño de hielo agregar cuidadosamente 4 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Colocar luego los tubos en un baño de agua a ebullición durante 15 minutos, enfriar y diluir a 10 ml (en baño de hielo) y agitar cuidadosamente.

Se leen a 580 nm contra blanco de reactivos.

Efectuar una curva de calibración utilizando 1 ml de las soluciones diluidas de los testigos y proseguir según lo indicado a partir del agregado de permanganato de potasio al 5%.

#### **Cálculo:**

Llevar el valor de la Absorbancia (Abs tubo muestra – Abs del tubo blanco de muestra) a la curva de calibración, el resultado debe ser multiplicado por 1,21 en el caso de muestras de sangre y orina. Se utiliza este factor debido a que la recuperación de metanol no es completa (solo del 85%).

$$\text{Metanol (g/l)} = X \text{ (mg)} \times 1,21 \times 2,2 \times 0,001$$

donde X = microgramos de metanol obtenidos de la curva de calibración.

1,21 = factor de corrección para muestras de sangre y orina por recuperación no completa de metanol.

2,2 = volumen del reactivo fijador, factor de dilución.

0,001 = factor de conversión de las unidades

Para muestras de tejido el factor de recuperación debe ser calculado considerando la adición de metanol a muestras de tejido ya que solo el 42 % del contenido del compartimiento central es usado para el análisis.

## Método espectrofotométrico directo. Método de Williams, L.A.; Linn, R.A. y Zak, B.

### Muestra

Sangre. No usar etanol como antiséptico; se recomienda el uso de cloruro mercúrico al 0.5%. Extraer sangre usando como anticoagulante fluoruro de sodio al 1% y trasvasar a un tubo de plástico provisto de tapa de rosca; llenar totalmente el tubo. Conservar en la heladera entre 0 y 4°C. En caso de no contar con fluoruro de sodio, usar citrato u oxalato. No usar EDTA ni heparina como anticoagulante.

### Drogas

Ácido sulfúrico p.a.

Ácido tricloroacético p.a.

Permanganato de potasio p.a.

Bisulfito de sodio p.a.

Ácido cromotrópico p.a.

Alcohol metílico p.a.

### Reactivos

Solución acuosa de ácido sulfúrico al 10%(V/V).

Solución acuosa sulfúrica de tricloroacético al 10%.

Solución acuosa de permanganato de potasio al 5%.

Solución acuosa saturada de bisulfito de sodio (de preparación reciente).

Solución acuosa de ácido cromotrópico al 0.5% (de preparación reciente).

Solución madre de alcohol metílico de 0.79 mg/ml.

Tomar 1 ml de metanol puro y llevar a 1 litro con ácido sulfúrico al 10% V/V. Conservar en recipiente bien cerrado, en heladera (4°C).

Solución hija de metanol de 0.079 mg/ml.

Tomar 10 ml de la solución madre y llevar a 100 ml con ácido sulfúrico al 10% V/V. Conservar en recipiente bien cerrado, en heladera (4°C).

Vaselina-parafina en la proporción apta para ser utilizada según la temperatura.

Soluciones testigo de alcohol metílico para la curva de calibración:

Tubo	Vol. Sol. hija	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% V/V	Vol. final	Masa (µg)
1	0.1 ml	0.9 ml	1.0 ml	7.9
2	0.2 ml	0.8 ml	1.0 ml	15.8
3	0.3 ml	0.7 ml	1.0 ml	23.7
4	0.5 ml	0.5 ml	1.0 ml	39.5
5	0.7 ml	0.3 ml	1.0 ml	55.3
6	1.0 ml	-	1.0 ml	79.0

### Procedimiento

A 0.5 ml de sangre o suero agregar 9.5 ml de solución acuosa sulfúrica tricloroacética. Centrifugar 5 minutos a 2000-3000 r.p.m. Se trabaja con el sobrenadante.

Reacción de color: Se procesa paralelamente un blanco de reactivos y un blanco de muestra.

Proseguir de la siguiente manera, en tubos de ensayo:

Reactivos	Blanco reactivos	Blanco muestra	Muestra	Testigo
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% V/V	1.0 ml	-	-	0.5 ml
Vol. Sol. hija	-	-	-	0.5 ml
Vol. Sobrenadante	-	1.0 ml	1.0 ml	-
KMnO <sub>4</sub> 5% P/V	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
<b>Mezclar. Dejar en reposo 5 minutos</b>				
NaHSO <sub>3</sub> hasta decoloración total (1 gota) de la sol. sat.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
Ácido cromotrópico	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
<b>Colocar en baño de hielo y agregar lentamente</b>				
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado	6.0 ml	6.0 ml	6.0 ml	6.0 ml
<b>Llevar a BM: 60 – 100°C durante 5 minutos. Enfriar y leer a 570 nm</b>				

**Cálculos**

Interpolar el valor de absorbancia obtenido en la curva de calibración, la cual está graficada como Absorbancia en función de Masa (en  $\mu\text{g}$ ). luego hacer el cálculo para expresar el resultado en g/l.

$$\text{MeOH (g/l)} = \text{masa } (\mu\text{g}) \times 0.02$$

**Sensibilidad:** 0.030 g/l

**Interferencias:** Heparina, EDTA, Formalina, Metenamida. El efecto deshidratante del  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado puede producir formaldehído a partir de compuestos orgánicos apropiados, con lo cual se obtendrá un falso positivo. Por esta razón, pacientes con severa acidosis pueden dar positiva la reacción.

Otros compuestos que reaccionan con el ácido cromotrópico: el gliceraldehído, furfural, arabinosa, fructosa y sucrosa dan una coloración amarilla. Grandes concentraciones de furfural dan un color rojizo.

**Interpretación de los resultados:**

Valores normales: no dosable.

Una concentración superior a 0,8 g/l de metanol indica severidad de la intoxicación y riesgo de muerte para el paciente.

## 5.54 MONÓXIDO DE CARBONO

### Descripción general

El monóxido de carbono (CO) se genera en la combustión del carbón, pero no está presente en el gas natural. Hoy en día, el monóxido de carbono está en los humos de la descarga automovilística, o cuando hay una forma inadecuada de ventilación de gas o aceite combustible de los sistemas caloríficos. En todo tipo de fuegos emana monóxido de carbono. También se produce el monóxido de carbono en la metabolización de diclorometano en los seres vivos y en el catabolismo del grupo hem.

El monóxido de carbono es muy tóxico y se combina con la hemoglobina y otras proteínas con grupos hem como la citocromo oxidasa, limitando por eso el suministro del oxígeno a los tejidos e inhibiendo la respiración celular. La afinidad de la hemoglobina por monóxido de carbono es aproximadamente 200 veces más que por el oxígeno. Así, la intoxicación aguda o crónica severa puede ocurrir cuando cantidades relativamente pequeñas de monóxido de carbono están presentes en el aire inspirado.

La prueba cualitativa descrita más adelante es poco sensible y sólo es útil en el diagnóstico de la intoxicación aguda por monóxido de carbono. Si se obtiene un resultado positivo de carboxihemoglobina (HbCO) en la sangre, la concentración de monóxido de carbono debe medirse sin retraso.

El método cuantitativo para determinar la HbCO en sangre, descrito, se basa en que la hemoglobina oxigenada y la metahemoglobina, pueden ser reducidas por ditionito de sodio mientras que la HbCO no es afectada.

### Sintomatología clínica

Los síntomas de intoxicación aguda por monóxido de carbono incluyen: dolor de cabeza, náuseas, vómitos, hematemesis, hiperventilación, arritmias cardíacas, edema pulmonar, coma y fallo renal agudo. La cianosis normalmente está ausente, la piel y mucosas permanecen rosadas incluso en presencia de severa hipoxia de los tejidos. La muerte sucede a menudo por fallo respiratorio. Las secuelas neuropsiquiátricas son una complicación en caso de sobrevida.

El tratamiento consiste en aislar al paciente de la atmósfera contaminada y administrar 100% de oxígeno. La cámara hiperbárica puede indicarse en algunos casos y es eficaz para prevenir las secuelas.

Una vez que el paciente está alejado de la atmósfera contaminada, la carboxihemoglobina se disocia rápidamente, sobre todo si como tratamiento se administra oxígeno. La determinación de HbCO frecuentemente no es útil como un indicador de severidad de la intoxicación, excepto en la toxicología forense. Una guía simple para la interpretación de HbCO en sangre se observa en la siguiente tabla.

**Tabla. Rango de carboxihemoglobina y síntomas asociados**

% Hb CO	Síntomas asociados
0,3 - 0,7	Rango normal. Sin efectos nocivos conocidos
1 - 5	Incremento selectivo de la irrigación de ciertos órganos vitales para compensar la falta de transporte oxigenado. Los cardiopatas severos pierden la capacidad de reserva funcional. Valor asociado a fumadores.
5 - 9	Incremento del umbral visual. Disminución del esfuerzo necesario para provocar dolor en pacientes con angina de pecho. Valor asociado a fumadores pesados.
16 - 20	Cefaleas, respuesta visual menguada.
20 - 30	Cefaleas. Náuseas. Reducción de la destreza manual.
30 - 40	Cefaleas severas. Náuseas. Vómitos. Síncope.
50 - 60	Coma. Convulsiones
60 - 70	Letal, si no se trata con rapidez.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

#### Ensayo de dilución (Aldane)

Consiste en la observación del color carminado típico de la sangre que contiene COHb, a diferencia del color amarillento de la sangre normal, cuando se la diluye convenientemente. Para este ensayo colocar en dos tubos de centrifuga 5 ml de agua destilada en cada uno y agregar luego a uno una gota del paciente intoxicado y al otro una gota de sangre normal que se usa como testigo. Mezclar por inversión y observar simultáneamente los colores. Sensibilidad: permite determinar concentraciones superiores al 25%.

### **Ensayo alcalino**

A las soluciones del ensayo anterior agregar 6 gotas de HONa al 10%, mezclar por inversión. La solución que contiene la sangre normal vira paulatinamente al color amarillo castaño por formación de la hematina alcalina, mientras que en el tubo muestra el color rosado-carminado permanece inalterable. Este ensayo se basa en la estabilidad de la COHb (dentro de ciertos límites) con respecto a la labilidad del pigmento hemático normal en las mismas condiciones de tratamiento.

**Sensibilidad:** 20%

### **Ensayo cuantitativo**

Aplicable a sangre entera tratada con heparina, EDTA o fluoruro/oxalato.

#### **Reactivos**

Solución acuosa de hidróxido de amonio (1 ml/l).

Ditionito de sodio (sólido, mantener en desecador).

Suministro de monóxido de carbono puro o monóxido /nitrógeno carbono.

Suministro de oxígeno o aire comprimido.

**Procedimiento:** Agregar 0,2 ml de la muestra de sangre a 25 ml de solución de hidróxido de amonio y mezclar.

Repartir en tres porciones iguales x, y, z. Guardar la porción x en un tubo tapado mientras se realizan los procedimientos siguientes:

Saturar la porción y con monóxido de carbono (para dar 100% HbCO) pasando gas a través de la solución durante 5-10 minutos. Cuidar que no se forme espuma.

Saturar la porción z con oxígeno burbujando oxígeno puro o aire comprimido a través de la solución por lo menos por 10 minutos para remover todo el monóxido de carbono (para dar 0% HbCO). De nuevo, tener cuidado que no se forme espuma.

Agregar una cantidad pequeña (aproximadamente 20 mg) de ditionito de sodio a cada uno de los tubos de la prueba (x, y, z) y 10 ml de solución de hidróxido de amonio y mezclar bien.

Medir la absorbancia de las soluciones x, y, z contra la solución de hidróxido de amonio-ditionito a 540 nm y 579 nm.

**Resultados:** El porcentaje de saturación de carboxihemoglobina (% HbCO) puede ser calculado según la siguiente ecuación:

$$\% \text{HbCO} = \frac{(A_{540}/A_{579} \text{ solución x}) - (A_{540}/A_{579} \text{ solución z}) \times 100}{(A_{540}/A_{579} \text{ solución y}) - (A_{540}/A_{579} \text{ solución z})}$$

Los valores normales aproximadamente son:

$(A_{540}/A_{579} \text{ solución de y}) = 1,5$  correspondiendo a 100% HbCO.

$(A_{540}/A_{579} \text{ solución de z}) = 1,1$  correspondiendo a 0% HbCO.

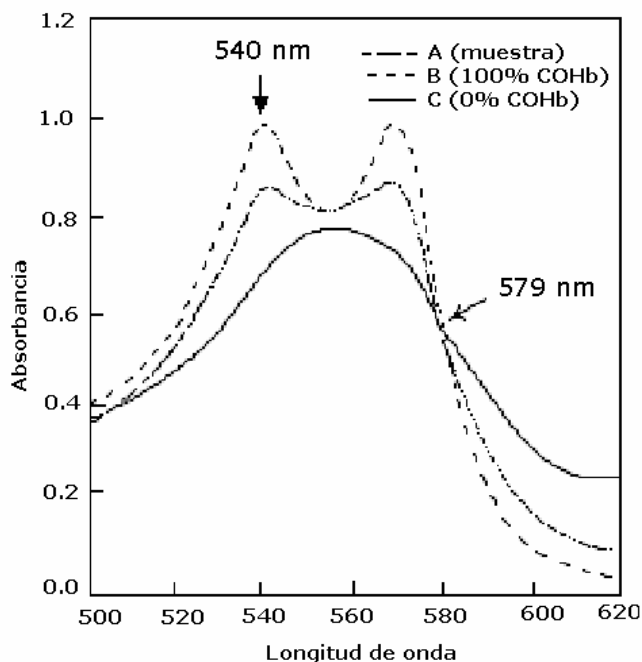
Observar que el contenido de hemoglobina de la sangre varía de una persona a otra y puede ser necesario variar el volumen de diluyente. Una dilución que dé una absorbancia máxima de aproximadamente 1 unidad de absorbancia a 540 nm es ideal.

Es importante usar ditionito de sodio recientemente preparado o guardado en un recipiente sellado en un desecador, ya que este compuesto se inactiva por el contacto prolongado con el aire húmedo.

Este método no es útil en presencia de otros pigmentos tal como la metahemoglobina (que tiene una absorbancia relativamente alta en la región 580-600 nm, [ver Figura 5.30](#)). Las muestras de sangre lipémicas pueden dar suspensiones turbias que también producen resultados no confiables.

Las medidas se realizan en el punto de diferencia máxima de absorbancia (540 nm,  $\lambda_{\text{max}}$  HbCO) y el punto de igual absorbancia (579 nm, punto isobéptico). La lectura a 579 nm se toma en el punto de la curva en empinado descenso ([Figura 5.30](#)), y la longitud de onda es crítica.

Los espectrofotómetros con bandas relativamente anchas (4-5 nm) no se pueden usar, ya que va a ser imposible de realizar la medida con la exactitud requerida. Es importante asegurar que esté perfectamente calibrado para evitar variaciones que pueden afectar el resultado siguiendo el siguiente procedimiento:



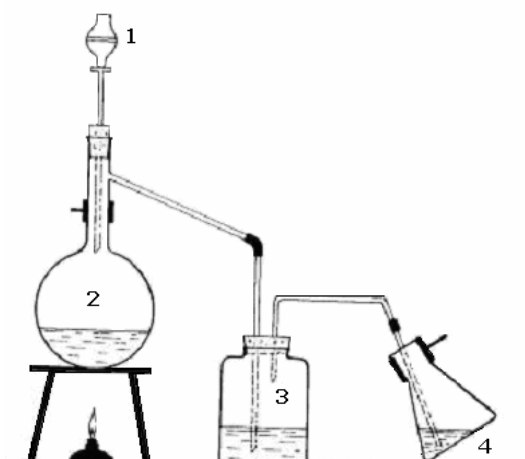
**Figura 5.30. Espectro obtenido utilizando muestra de un paciente intoxicado**

Medida de la absorbancia de la solución z (0% HbCO) contra la solución de hidróxido de amonio-ditionito a 540 nm. Si la proporción ( $A_{540}/A_{579}$ ) se asume que es 1,1 para 0% HbCO, la absorbancia de esta solución a 579 nm puede calcularse.

Ajustar la longitud de onda que pone el instrumento para dar esto leyendo a 579 nm. Alternativamente, pueden grabarse espectros de las tres soluciones usando un espectrofotómetro de barrido si está disponible. Los ejemplos de los espectros que deben obtenerse se observan en la Figura 5.30. La presencia de las crestas de absorción gemelas ("las orejas de conejo") es un rasgo cualitativo útil.

**Sensibilidad:** aproximadamente 10%.

**Generador de Monóxido de Carbono:**



- 1- Acido sulfúrico.
- 2- Formiato de sodio o ácido Fórmico.
- 3- Solución de Hidróxido de Sodio al 10% (P/V).
- 4- Sangre a saturar.

**Figura 5.31. Esquema del generador de monóxido de carbono**

Sobre 1 g de formiato o 10 ml de ácido fórmico dejar caer de 5 a 10 ml de sulfúrico concentrado gota a gota (lentamente según la intensidad del burbujeo en la solución sanguínea). El calentamiento del balón debe ser suave y transitorio (cuando el burbujeo disminuye francamente). Figura 5.31.

## Ensayo cuantitativo

### Determinación de CO en sangre por microdifusión

#### Reactivos

Solución de  $\text{Cl}_2\text{Pd}$ : disolver 0,222 g en cantidad suficiente de HCl 0,01 N, calentando si fuera necesario. Completar a 250 ml con el mismo ácido.

Ácido Sulfúrico al 10 % en volumen.

Goma Arábica al 10 %.

Solución de IK al 15 %.

**Procedimiento:** En una cámara Conway colocar en el compartimento interno 2 ml de la solución de  $\text{Cl}_2\text{Pd}$ . En un extremo del compartimento externo colocar 1 ml de sangre. Cubrir la cámara con la tapa de vidrio dejando descubierto únicamente el lugar necesario para agregar rápidamente 1 ml de ácido sulfúrico al 10% cerrando la cámara herméticamente y en forma rápida.

Imprimir a la cámara movimiento de balanceo para poner en contacto muestra y liberante.

Tiempo de difusión: 1 hora a temperatura ambiente.

Si no hay cambio en el aspecto de la solución reactiva puede considerarse el ensayo negativo.

De existir CO aparece en la superficie de la solución reactiva una pátina plateada de paladio metálico, denominada espejo de paladio.

Con una pipeta capilar se extrae toda la solución del compartimento interno, atravesando el espejo de paladio metálico y se coloca en un tubo de centrifuga.

Centrifugar para separar las partículas de  $\text{Pd}^\circ$  en suspensión y con pipeta transferir 0,1 ml de la solución sobrenadante a un matraz aforado de 10 ml. Al mismo tiempo, en otro matraz de 10 ml, se colocan 0,1 ml de solución de cloruro de paladio que se utilizó correspondiendo este último al blanco, cuya absorbancia es leída y empleada luego para realizar los cálculos.

A cada matraz agregar 1 ml de la solución de goma arábica al 0,1 % y 1 ml de la solución de IK al 15% mezclar bien y llevar a volumen con agua destilada.

Determinar la absorbancia de blanco ( $A_b$ ) y desconocido ( $A_d$ ) a 500 nm, llevando a cero con agua destilada. El exceso de  $\text{Cl}_2\text{Pd}$  origina con el yoduro un complejo coloreado cuya absorbancia se lee a 500 nm.

Considerar que en la muestra parte del  $\text{Cl}_2\text{Pd}$  ha reaccionado con el monóxido de carbono reduciéndose a  $\text{Pd}^\circ$  y en el blanco esta reacción no ha ocurrido, por lo tanto a la lectura del blanco se le resta la lectura de la muestra según se indica en el punto cálculos.

#### Cálculos:

$$\text{mg \% CO} = \frac{A_b - A_d}{A_b} \times 27,75$$

Donde el factor 27,75 incluye factor de dilución y factor de transformación de los mg de  $\text{Cl}_2\text{Pd}$  en mg % de CO.

Para expresar el resultado en ml % se aplica el factor 0,8 que resulta de la siguiente ecuación:

$$\begin{array}{l} 28 \text{ mg de CO} \text{ ————— } 22,4 \text{ ml (0 -760 mmHg)} \\ 1 \text{ mg de CO} \text{ ————— } 0,8 \text{ ml} \end{array}$$

Luego

$$\text{mg \% CO} \times 0,8 = \text{ml \% CO (B)}$$

Como el resultado debe expresarse en porcentaje de saturación de hemoglobina (Hb), debe cuantificarse la hemoglobina en la muestra ( $\text{Hb}_M$ ) y emplear la siguiente relación:

Sabiendo que 1 g de Hb fija 1,34 ml de CO se puede calcular los (A) ml de CO que fijarán los g de hemoglobina en la muestra ( $\text{Hb}_M$ )

$$\begin{array}{l} 1 \text{ g de Hb} \text{ ————— } 1,34 \text{ ml de CO} \\ \text{g de Hb}_M \text{ ————— } (A) \text{ ml de CO} \end{array}$$

Por lo tanto

$$\begin{array}{l} (A) \text{ ml de CO} \text{ ————— } 100\% \text{ de saturación de Hb}_M \\ (B) \text{ ml de CO} \text{ ————— } X \% \text{ de saturación de Hb}_M \\ \text{en el desconocido} \end{array}$$



## 5.55 MORFINA

### Características

Sinónimos: morfina (5a,6a)-7,8-Didehidro-4,5-epoxi-17-methylmorfinan-3,6-diol monohidrato

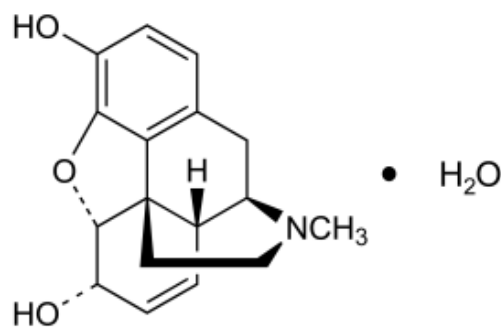
(4aR,5S,7aR,8R,9cS)-4a,5,7a,8,9,9c-hexahidro-12-metil-8,9c-imino-etanofenantro[4,5-bcd] furano-3,5-diol monohidrato

Fórmula molecular:  $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot H_2O$

Peso molecular: 303,4

N° CAS: 57-27-2 (anhidro)

pKa: 8,0; 9,9 (20°C).



Estructura Química

### Descripción general

La morfina es el principal alcaloide del opio y es un potente analgésico narcótico. La acetilmorfina (heroína, 3,6-O-diacetilmorfina) tiene dos a tres veces la potencia de la morfina y se obtiene tratando la morfina (u opio en el caso de preparaciones ilícitas) con anhídrido acético.

La diamorfina se hidroliza rápidamente in vivo a 6-acetilmorfina y luego a morfina. La morfina es también un metabolito de la codeína. Se metabolizan el 5% de la dosis de morfina a normorfina, siendo la conjugación con el ácido glucurónico su vía mas importante. El producto principal es morfina-3-glucurónido, pero también se forma la morfina-6-glucurónido. La morfina libre se excreta en la orina en un 10% de la dosis, mientras que la morfina-3-glucurónido en un 75%. La dosis fatal mínima estimada de morfina o diamorfina en un adulto no adicto a estos compuestos es de 100-200 mg.

### Propiedades fisicoquímicas

Es un polvo blanco cristalino o coloreado.

Es soluble 1 parte en 5.000 de agua, 1 en 210 de etanol, 1 en 1.220 de cloroformo y 1 en 125 de glicerol y es prácticamente insoluble en éter. La solubilidad puede variar de acuerdo a la forma en que se presente (clorhidrato, sulfato, morfina base, etc.) y al estado cristalino.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con morfina y con diamorfina da lugar a miosis, hipotensión, hipotermia, coma, convulsiones, edema pulmonar. La muerte puede sobrevenir por depresión respiratoria profunda. Si se da naloxona rápidamente pueden revertir los efectos tóxicos centrales de la morfina.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, residuos de la escena.

#### Reactivos

Cloruro férrico

Liebermann

Mandelín

Marquis

**Procedimiento:** Agregar la solución del reactivo a la muestra o a una solución etanólica de la muestra.

#### Resultados:

Cloruro férrico: azul

Liebermann: negro

Mandelín: azul-gris

Marquis: violeta

### Cromatografía en capa delgada

La morfina puede ser investigada por cromatografía en capa delgada en un extracto de orina, contenido estomacal o residuos de la escena a pH 8,5-9.

Como la mayor parte de morfina o diamorfina se excreta como glucurónidos, si se hidroliza la orina puede aumentar la sensibilidad del procedimiento.

La morfina se puede identificar por cromatografía en capa delgada utilizando como fase móvil los sistemas: CA, y CAE

#### Revelador

Dragendorff: positivo

Solución de iodoplatínico acidificada: positivo

Marquis: violeta

### Barrido al UV

En medio acuoso ácido la morfina presenta máximos a 285, y en medio alcalino a 298 nm.

Figura 5.32

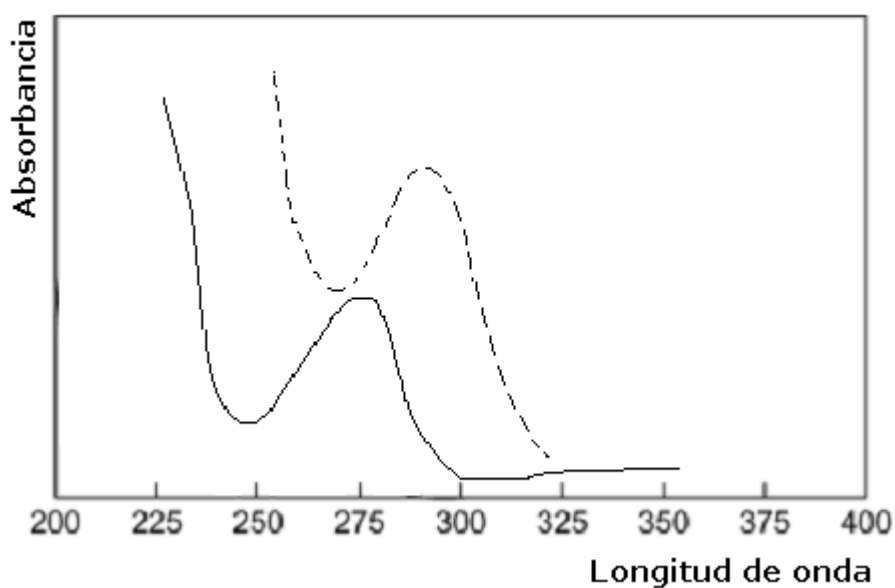


Figura 5.32- Barrido al UV de la morfina

## 5.56 NICOTINA

### Características

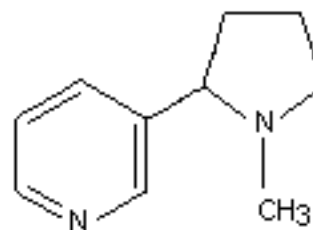
Sinónimos: 3-(1-Metilpirrolidina-2-il)piridina

Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>

Peso molecular: 162

N° CAS: 54-11-5

pKa: 3,2; 7,9 (25°C).



Estructura Química

### Descripción general

La nicotina es un alcaloide derivado de las hojas del tabaco, *Nicotiana tabacum* (*Solanaceae*). Una pequeña dosis de 40 mg de nicotina puede provocar una intoxicación fatal en un adulto.

La nicotina se encuentra comúnmente en el tabaco aunque usualmente en concentraciones insuficientes para provocar intoxicaciones agudas, excepto cuando es ingerida por niños. La nicotina en altas concentraciones está presente en algunas hierbas medicinales, como insecticida en horticultura generalmente en forma de sulfato de nicotina.

### Propiedades fisicoquímicas

Tanto la base libre como el sulfato son líquidos aún al estado puro, incoloro a amarillo pálido. Muy higroscópico gradualmente toma color marrón por la exposición al aire o a la luz. Miscible con el agua, muy soluble en etanol, cloroformo y éter de petróleo.

### Metabolismo

Se absorbe rápidamente a través de la piel y es metabolizada principalmente por n-demetilación a cotinina.

### Sintomatología clínica:

Inicialmente produce náuseas, somnolencia, vómitos, estimulación respiratoria, dolor de cabeza, taquicardia, sudor y salivación excesiva seguida de colapso, convulsiones, arritmias cardíacas y coma en casos severos. La muerte sobreviene rápidamente o en algunas horas. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

Este compuesto y la cotinina pueden ser detectados e identificados en orina por cromatografía en placa delgada en un extracto con solvente en medio básico.

### Cromatografía en capa delgada

La nicotina se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CB y CE

### Reveladores

Dragendorff: positivo

Solución ácida de iodoplatinato: positiva

### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico de la nicotina en solución ácida la cual presenta un pico de absorción a 259 nm y en solución alcalina a 261 nm. Figura 5.33

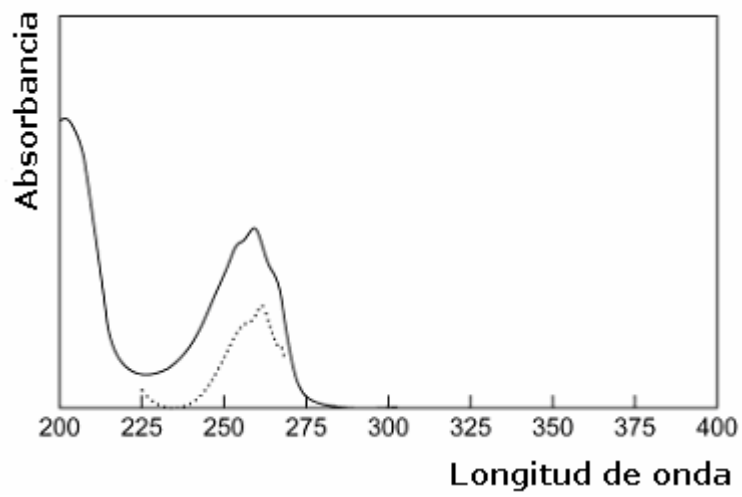


Figura 5.33. Barrido al UV de la nicotina

## 5.57 NITRATOS

### Descripción general

Los nitratos como el nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ) se utilizan como fertilizantes inorgánicos, antiséptico, preservantes de algunos alimentos, en explosivos, etc.. La muerte en un adulto puede sobrevenir por ingestión de aproximadamente 15 g de la sal de sodio o potasio. Los nitratos orgánicos como el gliceril trinitrato son usados como vasodilatadores. Los niños y lactantes son particularmente sensibles a estos compuestos.

Los nitratos son metabolizados a nitritos en el tracto gastrointestinal.

Los nitratos son agentes fuertemente oxidantes y los ensayos indicados más adelante podrían detectar compuestos con similares propiedades, como los bromatos, cloratos, hipocloritos, iodatos y nitritos.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con nitratos puede causar náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, confusión, coma y convulsiones. Los nitratos pueden dar lugar a dolor de cabeza, vértigo, hipotensión y desvanecimiento. El tratamiento es sintomático y de sostén. Se produce a menudo metahemoglobinemia y esto puede observarse por la coloración chocolate oscura de la sangre. En sangre puede medirse la metahemoglobina.

## Laboratorio

### Ensayo cualitativo

#### Reacciones de color

**Muestras:** contenido estomacal, restos de la escena.

#### Reactivos:

Ensayo de la Difenilamina

**Procedimiento:** Filtrar, si es necesario 5 ml de contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml. Agregar 0,5 ml del filtrado o del residuo de la escena en un tubo limpio y lentamente agregar 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de tal manera que se forme una capa por debajo de la muestra evitando que se mezclen ambos líquidos.

#### Resultados:

Frente a la Difenilamina aparición de un color azul fuerte que se desarrolla inmediatamente en la unión de las dos capas en presencia de oxidantes.

**Sensibilidad:** Nitrato, 10 mg/l.

### Otros ensayos

**Muestras:** orina, contenido estomacal, restos de la escena.

#### Reactivos

Acido sulfámico. Mezclar 1 ml de sulfamato de amonio (150 g/l) y 1 ml de solución de ácido clorhídrico (2 mol/l), recientemente preparado.

Solución de clorhidrato de imipramina (20 g/l).

Acido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83).

**Procedimiento:** Mezclar 0,1 ml de solución de la muestra y 0,1 ml del reactivo de ácido sulfámico.

Agregar 0,1 ml de solución de imipramina y cuidadosamente agregar 0,2 ml del ácido sulfúrico concentrado por las paredes del tubo para que se forme una capa debajo de la mezcla de la muestra.

**Resultados:** Un intenso color azul en la unión de las dos capas confirma el nitrato. El tratamiento ácido se usa para eliminar la presencia de nitrito antes del ensayo.

**Sensibilidad:** Nitrato, 50 mg/l.

## 5.58 NITRITOS

### Descripción general

Los Nitritos como el nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) fueron usados como vasodiladores y se usan como oxidantes, como preservantes de alimentos y en la fabricación de explosivos. Los nitritos también pueden ser consecuencia del metabolismo de los nitratos. La dosis fatal de nitrito de sodio es aproximadamente 10 g, aunque la ingestión de cantidades tan pequeñas como 2 g ha causado la muerte en un adulto. Los lactantes y niños son especialmente sensibles a estas sustancias. Los nitritos son agentes fuertemente oxidantes y los ensayos indicados más adelante pueden también detectar compuestos similares como los bromatos, cloratos, hipocloritos, iodatos y nitratos.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con nitritos puede causar náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, confusión, coma y convulsiones. Además los nitritos dan dolor de cabeza, enrojecimiento, mareos, hipotensión y colapso. Se produce metahemoglobina y esto se observa con la sangre color chocolate. Se puede medir metahemoglobina en sangre. El tratamiento es sintomático y de sostén. Concentraciones de nitritos urinarios de 10 mg/l y superiores han sido reportados en casos fatales.

### Laboratorio

#### Ensayo cualitativo

##### Reacciones de color

**Muestras:** contenido estomacal, restos de la escena.

##### Reactivos:

Ensayo de la Difenilamina

**Procedimiento:** Filtrar, si es necesario 5 ml de contenido estomacal en un tubo de vidrio de 10 ml. Agregar 0,5 ml del filtrado o del residuo de la escena en un tubo limpio y lentamente agregar 0,5 ml de solución de difenilamina por las paredes del tubo de tal manera que se forme una capa por debajo de la muestra evitando que se mezclen ambos líquidos.

**Resultados:** Frente a la Difenilamina aparición de un color azul fuerte que se desarrolla inmediatamente en la unión de las dos capas en presencia de oxidantes.

**Sensibilidad:** Nitrito, 10 mg/l.

#### Otros ensayos

**Muestras:** orina, contenido estomacal, restos de la escena.

##### Reactivos:

Solución de clorhidrato de imipramina (20 g/l).

Ácido clorhídrico concentrado (la densidad 1,18 relativa).

**Procedimiento:** A 0,1 ml de solución de imipramina agregar 0,1 ml de solución de la prueba y 0,2 ml de ácido clorhídrico.

**Resultados:** Un color azul es específico para el nitrito.

**Sensibilidad:** Nitrito, 1 mg/l.

#### Reacción frente al ácido sulfanílico

##### Reactivos

Solución de ácido sulfanílico (10 g/l) en solución acuosa de ácido acético (300 ml/l).

Solución de ácido 1-aminonaftaleno(1 g/l) en solución acuosa ácido acético (300 ml/l).

**Procedimiento:** Agregar 0,1 ml de solución de la muestra a 0,1 ml de solución de ácido sulfanílico. Mezclar y agregar 0,1 ml de solución de 1-aminonaftaleno.

**Resultados:** Un color rojo púrpura es específico para el nitrito. Si la solución de la muestra es fuertemente ácida o básica debe ajustarse el pH de antemano a aproximadamente 7 (con tiras de indicador universal) agregando cuidadosamente solución 2 mol/l de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.

**Sensibilidad:** Nitrito, 0,2 mg/l.

## **Ensayo cuantitativo**

**Muestra:** orina.

### **Reactivos**

Solución de acetato de sodio (164 g/l).

Ácido sulfanílico (6 g/l) en ácido clorhídrico concentrado (densidad relativa 1,18): agua destilada (1:4).

Solución de 1-aminonaftaleno (4,8 g/l) en ácido clorhídrico concentrado (densidad 1,18): metanol (1:4).

Testigos: Preparar soluciones que contengan el ión nitrito en las siguientes concentraciones de 0, 10, 20, 50 y 100 mg/l en agua destilada, preparar las diluciones desde la solución del nitrito de sodio (1,50 g/l, equivalente a una concentración de ión nitrito de 1 g/l).

**Procedimiento:** Mezclar 0,5 ml de muestra o de los testigos y 0,5 ml de solución de ácido sulfanílico en un frasco volumétrico de 25 ml de capacidad.

Dejar descansar 10 minutos, agregar 0,5 ml de la solución de 1-aminonaftaleno y 0,5 ml de solución del acetato de sodio y diluir a 25 ml con agua destilada.

Dejar descansar 10 minutos y medir absorbancia a 510 nm contra blanco de agua.

**Resultados:** Construir un gráfico de absorbancia vs. concentración de nitrito con las lecturas de las soluciones de los testigos y calcular la concentración del nitrito en la muestra.

**Sensibilidad:** Nitrito 5 mg/l

## 5.59 NITROBENCENO

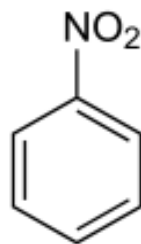
### Características

Sinónimos: Nitrobenzol

Fórmula estructural:  $C_6H_5NO_2$

Peso molecular: 123

Nº CAS: 98-95-3



Estructura Química

### Descripción general

Tiene un olor característico a almendras amargas y se usa en la fabricación de anilina, como solvente para los éteres celulósicos, para pulir metales y zapatos, en perfumes, tintes y jabones y como intermediario en síntesis. La toxicidad aguda de nitrobenzeno es muy similar a la de la anilina, probablemente debido al metabolismo.

### Metabolismo

El nitrobenzeno se metaboliza a p-aminofenol y N-acetil-p-aminofenol (paracetamol), los cuales son excretados en la orina como sulfato y glucurónido. Cuando se realiza la hidrólisis ácida de la orina, el p-aminofenol puede investigarse usando el ensayo del o-cresol/amonio.

### Sintomatología clínica

La intoxicación con nitrobenzeno puede producirse por inhalación o por absorción dérmica así como por ingestión. Los síntomas aparecen dentro de 1-3 horas después de la exposición e incluye confusión, náuseas, vómitos y diarrea, con convulsiones, coma y daño hepatorrenal en los casos más graves. Hemólisis, orina roja (color vino) y metahemoglobinemia (la sangre se observa de color chocolate oscuro) son rasgos característicos de la intoxicación con nitrobenzeno al igual que con anilina.

Pueden medirse las concentraciones de metahemoglobina en sangre. Las pruebas de funcionalismo renal y hepático son esenciales.

El tratamiento puede realizarse con azul de metileno intravenoso pero está contraindicado en pacientes con deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, por el alto riesgo de inducir hemólisis.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestra:** orina

#### Reactivos

o-cresol/amonio: o-cresol 10g/l y amonio 4 M/l

**Procedimiento:** A 0,5 ml de la muestra agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado calentar en baño de agua hirviendo por 10 minutos y enfriar. Agregar 1 ml de la solución de o-cresol a 0,2 ml del hidrolizado y 2 ml de solución de hidróxido de amonio, mezclar por 5 segundos.

**Resultados:** Frente al o-cresol/amonio se observa color azul fuerte.

**Interferencias:** Metabolitos de paracetamol (y de fenacetina) cuando se hidrolizan. La etilendiamina (de la aminofilina) da un color verde en esta prueba.

**Sensibilidad:** 1 mg/l.



## 5.60 OXALATOS

### Descripción general

Se usan los oxalatos como agentes blanqueadores y limpiadores, pulido de metales y como agentes antioxidantes. El ácido de oxálico  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  también se encuentra en varias plantas, como en las hojas del ruibarbo doméstico y otros miembros de la familia *Polygonaceae* en concentraciones considerablemente elevadas. La dosis fatal de ácido oxálico en un adulto es del orden de 10 g. El ácido oxálico es también el mayor metabolito tóxico del etilenglicol.

### Sintomatología clínica

Además de los efectos irritantes en el tracto digestivo, cuando se ingiere, el oxalato captura calcio causando hipocalcemia, alteraciones musculares que llevan al tétano, convulsiones, daño agudo renal y paro cardíaco. La cristaluria producida puede ayudar al diagnóstico. El tratamiento es sintomático y de sostén.

## Laboratorio

### Ensayos cualitativos

#### Ensayo del cloruro de calcio

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

**Reactivos:**

Solución de cloruro de calcio (100 g/l).

Solución de ácido acético (300 ml/l).

Solución de ácido clorhídrico (2 mol/l).

**Procedimiento:** Mezclar 1 ml de solución de cloruro de calcio y 2 ml de la muestra. Si se forma un precipitado, agregar 1 ml de ácido acético. Separar el precipitado por centrifugación y agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido.

**Resultados:** Un precipitado blanco, insoluble en el ácido acético, indica presencia de oxalatos, fluoruros o sulfatos. Si el precipitado, una vez separado, es soluble en ácido clorhídrico (paso 3), indica que hay oxalatos.

**Sensibilidad:** 250 mg/l.

#### Ensayo del ácido tiobarbitúrico

**Muestra:** Aplicable al precipitado de la prueba cualitativa realizada anteriormente.

**Reactivos**

Urea (sólida).

Ácido Tiobarbitúrico (sólido) (no el tiopental).

**Procedimiento:** Lavar el precipitado dos veces con el agua destilada, lavar con acetona y secar a temperatura ambiente. Suspender el precipitado en 50  $\mu\text{l}$  de metanol en un tubo de centrifuga y agregar aproximadamente 20 mg de urea y aproximadamente 200 mg de tiobarbitúrico. Mezclar completamente y calentar suavemente a 140-160°C.

**Resultados:** La formación rápida de un producto rojo-anaranjado soluble en metanol, confirma la presencia de oxalato.

**Sensibilidad:** 250 mg/l.

#### Ensayo del ácido tiobarbitúrico amoniacal

**Muestras:** contenido estomacal y residuos de la escena.

**Reactivos:**

Hidróxido de amonio concentrado (densidad relativa 0,88).

Ácido Tiobarbitúrico (sólido) (no el tiopental).

**Procedimiento:** Mezclar 50  $\mu\text{l}$  de solución de la muestra con 100  $\mu\text{l}$  de hidróxido de amonio concentrado en un tubo limpio y evaporar a sequedad con cuidado usando un mechero. Agregar aproximadamente 200 mg de ácido del tiobarbitúrico y suavemente calentar a 140-160°C.

**Resultados:** La formación rápida de un producto rojo-anaranjado luminoso, soluble en metanol, confirma la presencia de oxalato.

**Sensibilidad:** 250 mg/l.

## 5.61 PARACETAMOL

### Características

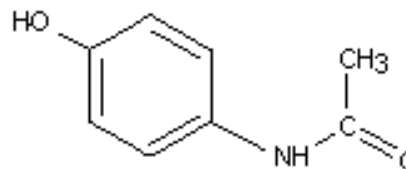
Sinónimos: Acetaminofeno; N-acetil-p-aminofenol.

Fórmula molecular:  $C_8H_9NO_2$

Peso molecular: 151,16

N° CAS: 103-90-2.

pKa: 9,5 (25°C).



Estructura Química

### Características físicoquímicas

Es un polvo cristalino, inodoro de color blanco y sabor amargo. Soluble en 70 partes de agua y en agua hirviendo. Soluble en 7 partes de alcohol, 13 partes de acetona, 40 partes de glicerina y en 9 partes de glicol propilénico. Prácticamente insoluble en éter de petróleo, pentano y benceno. Se descompone al calor por encima de 45°C.

### Descripción general

El Paracetamol es un analgésico ampliamente usado y en ocasiones se comercializa en combinación con otras drogas como el dextropropoxifeno. Es un metabolito de la fenacetina y de benorilato. Es metabolizado por conjugación con el ácido glucurónico y con sulfato y eliminado por excreción urinaria.

La hidrólisis de los conjugados, glucuronato y sulfato, con ácido clorhídrico concentrado da p-aminofenol el cual da la reacción de color con el o-cresol. La medición por espectrofotometría del derivado nitrado es un ensayo selectivo para el paracetamol en plasma.

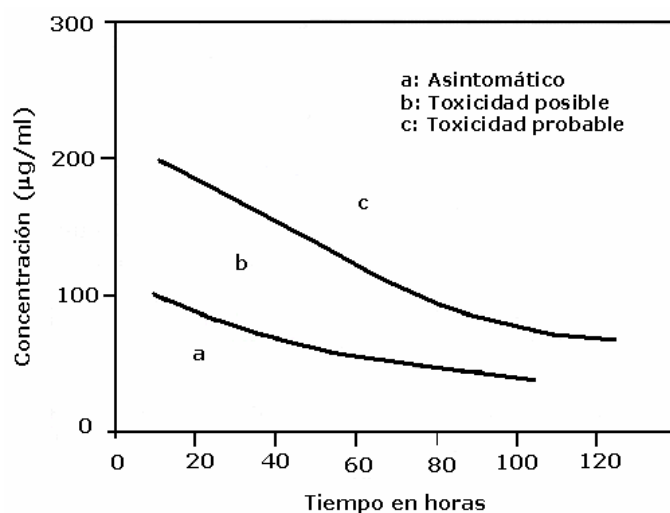
### Sintomatología clínica

La sobredosis de paracetamol provoca inicialmente, náuseas y vómitos. En cuadros fatales el daño hepático se puede manifestar luego de algunos días de ocurrida la ingestión. El daño renal también se manifiesta en una proporción importante de pacientes. El tratamiento con metionina o acetilcisteína (N-acetilcisteína) puede proteger contra tales daños si se administra dentro de 12-15 horas de ocurrida la intoxicación. Uno de los indicadores de daño hepático (tiempo de protrombina), puede alterarse luego de 12-36 horas. Por este motivo, medir la concentración de paracetamol en plasma no sólo es importante en el diagnóstico, sino también para evaluar la terapia protectora (Figura 5.34). Sin embargo, la prueba cualitativa en orina debe realizarse ante cualquier sospecha de ingestión de paracetamol, sobre todo en pacientes que presentan síntomas luego de 24 horas o más de ocurrida la ingestión.

Valores terapéuticos en plasma(*)	Valores tóxicos en plasma(*)
de 10 a 20 $\mu\text{g}$ / ml	de 30 a 300 $\mu\text{g}$ / ml

(\*) Goodman y Gilman 9 edición

El tratamiento con metionina o N-acetilcisteína está indicado si la concentración en plasma está por encima de la línea "c". Los resultados dentro de las primeras 4 horas de la ingesta son poco confiables ya que la absorción puede no haber sido completa. Es conveniente continuar monitoreando luego de las 4 hs.



**Figura 5.34. Previsión sintomática según la concentración del paracetamol en función del tiempo de ingesta. (Toxicología Clínica, 1993)**

## Laboratorio

### Ensayos cualitativos

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, residuos de la escena.

#### Reactivos

Cloruro férrico

Folin-Ciocalteu

Liebermann

Nessler

**Procedimiento:** Agregar la solución del reactivo a la muestra o a una solución etanólica de la muestra.

**Resultados:** Colores observados frente a los reactivos:

Cloruro férrico: azul

Folin-Ciocalteu: azul

Liebermann: violeta

Nessler: marrón (fugaz)

### Otros ensayos

**Muestra:** orina hidrolizada.

#### Reactivos

o-cresol/amonio: o-cresol 10g/l y amonio 4 M/l

**Procedimiento:** A 0,5 ml de la muestra agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado calentar en baño de agua hirviendo por 10 minutos y enfriar. Agregar 1 ml de la solución de o-cresol a 0,2 ml del hidrolizado y 2 ml de solución de hidróxido de amonio, mezclar por 5 segundos.

**Resultado:** Aparición de color azul oscuro

### Ensayo cuantitativo

#### Método del sulfamato de amonio

**Muestra:** plasma o suero

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido tricloroacético (100 g/l).

Solución acuosa de ácido clorhídrico (6 mol/l).

Solución acuosa de nitrito de sodio (100 g/l, recientemente preparado).

Solución acuosa de sulfamato de amonio (150 g/l).

Solución acuosa de hidróxido de sodio (6 mol/l).

**Testigos:** Preparar soluciones que contengan paracetamol en las siguientes concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 400 mg/l en plasma blanco (plasma sin medicamentos). Estas soluciones son inestables incluso a 4°C y deben prepararse en forma semanal o guardarse a -20°C.

**Procedimiento:** Agregar 2 ml de ácido tricloroacético a 1 ml de muestra o testigos, centrifugar durante 5 minutos. En un tubo separado colocar 1 ml de ácido clorhídrico y luego 2 ml de la solución de nitrito de sodio y mezclar. Tener precaución ya que el nitrito puede formar humos castaños de dióxido de nitrógeno.

Agregar 2,0 ml del sobrenadante del primer paso a la mezcla obtenida en el segundo paso, mezclar y dejar descansar 2-3 minutos a temperatura ambiente.

Agregar 2 ml de la solución de sulfamato de amonio gota a gota para remover el exceso del ácido nitroso. Tener cuidado porque se produce espuma.

Agregar 2 ml de solución de hidróxido de sodio, mezclar en vortex o similar para quitar las burbujas de gas que se puedan formar y medir la absorbancia a 450 nm contra plasma blanco.

**Resultados:** Calcular la concentración de paracetamol en el plasma por comparación con los resultados que se obtuvieron de las soluciones patrones. Los metabolitos del paracetamol no interfieren, pero el método, sólo es útil dentro de las 4-24 horas luego de la ingestión. El límite de sensibilidad (normalmente es de 50 mg/l) puede ser de 100 mg/l o más con sueros urémicos.

**Interferencias:** El ácido salicílico interfiere levemente ya que a una concentración de salicilato de 1 g/l provoca una concentración aparente de paracetamol de 50 mg/l. Sin embargo, el ácido 4-aminosalicílico produce una importante interferencia ya que a una concentración de 100 mg/l produce una concentración aparente de paracetamol de 320 mg/l. La levodopa también interfiere y las muestras contaminadas con mucus, heparina u otras soluciones que contienen un preservante derivado del o-cresol pueden dar un valor muy alto dando falsos positivos.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

### Reacción con 2,4,6-tris (2-piridil) s-triazina (TPTz)

**Muestra:** Plasma (anticoagulante:EDTA) o suero. Evitar la utilización de heparina como anticoagulante. Conservar a 4° C cuando no se realice el análisis en forma inmediata.

#### Reactivos:

Solución de TPTz (2,4,6-tris (2-piridil)s-triazine) 8 mM : Disolver 74,88 mg de droga sólida de TPTz en 30 ml de HCl 0,036 M. Conservar en frasco color caramelo.

Solución de HCl 0,036 M: Tomar 155 µL de HCl concentrado y llevar a 50 ml.

Solución de Cloruro Férrico 0,54 %: Disolver 54 mg de Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O en 10 ml de HCl 0,02M. Conservar en frasco color caramelo.

Solución de HCl 0,020 M: Tomar 0,86 ml de HCl concentrado y llevar a 500 ml con agua destilada.

Solución Buffer de Acetato de Sodio 0,3M (pH 3,6): Disolver 467,35 mg de Acetato de Sodio Anhidro en 200 ml de agua destilada y adicionar 4 ml de Acido Acético Glacial. Ajustar a pH 3,6. Llevar a volumen final de 250 ml.

Estabilidad de los reactivos: es de 6 meses conservados en heladera a 4° C.

**Testigos:** Solución Madre de Paracetamol 1 mg/ml: Disolver 10 mg de droga pura en 10 ml de agua destilada. Conservar en frasco color caramelo.

Testigos de Paracetamol 50; 100; 150; 200 y 250 µg/ml: Tomar 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 ml de solución madre, colocarlos en respectivos matraces de 10 ml y llevar a volumen con agua destilada. Conservar en frasco color caramelo.

### Procedimiento

**Extracción:** Realizar en tubos con tapa. Los tubos utilizados deben ser idénticos en forma y tamaño para estandarizar el proceso de extracción. Realizar las muestras por duplicado.

Respetar el orden en el cual se agregan los reactivos. Preparar el Baño de Agua a 100° C antes de comenzar con la extracción.

Tabla – Esquema de trabajo de la extracción

Reactivo	Bco. reactivos	Testigos (mg/ml)	Muestras (Por duplicado)
NaCl	Punta de espátula	Punta de espátula	Punta de espátula
Acetato de etilo	1 ml	1 ml	1 ml
Agua destilada	0,5 ml	-	-
Testigo XX µg/ml	-	0,5 ml	-
Muestra de Plasma	-	-	0,5 ml

Colocar todos los tubos en un agitador rotatorio (tipo spiedo) durante 10 minutos y a aproximadamente 80 rpm. Esta agitación evita la formación de emulsiones.

### Reacción colorimétrica.

Utilizar tubos de 1 cm de diámetro x 10 cm de largo. Colocar en cada uno de los tubos los reactivos, testigos o muestras según corresponde de acuerdo al siguiente esquema de trabajo:

**Tabla – Esquema de trabajo de la reacción colorimétrica**

	Bco reactivos	Testigos (mg/ml)	Muestras (Por duplicado)
Acetato de Na 0,3 M	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
TPTz 8 mM	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml
FeCl <sub>3</sub> 0,54%	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Fase orgánica (Superior)	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml

Homogeneizar suavemente cada tubo. Colocar los tubos en baño de agua a 100 °C durante 10 minutos. Mantener la temperatura del baño por debajo de ebullición (burbujeo) para evitar proyecciones. Esperar 5 minutos y efectuar lectura en el espectrofotómetro a 593 nm llevando a cero de absorbancia con el Blanco de Reactivos. Realizar la curva de calibración. Interpolar la absorbancia de la muestra y calcular la concentración en la muestra.

**Sensibilidad:** 15 µg/mL

**Interferencias:** La dipirona en concentraciones terapéuticas. Ácido acetilsalicílico y salicilamida en concentraciones tóxicas. Levodopa, aminofenazona, fenilbutazona y oxifenilbutazona, fenilefrina.

### Cromatografía en capa delgada

El paracetamol se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA, CD, CE, CF y CAE

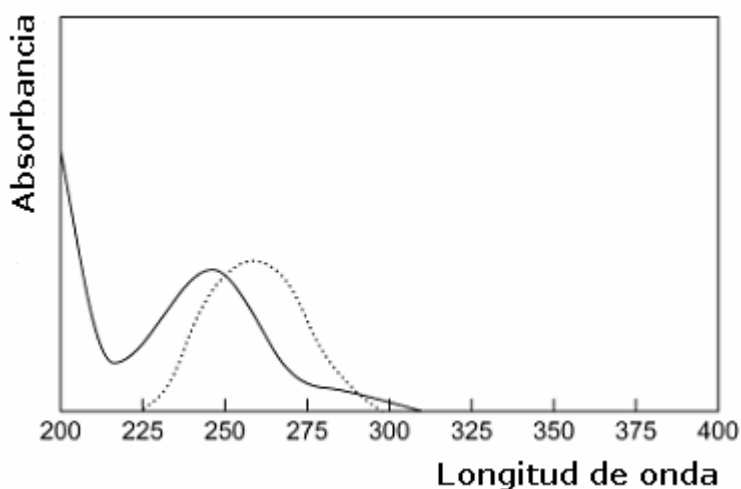
#### Revelados

Cloruro férrico: azul suave

Solución de permanganato de potasio acidificada: positivo

### Barrido al UV

Se puede obtener un espectro característico en medio ácido el cual presenta un pico de absorción máximo a 245 nm y en solución alcalina a 257 nm. Figura 5.35



**Figura 5.35. Barrido al UV del paracetamol**

## 5.62 PARAQUAT

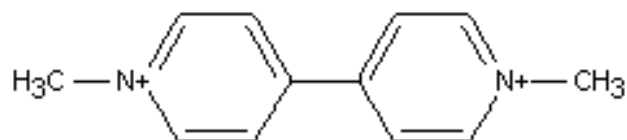
### Características

Sinónimos: 1,1'-Dimetil-4,4'-bipiridilo ión

Fórmula:  $C_{12}H_{14}N_2$

Peso molecular: 186

N° CAS: 4685-14-7



Estructura Química

### Descripción general

El Paraquat es ampliamente usado como herbicida de contacto y puede ser formulado junto con el herbicida diquat. El paraquat es también encontrado como dicloruro y es extremadamente peligroso y tóxico. La dosis letal en un adulto puede ser tan baja como 4 mg/kg de peso.

### Sintomatología clínica

La ingestión de paraquat puede causar sensación de quemazón en todo el tracto digestivo, esófago, estómago y úlceras en los labios, lengua y faringe. Luego de la absorción masiva del paraquat, el paciente tiene comprometido todos los órganos. La absorción de dosis bajas puede llevar al desarrollo de fibrosis pulmonar progresiva que finalmente causa la muerte por fallo respiratorio. Puede desencadenar una falla del miocardio y falla renal. El tratamiento es sintomático y de sostén. Las medidas más urgentes son para reducir la absorción (por la administración oral de tierra de diatomeas o de Fuller, carbón activado, etc.) y reforzar la eliminación por orina de paraquat (por hemodiálisis) El papel más importante de un análisis es evaluar la prognosis del paciente con riesgo de contraer fibrosis pulmonar progresiva. Una muestra de orina fuertemente positiva luego de 4 hs después de la ingestión indica un pronóstico grave. No debe administrarse oxígeno ya que éste incrementa la toxicidad de los bipyridilos.

Las concentraciones de paraquat en plasma por los métodos descritos más adelante pueden realizarse como guía de prognosis pero los métodos fiables requieren análisis de radioinmunoensayo o cromatografía líquida de alta performance HPLC.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal, restos de la escena.

#### Reactivos

Ditionito: (ver capítulo 4) y anexo I:

**Procedimiento:** ver capítulo 4

**Resultados:** Colores observados frente al ditionito: color azul-negro

**Sensibilidad:** 1 mg/l

#### Barrido al UV

En medio ácido el paraquat presenta un máximo a 257 nm .Figura 5.36

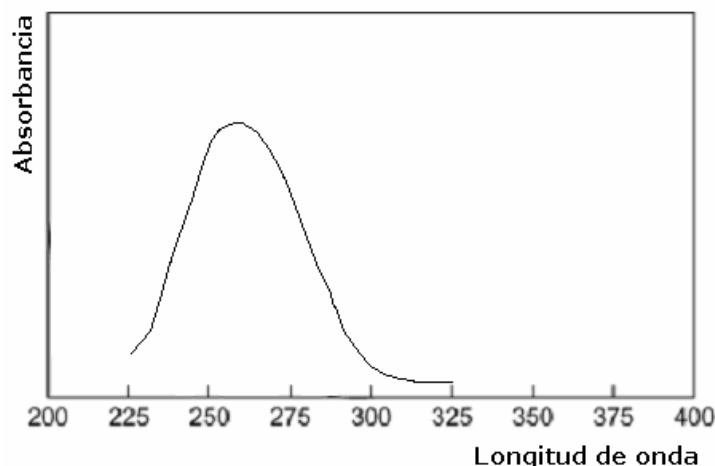


Figura 5.36- Barrido al UV del paraquat

## 5.63 PENTACLOROFENOL

### Características

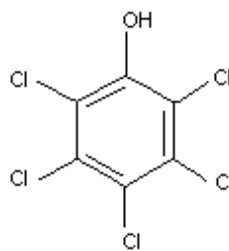
Sinónimos: PCP

Fórmula:  $C_6HCl_5O$

Peso molecular: 266

N° CAS: 87-86-5

pKa: 4,7 (25°C)



Estructura Química

### Descripción general

El pentaclorofenol se usa como preservantes de madera, desinfectantes, y como herbicida de contacto. El pentaclorofenol produce desacople en la fosforilación oxidativa. A diferencia del dinitrofenol mancha de amarillo la piel. El pentaclorofenol tiene un grupo fenólico que le da olor característico y esto puede ayudar al diagnóstico.

### Sintomatología clínica

La exposición al pentaclorofenol puede causar sudor, hiperpirexia, respiración acelerada y taquicardia. La muerte ocurre en casos muy severos. La intoxicación aguda puede ser por absorción dérmica y pulmonar. La prevención de la absorción es importante así como las medidas sintomáticas y de sostén.

### Laboratorio

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Solución acuosa de hidróxido de sodio (2 mol/l).

Ácido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83).

Ácido nítrico concentrado (densidad relativa 1,40).

**Procedimiento:** Mezclar 10 ml de muestra y 20 ml de acetato de n-butilacetato durante 5 minutos usando un mezclador rotatorio y centrifugar durante 5 minutos.

Transferir el extracto a un tubo limpio y evaporar a sequedad en un baño de agua hirviente o bajo una corriente de aire comprimido o de nitrógeno.

Agregar 0,2 ml de ácido nítrico concentrado al residuo y calentar el tubo en baño maría durante 30 segundos.

Enfriar y agregar 0,1 ml de la mezcla a 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.

A la mezcla enfriada agregar 2 ml de agua destilada, a cantidad suficiente de la solución de hidróxido de sodio hasta que el pH alcance el valor de 8 (medir con papel indicador universal).

**Resultados:** El pentaclorofenol da durante la reacción un color rojo primero y al final un color castaño-violeta. Otros fenoles clorados como los hexaclorofenoles también reaccionan en este ensayo.

**Sensibilidad:** 1 g/l.

## 5.64 PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS

### Descripción general

Estos compuestos son hidrocarburos clorados de diversas estructuras. Algunos de ellos se encuentran en la siguiente Tabla.

Estos compuestos fueron usados como insecticidas en muchos países. Son muy persistentes en el medio ambiente. Los plaguicidas organoclorados aldrin, dieldrin y endrin (dosis letal aguda aproximada, 5 g en un adulto) son más tóxicos que el lindano o DDT (la dosis letal aproximada, 30 g).

Tabla: Plaguicidas organoclorados

Compuesto	Nombre Químico	PM
Aldrin (HHDN)	1,2,3,4,10,10-Hexacloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahidro-1,4,5,8-dimetanonafaleno	365
Clordano	1,2,4,5,6,7,8,8-Octacloro-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-4,7-metanoindena	410
DDT Principal	1,1,1-tricloro-2,2-bis- (4-clorofenil)etano	355
Dieldrin (HEOD)	1,2,3,4,10,10-Hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidro-exo-1,4-endo-5,8-dimetanonafaleno	381
Endrin	1,2,3,4,10,10-Hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidro-endo-1,4-endo-5,8-dimetanonafaleno	381
Heptacloro	1,4,5,6,7,8,8-Heptacloro-3a,4,7,7a- tetrahidro-4,7-metanoindeno	373
Lindane( $\gamma$ -HCH)	1-alfa,2-alfa,3 $\beta$ ,4-alfa,5-alfa,6 $\beta$ - Hexaclorociclohexano	291

### Sintomatología clínica:

Los síntomas de intoxicación con plaguicidas organoclorados incluyen vómitos, debilidad y entumecimiento de las extremidades, aprehensión, excitación, diarrea y temblor muscular, con convulsiones y depresión respiratoria en los casos más severos.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Cromatografía en placa delgada

**Muestras:** contenido estomacal, restos de la escena (extracción etérea).

Los plaguicidas organoclorados se pueden detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CW, CZ, CAA, CAB y CAC

#### Revelado secuencial

Permanganato de potasio

2-aminoetanol, calentar preferentemente en una plancha calefactora a 100°C por 20 minutos y dejar secar

Aspersión con el reactivo de nitrato de plata

Exponer a la luz ultravioleta (UV) (254 nm) por 15 minutos

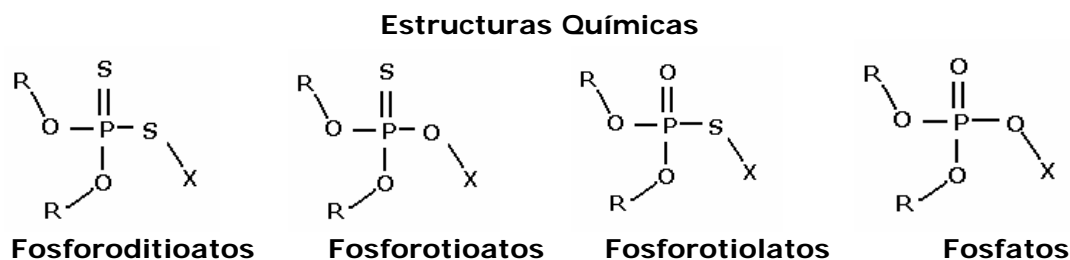
**Resultados:** Luego de aplicados los reveladores en la secuencia descrita, la aparición de color marrón-negro indica la presencia de plaguicidas organoclorados. La identificación es por comparación con patrones en el cromatograma. El dieldrin y endrin no son detectados bajo estas condiciones.



## 5.64.1 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

### Descripción general

Este es un grupo muy grande de compuestos. Hay cuatro estructuras básicas:



Donde: R= grupos alquilo; X= gran variedad de estructuras

Dentro los organofosforados, podemos citar: Azinfos-metil, clorpirifos, diazinon, diclorvos (DDVP), dimetoato, coumafos, fenamifos, fenitrotion, fention, fentoato, malation, metamidofos, monocrotofos, paration, temefos, triclorfon.

Los plaguicidas organofosforados se usan en agricultura principalmente para el control de insectos de cuerpo blando y su toxicidad para los seres humanos varia según el compuesto. Sin embargo, la mayoría de los insecticidas interfieren con la neurotransmisión debido a que inhiben la acetilcolinesterasa.

Algunos de estos compuestos son hidrolizados en solución alcalina mientras que otros (por ejemplo el metil-azinfos, diazinon y malation) son altamente inestables en medio ácido. Por esta razón es importante ajustar el pH del contenido estomacal y residuos de la escena a aproximadamente 7 para el análisis.

Los plaguicidas organofosforados tienen a menudo un olor picante (ajo) y esta propiedad puede ser útil para el diagnóstico.

### Sintomatología clínica:

La exposición a los insecticidas organofosforados puede causar broncorrea, dolor respiratorio, salivación excesiva, náuseas, debilidad muscular y finalmente parálisis. La medida de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria proporciona un método de evaluación de la severidad de la intoxicación con este grupo de compuestos.

El tratamiento es sintomático y de sostén y puede incluir la administración de atropina y pralidoxima.

### Laboratorio

#### Cromatografía en placa delgada

**Muestras:** contenido estomacal, restos de la escena (extracción etérea).

Los organofosforados se pueden detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CW, CX, CY, CZ, CAA, CAB y CAC

#### Revelado secuencial

##### Reactivos:

-Homogenato de hígado: Triturar 20 g de hígado fresco de novillo, al que se le sacaron los vasos y membranas con 180 ml de agua destilada. Centrifugar durante 20' a 2000 rpm y separar el líquido sobrenadante. Fraccionarlo en alícuotas de 10 ml en tubos plásticos y conservarlo a -20 °C. Estable varios meses.

-Solución alcohólica de acetato de β naftol: 2,5 mg/ml

-Fast Blue salt BN: 12,5 mg en 8 ml de agua destilada.

-Cuba saturada con bromo

**Procedimiento:** Retirar la placa de la cuba luego de corrida, dejar evaporar los solventes y colocarla unos minutos en la cuba saturada con bromo. Exponerla unos minutos al aire a fin de eliminar el exceso de bromo y efectuar una aspersion uniforme con el homogenato de hígado y llevarla a la estufa a 37°C durante 30 minutos.

Mezclar partes iguales de la solución de acetato de  $\beta$ -naftol y de Fast Blue y aspersión la placa.

**Resultados:** En presencia de plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, aparecen manchas blancas sobre fondo de color liliáceo.

### **Determinación de la actividad de la Colinesterasa plasmática (butirilcolinesterasa, BuChE)**

**Muestra:** plasma o suero

Se aplica igual procedimiento analítico que en el laboratorio de bioquímica clínica

**Resultados:** En casos de intoxicación por plaguicidas organofosforados se encontrará la enzima francamente inhibida.

### **Determinación de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria (acetiltiocolinesterasa, AChE)**

**Muestra**

1 ml de sangre obtenida con heparina o EDTA como anticoagulante. La muestra puede conservarse en heladera 24 hs.

#### **Fundamento**

La AChE puede hidrolizar a la acetilcolina y a la acetiltiocolina, los productos de hidrólisis serán acetato y tiocolina. La tiocolina reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) produciendo el 2-nitro-5-mercapto benzoato, compuesto coloreado que puede medirse a 405nm.

#### **Reactivos**

- Solución fisiológica
- Solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  52 mmol/l: Pesar 1,86 g de la droga sólida y llevar a 100 ml con agua destilada.
- Solución de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  52 mmol/l: Pesar 0,405 g de la droga sólida y llevar a 50 ml con agua destilada.
- Solución Tampón fosfato:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ : 52 mmol/l pH= 7,2. Colocar aproximadamente 65 ml de la solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 35 ml de la solución de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  en un vaso de precipitado de 250 ml. Ajustar el pH a 7,2.
- Solución Tampón cromógeno: ácido 5,5-ditiobis-2 nitro benzoico (DTNB) : 0,26 mmol/l. Pesar 10,3 mg del DTNB y disolverlos en 100 ml de la solución tampón. (SN1)
- Solución de yoduro de acetiltiocolina (sustrato) 156 mmol/l. Pesar 90 mg de la droga sólida y disolverla en 2 ml de agua destilada. (SN2)

#### **Procedimiento**

Separar mediante centrifugación el paquete globular. Lavar el paquete globular con solución fisiológica dos veces, descartando el líquido de lavado mediante centrifugación, durante 5 minutos a 1500 g.

Preparación del hemolizado: Tomar 0,1 ml del paquete globular lavado y llevarlo a 2,5 ml con agua destilada.

En la cubeta colocar 3,0 ml de la solución SN 1 y 20  $\mu\text{l}$  del hemolizado. Homogeneizar bien e incubar unos 5 minutos a 25°C. Adicionar 0,1 ml de SN 2, homogeneizar. Leer las absorbancias a 405 nm cada 30 segundos durante 3 - 4 minutos.

Cálculo de la actividad de AChE: determinar  $\Delta A/\text{min}$  y calcular:

$$U/I = \frac{\Delta \text{Abs}/\text{min.} \times 10^6 \times V_f(I) \times D}{\epsilon \times \text{paso óptico (cm)} \times V_m (I)}$$

$\epsilon$  (coeficiente de extinción molar 25°C) = 13600 l x M<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>

10<sup>6</sup> = para pasar moles a micromoles

V<sub>f</sub> = volumen final expresado en litro en la cubeta (en este caso: 0,00312 l)

V<sub>m</sub> = volumen muestra expresado en litro (en este caso: 0,00002 l)

Paso óptico = 1 cm

D = factor de dilución (25)

Observación: U/I =  $\mu\text{mol}$  de sustrato/l x min a 25°C

### Valores de referencia







Colinesterasa Eritrocitaria: 7120-11760 U/I

### Interpretación de los resultados

El diagnóstico de la intoxicación por plaguicidas organofosforados o carbámicos lo realiza el médico por antecedentes de exposición y signos y síntomas característicos.

La AChE presenta una mejor correlación con la situación clínica del paciente ya que esta es la enzima verdadera y no se modifica en situaciones patológicas tales como hepatopatías crónicas, cirrosis, etc. que sí alteran a la Che sérica.

En general, la Che es la primera en disminuir y la primera en recuperarse (14% cada 24 horas). La AChE disminuye después y el tiempo que tarda en disminuir va a depender de la vía de ingreso, de la dosis, de la velocidad de absorción y de la estructura química del organofosforado involucrado. También tarda en recuperarse (1% cada 24 a 48 hs.). No obstante, algunos organofosforados tienen un comportamiento atípico y no siguen este patrón de comportamiento pudiéndose observar inhibiciones simultáneas de ambas enzimas.

Colinesterasa plasmática	Colinesterasa eritrocitaria	Interpretación
		<b>Intoxicación leve o reciente</b>
		<b>Intoxicación a dosis repetidas</b>
		<b>Intoxicación grave y reciente</b>

## 5.65 PROPRANOLOL

### Características

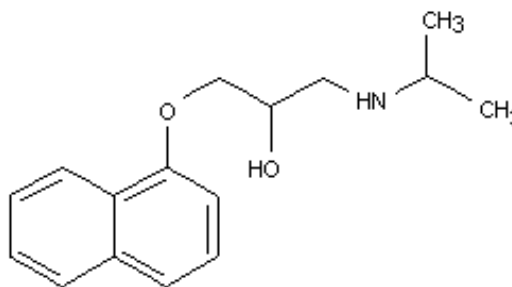
Sinónimos: (±)-1-isopropilamino-3-(1-naftiloxi)propan-2-ol

Fórmula: C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO

Peso molecular: 259

N° CAS: 525-66-6 y 13013-17-7 (±)

pKa: 9,5 (24°C).



Estructura Química

### Descripción General

El propranolol es un agente β-bloqueante. Se administra por vía oral en el tratamiento de la hipertensión, en algunas clases de desórdenes cardíacos y para otros usos. El Propranolol sufre el metabolismo del primer paso en forma extensiva y las vías metabólicas incluyen la hidroxilación aromática, N-dealquilación, deaminación oxidativa y conjugación.

Este compuesto y algunos de sus metabolitos pueden identificarse por cromatografía en capa delgada a partir de un extracto de orina obtenido mediante un solvente en medio básico.

### Sintomatología clínica

La sobredosis de propranolol y otros β-bloqueantes pueden causar delirio, alucinaciones, bradicardia, hipotensión, broncoespasmo, hipoglucemia, coma y convulsiones. La muerte puede sobrevenir por fallo cardíaco o paro cardiorrespiratorio. El tratamiento puede incluir la administración de atropina, glucagón y β-agonistas.

### Laboratorio

#### Cromatografía en capa delgada

El propranolol se puede detectar en cromatografía en capa delgada, utilizando como fase móvil los sistemas: CA y CB

#### Reveladores:

Solución ácida de iodoplatinato: positiva

#### Barrido al UV

En medio ácido el propranolol presenta un máximo a 288, 305 y a 319 nm. No presenta picos en medio alcalino. Figura 5.37

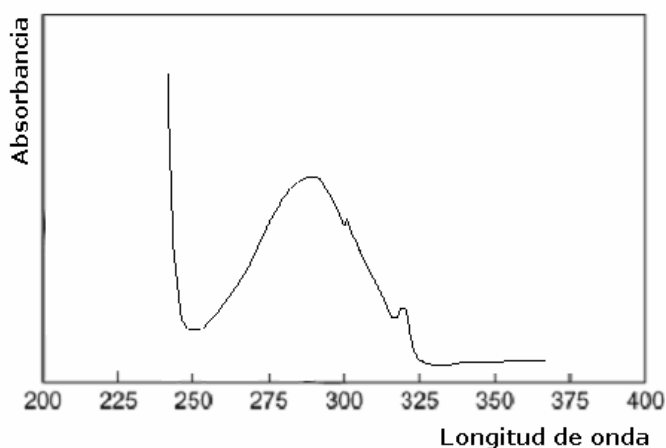


Figura 5.37- Barrido al UV del propranolol

## 5.66 TETRACLORURO DE CARBONO

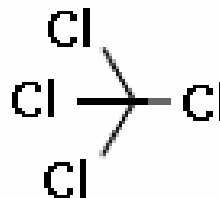
### Características

Sinónimos: Tetraclorometano

Fórmula:  $\text{CCl}_4$

Peso molecular: 154

N° CAS: 56- 23-5



Estructura Química

### Descripción general

El tetracloruro de carbono fue ampliamente usado como limpiador y agente desengrasante, y en los extinguidores para fuego. Al igual que el cloroformo la exposición al tetracloruro de carbono produce daño heparorrenal.

En casos de intoxicaciones agudas al tetracloruro de carbono puede ser perceptible en la orina usando el método de Fujiwara, debido a que el cloroformo es un metabolito y/o contaminante de este solvente. El tetracloruro de carbono como tal no da la reacción de Fujiwara.

### Sintomatología clínica

La intoxicación aguda con tetracloruro de carbono es rara. Los rasgos clínicos incluyen ataxia, náuseas, vómitos, coma, convulsiones, depresión respiratoria y arritmias cardíacas, daño hepático y renal.

El tratamiento es sintomático y de sostén, aunque la acetilcisteína puede proteger contra el daño hepático y renal en los seres humanos.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestra:** orina

#### Reactivos

Fujiwara

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a:** 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b:** 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c:** 1 ml de ácido tricloroacético acuoso

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviente durante 2 minutos.

**Resultados:** Mediante la reacción de Fujiwara un intenso color rojo/púrpura en la capa superior de piridina indica la presencia de compuestos del triclorados.

## 5.67 TETRACLOROETILENO

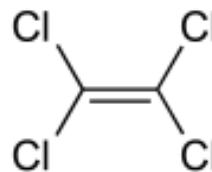
### Características

Sinónimos: Percloroetileno; tetracloroetileno

Fórmula:  $\text{CCl}_2:\text{CCl}_2$

Peso molecular: 166

N° CAS: 4685-14-7



Estructura Química

### Descripción general

El tetracloroetileno se usa como antihelmíntico, como solvente para limpieza en seco y como vapor desengrasante. La intoxicación aguda con este compuesto es por exposición accidental o por inhalación deliberada (abuso del solvente). Sólo el 0,5% de la dosis de tetracloroetileno se metaboliza a ácido tricloroacético y éste puede identificarse en la orina con la prueba de Fujiwara.

### Sintomatología clínica

Los signos de intoxicación aguda con tetracloroetileno incluyen ataxia, náuseas, vómitos, coma, depresión respiratoria y arritmias cardíacas. El daño hepatorenal es muy raro. El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestra:** orina

**Reactivos:**

Fujiwara

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a**: 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b**: 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c**: 1 ml de ácido tricloroacético acuoso

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviente durante 2 minutos.

**Resultados:**

Mediante la reacción de Fujiwara un intenso color rojo/púrpura en la capa superior de piridina indica la presencia de compuestos del triclorados.

## 5.68 TIOCIANATOS

### Descripción general

El tiocianato de potasio (KSCN) y el tiocianato de sodio (NaSCN) fueron usados en el tratamiento de la hipertensión arterial, pero hoy en día se usan principalmente como intermediarios en la síntesis química, en impresiones, tinturas e industrias fotográficas.

### Metabolismo

El tiocianato es un metabolito de cianuro y su toxicidad es el resultado de la administración crónica de nitroprusiato de sodio. El tiocianato es también encontrado en la sangre de fumadores de como consecuencia del metabolismo del cianuro presente en el humo del tabaco. Es excretado en orina, tiene una vida media en el plasma de 3 días si la función renal es normal.

### Sintomatología clínica

La ingestión aguda de sales de tiocianato puede causar desorientación, debilidad, hipotensión, confusión, alteración psicópata, espasmo muscular y convulsiones. El tratamiento es sintomático y de sostén.

En no fumadores, las concentraciones de tiocianato en el plasma están en un rango de 0,1 a 0,4 mg/l, mientras que las concentraciones en fumadores crónicos el rango es de 5 a 20 mg/l. Las concentraciones de tiocianato en plasma pueden alcanzar 100 mg/l durante la terapia con nitroprusiato de sodio, pero la toxicidad a menudo se manifiesta a concentraciones mayores a 120 mg/l. Las concentraciones en el plasma del orden de 200 mg/l han sido fatales.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestras:** orina, contenido estomacal y residuos de la escena.

#### Reactivos

Cloruro férrico

**Procedimiento:** Agregar la solución del reactivo a la muestra o a una solución etanólica de la muestra.

**Resultados:** color rojo indica la presencia de tiocianatos.

**Sensibilidad:** 50 mg/l.

#### Ensayo cuantitativo

**Muestras:** plasma o suero.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido tricloroacético (50 g/l).

Reactivo de nitrato férrico. Disolver 80 g de nitrato férrico nohidratado en 250 ml de solución acuosa de ácido nítrico (2 mol/l), diluir a 500 ml con agua destilada y filtrar.

**Testigos:** Preparar soluciones acuosas que contengan el ión tiocianato en las concentraciones de 5, 10, 20, 50 y 100 mg/l por dilución desde una solución acuosa madre de tiocianato de potasio (1,67 g/l, equivalente a la concentración de ión de tiocianato de 1 g/l).

**Procedimiento:** Agregar 4,5 ml de solución acuosa del ácido tricloroacético a 0,5 ml de la muestra y a los testigos, mezclar durante 30 segundos y centrifugar por 5 minutos.

En un cuarto oscuro, agregar 2 ml del sobrenadante a 4 ml del reactivo de nitrato férrico, mezclar durante 5 segundos y medir la absorbancia a 460 nm contra un blanco del reactivo.

**Resultados:** Construir un gráfico de calibración absorbancia versus concentración de tiocianato y calcular la concentración de la muestra por interpolación en la curva.

**Sensibilidad:** 2 mg/l.

## 5.69 TOLUENO

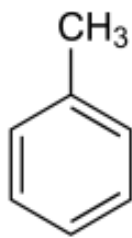
### Características

Sinónimos: Metilbenceno

Fórmula:  $C_6H_5 \cdot CH_3$

Peso molecular: 92

N° CAS: 108–88–3



Estructura Química

### Descripción general

El tolueno se usa como solvente en adhesivos, pinturas y tatuajes (que a menudo también contiene diclorometano o metanol) y se usa ampliamente en la industria. La intoxicación aguda por tolueno es generalmente por exposición accidental o inhalación deliberada (aspirar adhesivos y abuso de solvente).

### Metabolismo

El 80% de la dosis de tolueno absorbida se metaboliza a ácido benzoico el cual se conjuga con la glicina para dar ácido hipúrico.

La medida de la excreción urinaria de hipurato puede usarse como un índice de la exposición crónica al tolueno, pero el benzoato de sodio o el ácido benzoico, usados como preservantes son también metabolizados a hipurato por lo que los resultados deben interpretarse con cautela.

### Sintomatología clínica

Los síntomas de intoxicación aguda por tolueno incluyen ataxia, náuseas, vómitos, depresión respiratoria, coma y arritmias cardíacas. El daño hepatorenal es raro. El tratamiento es sintomático y de sostén.

Las concentraciones de ácido hipúrico normales son de 0,1 – 0,2 g/l; las concentraciones mayores a 1 g/l indican exposición al tolueno si pueden excluirse otras fuentes de benzoato. En la intoxicación aguda por tolueno, la muerte puede sobrevenir antes de que se detecte la excreción del hipurato en la orina.

### Laboratorio

#### Ensayo cuantitativo

**Muestra:** orina.

#### Reactivos

Solución acuosa de ácido clorhídrico (0,05 mol/l).

Reactivo de p-dimetilaminobenzaldehído: p-dimetilaminobenzaldeído (40 g/l) en anhídrido acético conteniendo unos pocos cristales (0,5 g) de acetato de sodio anhidro.

Cloruro de sodio (sólido).

Sílica precipitada.

**Testigos:** Utilizar orina normal adicionada de ácido hipúrico en las concentraciones de 0,2; 0,5; 1 y 2 g/l. Todas las soluciones patrones deben ser preparadas con orina normal. Estas soluciones son estables por 1 mes si se guardaron a 4°C en la oscuridad. Para el blanco usar orina normal, de una persona no expuesta a tolueno.

**Procedimiento:** Ajustar el pH de 1 ml de muestra o patrón a pH 2 con ácido clorhídrico diluido y agregar cloruro de sodio hasta que la solución esté saturada. Agregar 2 ml de dietileter:metanol (9:1), mezclar en vortex durante 1 minuto y centrifugar durante 5 minutos.

Aspirar la capa superior de éter y colocarla en un tubo limpio, re-extraer la fase acuosa con una porción de 2 ml de dietileter:metanol (9:1).

Juntar los extractos etéreos y agregar 1 ml a aproximadamente 0,5 g de la sílica colocada en un tubo limpio. Evaporar el solvente bajo una corriente de aire o nitrógeno y agregar 3 ml del reactivo de p-dimetilaminobenzaldehído, calentar sobre una plancha calefactora a 135°C durante 5 minutos. Enfriar, agregar 4 ml de metanol, mezclar en vortex durante 1 minuto y centrifugar durante 5 minutos. Separar los extractos metanólicos y colocarlos en un tubo limpio. Re-extraer la sílice con una nueva porción de 4 ml de metanol.

Combinar los extractos metanólicos y medir la absorbancia a 460 nm contra el blanco de orina.



**Resultados:** Preparar un gráfico de calibración con los patrones de ácido hipúrico y calcular el ácido hipúrico en la muestra. Es importante usar una porción de la misma orina usada para preparar los patrones como blanco, ya que puede existir excreción de hipurato en la orina proveniente de dietas que contienen benzoatos.

**Sensibilidad:** 0,1 g/l.

## 5.70 1,1,1-TRICLOROETANO

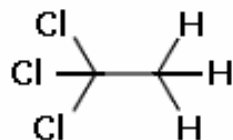
### Características

Sinónimos: Metilcloroformo

Fórmula:  $\text{CCl}_3\cdot\text{CH}_3$

Peso molecular: 133

N° CAS: 71-55-6



Estructura Química

### Descripción general

El 1,1,1-tricloroetano es ampliamente usado como un solvente para limpieza en seco y vapor desengrasante y en los fluidos de corrección de máquina de escribir.

La intoxicación aguda con 1,1,1-tricloroetano normalmente es por exposición accidental o inhalación deliberada (abuso solvente).

### Metabolismo

El 2% de una dosis absorbida de 1,1,1-tricloroetano se metaboliza a 2,2,2-tricloroetanol y luego al ácido tricloroacético.

### Sintomatología clínica

Los síntomas de intoxicación con 1,1,1-tricloroetano incluyen ataxia, náuseas, vómitos, coma, depresión respiratoria y arritmias cardíacas. El daño hepatorenal es raro.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestra:** orina.

#### Reactivos:

Reactivo de Fujiwara

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a**: 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b**: 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c**: 1 ml de ácido tricloroacético acuoso

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviendo durante 2 minutos.

#### Resultados:

Mediante la reacción de Fujiwara un intenso color rojo/púrpura en la capa superior de piridina indica la presencia de compuestos del triclorados.

## 5.71 TRICLOROETILENO

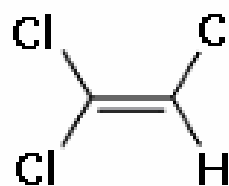
### Características

Sinónimos: Tricloroeteno

Fórmula:  $\text{CHCl:CCl}_2$

Peso molecular: 131

N° CAS: 79-01-6



Estructura Química

### Descripción general

El tricloroetileno es un solvente muy conocido y también se usa como un anestésico general. La intoxicación aguda con el tricloroetileno se produce por exposición accidental masiva o por inhalación deliberada (abuso del solvente). Como con algunas drogas hipnóticas, incluso el hidrato de cloral y diclorofenazona, el tricloroetileno es metabolizado (aproximadamente 80% de una dosis) a ácido tricloroacético.

### Sintomatología clínica

Los síntomas clínicos de la intoxicación aguda con el tricloroetileno incluyen ataxia, náuseas, vómitos, coma, depresión respiratoria y arritmias cardíacas. Puede ocurrir daño hepatorenal.

El tratamiento es sintomático y de sostén.

### Laboratorio

#### Reacciones de color

**Muestra:** orina.

#### Reactivos

Reactivo de Fujiwara

**Procedimiento:** a tres tubos de 10 ml agregar respectivamente

Tubo **a**: 1 ml de orina o desproteinizado de sangre

Tubo **b**: 1 ml de agua destilada (blanco)

Tubo **c**: 1 ml de ácido tricloroacético acuoso

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviendo durante 2 minutos.

**Resultados:** Mediante la reacción de Fujiwara un intenso color rojo/púrpura en la capa superior de piridina indica la presencia de compuestos del triclorados.

# **ANEXOS**

# ANEXO 1

## REACTIVOS

- **Papel impregnado con Acetato de Plomo:** Sumergir papel de filtro blanco en una mezcla de 10 volúmenes de solución de acetato de plomo (acetato de plomo al 10% en dióxido de carbono libre de agua) y 1 volumen de ácido acético 2 M. Secar y cortar el papel en tiras. Guardar en lugar cerrado.
- **Papel impregnado con Almidón-Yodo:** Impregnar papel blanco (no satinado) con mucílago de almidón preparado por mezcla de 0,5 g de almidón con 5 ml de agua y agregar, con agitación constante, suficiente agua para producir 100 ml. Calentar unos pocos minutos, enfriar y filtrar. Debe ser preparado recientemente. diluido con un volumen equivalente de solución de yoduro de potasio al 0,4%.

## SOLUCIONES

- **Acetato de Plomo** al 10% en dióxido de carbono libre de agua.
- **Amarillo de Dimetilo:** 0,2% en etanol (90%)
- **Amonio concentrado:** Contiene de 27 a 30% p/p de amoníaco.
- **Agua de Bromo:** Solución saturada de bromo de preparación reciente. Colocar bajo campana agua destilada (aproximadamente 100 ml como mínimo) dentro de un recipiente de vidrio de fondo grueso. Dejar caer una ampolla conteniendo bromo al fondo del recipiente. Mediante una varilla de vidrio grueso romper bajo el agua la ampolla. Completar con mayor cantidad de agua destilada, tapar suavemente y dejar bajo campana por lo menos 12 horas. Debe quedar bromo líquido en la parte inferior lo que asegura la saturación de la solución. Periódicamente agregar mas agua destilada.
- **Cianuro de Potasio:** Solución de cianuro de potasio al 10%.
- **Clorhidrato de Hidroxilamina:** Disolver 3,5 g de clorhidrato de hidroxilamina en 95 ml de etanol (60%), adicionar 0,5 ml de una solución al 0,1% de azul de bromofenol seguido por hidróxido de potasio 0,5 M en etanol hasta que la solución desarrolla un tinte verde, entonces adicionar etanol (60%) para producir 100 ml de solución final.
- **Cloro:** Solución saturada de cloro de preparación reciente.
- **Cloruro de Bario:** Solución al 10% de cloruro de bario.
- **Cloruro de Cobre:** Disolver 125 g de cloruro de cobre en 375 ml de agua y 125 ml de metanol.
- **Cloruro de Sodio-Cloruro de Potasio:** Mezclar 140 ml de cloruro de sodio 1 M con 50 ml de cloruro de potasio 0,1 M y diluir a 1000 ml.
- **Cloruro Férrico- Etanol-Ácido Sulfúrico:** Disolver 500 mg de cloruro férrico en 150 ml de etanol y 50 ml de ácido sulfúrico concentrado. Tomar recaudos ya que la reacción es exotérmica. Agregar el ácido al etanol, lentamente, agitando suavemente y enfriando.
- **Cloruro Férrico:** Solución de cloruro férrico al 5%.
- **Difenilamina** (10 g/l) en ácido sulfúrico concentrado (densidad relativa 1,83)
- **DPST:** Disolver 0,5 g de cloruro de 2,5-difenil-3-(4-estirilfenil)-tetrazolium en 100 ml de etanol; diluir 5 ml de esta solución a 50 ml con hidróxido de sodio 2 M inmediatamente antes de usar.
- **Hipobromito de Sodio:** Disolver 5 ml de bromo en 50 ml de una solución de hidróxido de sodio al 40%, agitando lentamente y enfriando.
- **Peróxido de Hidrógeno,** solución concentrada, 100 volúmenes: Contiene 29 a 31% p/v de peróxido de hidrógeno.
- **Solución de Sulfato de Cobre:** Solución de sulfato de cobre al 5%.
- **Solución de Sulfato Férrico Amónico:** Solución de sulfato férrico amónico al 10%.
- **Solución de Sulfato Mercúrico:** Disolver 4 g de nitrato mercúrico en 50 ml de una mezcla de ácido sulfúrico concentrado:agua (1:1). Llevar a 250 ml con agua.
- **Vainillina:** Disolver 2 g de vainillina en 100 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- **Vapor de Dióxido de Nitrógeno:** Producido por la acción de ácido nítrico sobre virutas de cobre. Para usar como revelador en cromatografía en placa delgada, exponer la placa a los vapores nitrosos desarrollados.

## ÁCIDOS

- **Ácido Acético Glacial:** contiene no menos de 99% p/p de ácido acético.
- **Ácido Clorhídrico Concentrado:** Contiene 35 a 39% p/p de ácido clorhídrico.
- **Ácido Clorhídrico al 1%:** Mezclar 274 g de ácido clorhídrico con 726 g de agua. Esta solución contiene 1% p/p de ácido clorhídrico.
- **Ácido Nítrico al 10%:** Mezclar 106 ml de ácido nítrico con cantidad suficiente de agua para producir 1000 ml de solución. Contiene aproximadamente 10% p/p de ácido nítrico.
- **Ácido Nítrico Fumante:** Contiene no menos de 95% p/p de ácido nítrico.
- **Ácido Nítrico:** Contiene 69 a 71% p/p de ácido nítrico.
- **Ácido Perclórico:** Contiene 72% p/p de ácido perclórico.
- **Ácido Sulfúrico Concentrado:** Contiene no menos de 95% p/p de ácido sulfúrico.
- **Ácido Sulfúrico Fumante:** Preparado por adición de trióxido de azufre a ácido sulfúrico y se utiliza conteniendo 30% de trióxido de azufre libre.
- **Ácido Sulfúrico al 10%:** Mezclar cuidadosamente 104 g de ácido sulfúrico con 896 g de agua y enfriar. Contiene 10% p/p de ácido sulfúrico.
- **Reactivo de Ácido Ascórbico:** Solución al 2% de ácido ascórbico.
- **Reactivo Ácido Sulfúrico-Etanol:** Agregar lentamente 10 ml de ácido sulfúrico a 90 ml de etanol.
- **Solución de Ácido Acético diluido:** Contiene aproximadamente 6% p/p de ácido acético.
- **Solución de Ácido Crómico:** Disolver 3 g de dicromato de potasio en 10 ml de agua, luego cuidadosamente diluir a 100 ml con ácido sulfúrico agitando lenta y continuamente. La solución es estable por un mes.
- **Solución de Ácido Ditiobisnitrobenzoico:** Disolver 10 mg de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico en 100 ml de buffer fosfato (pH 7,4).
- **Ácido Fosfórico:** Contiene 84 a 90% p/p de ácido fosfórico.
- **Ácido Iodhídrico:** Contiene 55% p/p de ácido iodhídrico.
- **Solución de Ácido Iodobismutoso:** Mezclar 40 mg de subcarbonato de bismuto con 0,5 ml de ácido sulfúrico 0,5 M y agregar 5 ml de una solución de ioduro de potasio al 10%, 1 ml de ácido sulfúrico 0,5 M y 25 ml de agua.
- **Solución de Ácido Perclórico:** Adicionar 15 ml de ácido perclórico a suficiente agua para producir 100 ml.
- **Solución de Ácido p-Toluensulfónico:** Disolver 4 g de ácido p-toluensulfónico en 20 ml de etanol.

## REVELADORES DE CROMATOGRAFÍA EN PLACA FINA Y REACTIVOS COLOR

### Bratton-Marshall

- a) Solución al 1% de nitrito de sodio p/v en ácido sulfúrico al 1%. Adicionar 1,0 g de nitrito de sodio a 1,0 ml de ácido sulfúrico concentrado en 99 ml de agua. Guardar en heladera.
- b) Solución de sulfamato de amonio al 5% p/v en agua. Adicionar 5,0 g de sulfamato de amonio a 100 ml de agua. Guardar en heladera.
- c) Solución al 2% de Cloruro de N-(1-Naftil)etilendiamina en etanol (95%). Adicionar 2,0 g de Cloruro de N-(1-Naftil)etilendiamina a 100 ml de etanol (95%). Guardar en frasco oscuro en heladera.
- d) Revelar en la secuencia siguiente: a + b + c
- e) Revelar con ácido clorhídrico concentrado
- f) Calentar la placa en estufa a 125° C por 10 minutos.

### Benedict

Disolver 1,73 g de sulfato de cobre en 10 ml de agua.

Disolver 17,3 g de citrato de trisodio y 10 g de carbonato de sodio anhidro en 80 ml de agua (reacción exotérmica).

Mezclar las dos soluciones y llevar a 100 mL.

### Bouchardat

Disolver 1g de KI en la menor cantidad posible de agua destilada y agregar 0,5 g de I<sub>2</sub>. Una vez disuelto el yodo llevar a 100 ml con agua destilada.

### **Cloruro Mercúrico-Difenilcarbazona**

- a) Disolver 0,1 g de difenilcarbazona en 50 ml de etanol.
- b) Disolver 1 g de cloruro mercúrico en 50 ml de etanol. Preparar las soluciones diariamente.
- c) Mezclar a) y b) justo antes de usar. Para revelar Barbitúricos se utilizan separadas, 1° aspersionar con cloruro mercúrico y luego difenilcarbazona.

### **Diazotación**

Disolver la muestra en ácido clorhídrico 2 M y observando sobre fondo blanco, agregar una gota de nitrito de sodio al 1%, y una gota de 2-naftol en hidróxido de sodio 2 M.

### **Dicromato de potasio**

Dicromato de potasio (25 g/l) en solución acuosa de ácido sulfúrico (500 ml/l)  
Agregar 50 ul de dicromato de potasio a una tira de papel de filtro. Insertar el papel en el cuello del tubo que contiene 1 ml de la orina. Tapar ligeramente el tubo y calentar en agua hirviendo por 2 minutos

### **Ditionito de sodio**

Hidróxido de amonio acuoso (2 mol/l), ditionito de sodio sólido.  
Agregar 0,5 ml de hidróxido de amonio acuoso a 1 ml de la muestra mezclar por 5 segundos y agregar aproximadamente 20 mg de ditionito de sodio.

### **Dragendorff**

Disolver 8 g de subnitrito de bismuto en 20 ml de  $\text{NO}_3\text{H}$  10 N (de densidad 1,18; se prepara mezclando 20 ml de nítrico concentrado con 50 ml de agua destilada). Volcar esta solución sobre otra que contiene 22,7 g de KI en la menor cantidad posible de agua (20- 25 ml). Dejar en reposo para decantar el  $\text{NO}_3\text{K}$ , separar y diluir a 100 ml.

### **Duquenois**

Disolver 2 g de vainillina y 0,3 ml de acetaldehído en 100 ml de etanol. Guardar en frasco oscuro.

### **Fast Blue BB**

Solución de fast blue BB al 0,15% en agua.

### **FPN**

A 5 ml de solución acuosa de cloruro férrico (50 g/l) agregar 45 ml de solución de ácido perclórico (200 g/kg ó 20% p/p) y 50 ml de solución de ácido nítrico (500 ml/l ó 50%v/v).

### **Folin-Ciocalteu**

Solución stock: disolver 100 g de tungstato de sodio y 25 g de molibdato de sodio en 800 ml de agua. Agregar 50 ml de ácido fosfórico y 100 ml de ácido clorhídrico dejar en reflujo por 10 h. Dejar enfriar, agregar 150 g de sulfato de litio, 50 ml de agua y 4-6 gotas de bromo, dejar que se estabilice por 2 horas. Calentar a baño maría por 15 minutos para remover el exceso de bromo, enfriar, filtrar y enrasar a 1 L con agua. Se debe mantener a 4° C y usarla durante los 4 meses de preparación. Posee un color amarillo y no debe ser usada si posee una coloración verdosa. El reactivo de Folin - Ciocalteu también puede comprarse preparado.  
Para usarla se debe realizar diluciones: ½ de agua.

### **Formaldehído o Formalina**

Contiene 34 a 38% p/p de formaldehído.

### **Formaldehído-sulfúrico**

Agregar 4 volúmenes de ácido sulfúrico a seis volúmenes de formaldehído. Realizar en baño de hielo. Si el reactivo se enturbia, se debe calentar a baño maría.

### **Forrest**

Mezclar 25 ml de solución acuosa de dicromato de potasio (2 g/l), 25 ml de solución de ácido sulfúrico (300 ml/l), 25 ml de solución de ácido perclórico (200 g/kg) y 25 ml de solución de ácido nítrico (500 ml/l).

**Fujiwara**

A cada tubo se le agrega 1 ml del hidróxido de sodio y 1 ml de piridina. Mezclar cuidadosamente y calentar en un baño de agua hirviente durante 2 minutos.

**Iodoplatínico-Acidificado**

Agregar 5 ml de ácido clorhídrico a 100 ml de solución de iodoplatinato.

**Iodoplatinato**

Disolver 0,25 g de cloruro platínico y 5 g de yoduro de potasio en suficiente agua para producir 100 ml.

**Koppanyi-Zwicker**

1% (p/v) de nitrato de cobalto en etanol.

**Liebermann**

1 g de nitrito de sodio y 10 ml de ácido sulfúrico (realizar en frío y bajo campana, libera humos marrones).

**Mandelin**

Disolver 0,5 g de vanadato de amonio en 100 ml ácido sulfúrico concentrado ( $d = 1,86$ ). Mezclar bien antes de usar.

**Marquis**

Mezclar 1 ml de solución de formaldehído con 9 ml de ácido sulfúrico concentrado. Preparar diariamente.

**Molibdato-Antimonio**

Disolver 10 g de molibdato de amonio en 40 ml de ácido sulfúrico 2 M; disolver 0,1 g de tartrato de sodio y antimonio en 50 ml de ácido sulfúrico 2 M. Mezclar las dos soluciones y diluir a 500 ml con ácido sulfúrico 2 M.

**Naftoquinona Sulfonato (ó NQS)**

Disolver 0,3 g de 1,2-naftoquinona-4-sulfonato de sodio en 100 ml de una mezcla de etanol:agua (1:1).

**Nessler**

Disolver 50 g de cloruro mercuríco y 35 g de yoduro de potasio en 200 ml de agua, realizar en frío.

Disolver 50 g de hidróxido de sodio en 50 ml de agua, realizar en frío.

**Ninhidrina**

Adicionar 0,5 g de ninhidrina a 10 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml con acetona. Preparar diariamente

**Nitrato de Plata**

Solución de nitrato de plata al 1% .Debe ser de preparación reciente.

**Nitrato Mercurioso**

Solución saturada de nitrato mercurioso.

**o-Cresol**

Solución acuosa de o-cresol (10 g/l)

**p-Anisaldehído**

Disolver 0,5 ml de p-anisaldehído en 50 ml de ácido acético y 1 ml de ácido clorhídrico.

**Parry – Koppanyi**

Solución de nitrato cobaltoso al 1% en metanol



Solución de isopropilamina al 5% en metanol

**p-DMAB (p- dimetilaminobenzaldehído)**

Disolver 2,0 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 50 ml de 95% etanol y 50 ml de ClH concentrado. Reactivo de preparación reciente.

**Permanganato de Potasio**

Solución de permanganato de potasio al 1%.

**Permanganato de Potasio-acidificada**

Solución de permanganato de potasio al 1% en ácido sulfúrico 0,25 M.

**Reactivo ácido cítrico /acetamida**

Ácido cítrico (5 g/l) y acetamida (100 g/l) en isopropanol.

**Simon**

Solución acuosa de carbonato sódico al 20%.

Solución etanólica de acetaldehído al 50%.

Solución acuosa de nitroprusiato de sodio al 1%.

**Solución de N-(1-Naftil) etilendiamina**

Solución de clorhidrato de N-(1-Naftil) etilendiamina al 0,5%.

**Solución de Nitrato Mercúrico**

Disolver 40 g de óxido mercúrico (rojo ó amarillo) en una mezcla de 32 ml de ácido nítrico y 15 ml de agua. Guardar en frasco de vidrio protegido de la luz.

**Solución de Nitroso-Naftol**

Solución de 2-nitroso-1-naftol al 0,2% en etanol.

**Solución de Tartrato Doble de Cobre y Potasio o Solución de Fehling**

**a)** Disolver 34,64 g de sulfato de cobre en una mezcla de 0,5 ml de ácido sulfúrico y suficiente agua para producir 500 ml

**b)** Disolver 176 g de tartrato de sodio y potasio y 77 g de hidróxido de sodio en suficiente agua para producir 500 ml.

**c)** Mezclar volúmenes equivalentes de las soluciones a) y b) inmediatamente antes de usar.

**Tiocianato de Cobalto**

Disolver 6 g de nitrato de cobalto y 18 g de tiocianato de potasio en 100 ml de agua.

**Tricloruro férrico**

5 g de tricloruro férrico anhidro u 8,25 g de tricloruro férrico hexahidratado, en 100 ml de agua destilada

**Trinder**

Disolver 40 mg de cloruro mercúrico en 850 ml de agua, adicionar 120 ml de ácido clorhídrico 1M y 40 g de nitrato férrico hidratado, y diluir a 1000 ml con agua.

**Valser- Mayer**

Saturar una solución de ioduro de potasio al 10% con un exceso de Ioduro mercúrico.

**Van Urk**

Disolver 1 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 100 ml de etanol y agregar 10 ml de ácido clorhídrico.

**Yodo, Solución**

Disolver 2 g de yodo y 3 g ioduro de potasio en suficiente agua para producir 100 ml.

### **Zwicker**

Mezclar 40 ml de una solución de sulfato de cobre al 10% con 1 ml de piridina y agregar agua suficiente para 100 ml.

### **BUFFERS**

#### **Buffer Acetato (pH 5)**

Disolver 13,6 g de acetato de sodio y 6 ml de ácido acético en cantidad suficiente para producir 1000 ml.

#### **Buffer de Amonio (pH 9,5)**

Disolver 10,7 g de cloruro de amonio en 40 ml de amonio 5 M y diluir con agua a 1000 ml.

#### **Buffer de Borax 0,05 M**

Disolver 19,07 g de borax en suficiente agua para producir 1000 ml.

#### **Buffer Fosfato (pH 5,6)**

Disolver 62,4 g de fosfato diácido de sodio en suficiente agua para producir 100 ml.

#### **Buffer Fosfato (pH 6,88)**

Disolver 3,40 g de fosfato diácido de potasio (0,025 M) y 3,53 g de fosfato monoácido disódico anhidro (0,025 M), ambos previamente secados a 110°C -130°C por 2 horas, en suficiente agua para producir 1000 ml.

#### **Buffer Fosfato (pH 7,4)**

a) Disolver 9,465 g de fosfato ácido disódico anhidro en agua y diluir a 1000 ml;

b) Disolver 9,073 g de fosfato diácido de potasio en agua y diluir a 1000 ml.

c) Mezclar 80 ml de a) con 20 ml de b) para obtener una solución de pH 7,4.

### **HIDRÓXIDOS**

#### **Hidróxido de Sodio al 5%**

Solución de hidróxido de sodio al 5%.

#### **Hidróxido de Sodio al 20%**

Solución de hidróxido de sodio al 20%

## ANEXO 2

### Ministerio de Salud Resolución 650/2002 Bs. As., 30/9/2002 Guía de Toma de Muestra, Conservación y Transporte para Análisis Toxicológicos

#### GUÍA PARA LA OBTENCIÓN, TRANSPORTE, CONSERVACIÓN Y ANÁLISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON PROBABLE INTOXICACIÓN AGUDA

DETERMINACIÓN	MUESTRA Recolección y transporte	ESTABILIDAD	OBSERVACIONES	MÉTODO
<b>Arsénico</b>	-Orina Vol. mínimo: 150 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C Indefinida Freezer: indefinida	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético. No se recomienda vidrio	-Clorimétrico: Vasak-Sedivec -Absorción Atómica: Generación de hidruros
<b>Anticonvulsivantes:</b> -Fenobarbital -Fenitoína -Ác valproico -Carbamacepina	-Suero o plasma heparinizado Vol. mínimo: 1 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 5 días		-Inmunológico
<b>Antidepresivos trcíclicos</b>	-Suero o plasma heparinizado. Vol mínimo: 1 ml. Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 5 días		-Inmunológico
<b>Benzodiazepinas</b>	-Suero o plasma heparinizado Vol. mínimo: 1 ml -Orina: única micción cercana al momento de consumo (no antes de 1 hora) Vol. Mínimo: 20 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 5 días		-Inmunológico
<b>Cannabis</b>	-Orina: única micción cercana al momento de consumo (no antes de 1 hora) Vol. Mínimo: 50 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 14 días Freezer: 4-5 meses	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético.	-TLC normalizada -Inmunológico
<b>Cianuro</b>	-Sangre entera heparinizada en recipiente plástico con cierre hermetico sin cámara de aire Vol. mínimo: 10 ml Conservar y enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C	Remitir inmediatamente al laboratorio	-Microdifusión

DETERMINACIÓN	MUESTRA Recolección y transporte	ESTABILIDAD	OBSERVACIONES	MÉTODO
<b>Cobre</b>	-Orina: Vol. Mínimo: 100 ml -Sangre entera heparinizada en jeringa descartable sin aguja y tapón plástico. Vol. Mínimo: 4 ml -Suero o plasma heparinizado en tubo plástico tratado con ác nítrico al 50% y bien enjuagado y tapón plástico. Vol. mínimo: 2 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 15 días Freezer: indefinida	Recoger en recipiente de plástico tratado con ácido nítrico al 50% por lo menos durante 12 horas. El suero o plasma no deben estar hemolizados. Si se recibe sangre entera separar el plasma del paquete globular de inmediato	-Absorción Atómica: atomización por llama
<b>Cocaína</b>	-Orina: única micción cercana al momento de consumo (no antes de 1 hora) Vol. Mínimo: 20 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 13 días Freezer: 30 días	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético.	-Inmunológico (FPIA)
<b>Colinesterasa sérica</b>	-Suero o plasma heparinizado Vol. mínimo: 1 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 7 días	Es conveniente enviar la muestra inmediatamente al laboratorio	- Método cinético
<b>Colinesterasa eritocitaria</b>	-Sangre entera heparinizada en tubo plástico con cierre hermético. Vol. mínimo: 1 ml Enviar refrigerada 4 °C	Paquete globular inestable. En heladera los GR se lisan.	Remitir dentro de las hs de extraída	- Método cinético
<b>Cromo</b>	-Orina Vol. mínimo: 10 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C Indefinida Freezer: indefinida	Recoger en recipiente de plástico tratado con ácido nítrico al 50% por lo menos durante 12 horas previo a la recolección de la muestra.	-Absorción Atómica: atomización electrotérmica
<b>Digoxina</b>	-Suero o plasma heparinizado Vol. mínimo: 1 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 5 días		-Inmunológico
<b>Drogas de abuso</b> - Cocaína - Anfetaminas - Opiáceos - Marihuana - Barbitúricos - Benzodiacepinas	-Orina: única micción cercana al momento de consumo (no antes de 1 hora) Vol. Mínimo: 20 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 13 días Freezer: 30 días	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético.	-Inmunológico (FPIA)

DETERMINACIÓN	MUESTRA Recolección y transporte	ESTABILIDAD	OBSERVACIONES	MÉTODO
<b>Etanol</b>	-Sangre entera heparinizada (otros anticoagulantes FNa u oxalato) en recipiente plástico con cierre hermético sin cámara de aire. Vol. mínimo: 2 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C 5 días. Es conveniente enviar la muestra inmediatamente al laboratorio	Extraer la muestra desinfectando con cloruro mercurico al 0,5%, solución jabonosa, agua oxigenada, yodo povidona, etc. No usar alcohol	- Enzimático (ADH) - Microdifusión - Cromatografía gaseosa (GLC-FID)
<b>Ferremia</b>	-Sangre en tubo seco de plástico o vidrio tratado con ácido nítrico al 25 ó 50% y enjuagar con agua destilada. Enviar el tubo en posición vertical sin centrifugar tapado con Parafilm o tapón plástico. Sangre entera heparinizada en jeringa sin aguja y con tapón plástico. Vol. Mínimo: 4 ml			
<b>Fenoles</b>	-Orina Vol. mínimo: 150 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera: 4 °C Indefinida	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético. No se recomienda vidrio	- Colorimétrico - Cromatografía gaseosa (GLC-FID)
<b>Litio</b>	Suero o plasma heparinizado Volumen mínimo: 2 ml Enviar refrigerado (4°C)	Heladera a 4°C: 5 días		- Emisión atómica - Ión selectivo
<b>MARCHA DE PSICOFÁRMACOS</b> -Antidepresivos tricíclicos - Fenotiacinas - Butirofenonas - Dibenzodiacepinas - Anfetaminas - Opiáceos - Barbitúricos - Benzodiacepinas	Orina: única micción luego del ingreso del tóxico (no antes de 1 hora) Volumen mínimo: 150 ml Conservar y enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 5 días	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético.	- Inmunológico - TLC normalizada
<b>Mercurio</b>	-Orina Vol. mínimo: 150 ml Enviar refrigerada 4 °C	Heladera a 4°C: 10 días	Recipiente de plástico limpio con cierre hermético.	- Absorción atómica - Vapor frío
<b>Metahemoglobina</b>	-Sangre entera heparinizada en tubo plástico con cierre hermético Para co-oximetría sangre entera heparinizada en jeringa descartable sin aguja y con tapón plástico Volumen mínimo: 1 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C	Remitir al laboratorio dentro de las 2 horas de extraída	- Colorimétrico - Espectrofotométrico - Co-oxímetro

DETERMINACIÓN	MUESTRA Recolección y transporte	ESTABILIDAD	OBSERVACIONES	MÉTODO
<b>Metanol</b>	-Sangre entera (anticoagulante FNa o citrato), suero o plasma en tubo plástico con cierre hermético sin dejar cámara de aire. Volumen mínimo: 3 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 5 días Recomendación: Enviar la muestra inmediatamente al laboratorio	Extraer la muestra desinfectando con sol. Jabonosa, yodo povidona, etc. Sin contenido de alcohol. <b>No usar alcohol.</b>	- Colorimétrico (Williams) - Cromatografía gaseosa (GC-FID)
<b>Monóxido de carbono</b>	-Sangre entera heparinizada en tubo plástico con cierre hermético sin dejar cámara de aire. Para co-oximetría sangre entera heparinizada en jeringa descartable sin aguja y con tapón plástico Volumen mínimo: 3 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 3 días	Recomendación: Enviar la muestra inmediatamente al laboratorio	- Microdifusión - Espectrofotométrico - Co-oxímetro
<b>Paracetamol</b>	-Sangre entera heparinizada, suero o plasma. Volumen mínimo: 2 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 5 días	Método colorimétrico válido sólo para concs. tóxicas. En casos de una única ingesta tomar la muestra pasadas 4 horas.	-Colorimetría. Lui y Oka
<b>Plomo</b>	-Sangre entera heparinizada en jeringa descartable, sin aguja y con tapón plástico Volumen mínimo: 6 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 7 días Freezer: 1 mes		- Absorción atómica-atomización por llama
<b>Salicilato</b>	- Suero o plasma heparinizado Volumen mínimo: 2 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 7 días	En caso de ingesta única tomar la muestra pasadas las 6 horas. Registrar fecha y hora de la extracción	- Colorimétrico (Trinder) - Inmunológico
<b>Talio</b>	- Orina Volumen mínimo: 250 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 7 días Freezer: 1 mes	Recoger la orina en botella plástica limpia (se prefiere de agua mineral)	- Colorimétrico - Absorción atómica-atomización por llama
<b>Teofilina</b>	- Suero o plasma heparinizado Volumen mínimo: 1 ml Enviar refrigerada (4°C)	Heladera a 4°C: 5 días		- Inmunológico



## BIBLIOGRAFÍA

- Flanagan, R. J. (1995). "Basic Analytical Toxicology", International Programme on Chemical Safety, WHO-World Health Organization, Geneva.

### Capítulo 1. Consideraciones generales

- Baselt RC, Cravey RH. (1990) Disposition Of Toxic Drugs And Chemicals In Man. Chicago, Year Book Medical.
- Conway, Edward J. (1962) Microdifusion Analysis And Volumetric Error. Crosby Lockwood & Son LT. London.
- Duffus JH. (1993) Glossary For Chemists Of Terms Used In Toxicology. Pure and Applied Chemistry, 65: 2003-2122.
- Goodman y Gillman. (1997) Las Bases Farmacológica de la Terapéutica. IX Ed. Editorial. Mc-Graw Hill Interamericana
- International Union of Pure and Applied Chemistry- International Programme on Chemical Safety. (1992) Chemical safety matters. Cambridge, Cambridge University Press.
- Moffat AC, ed. Clarke's. (1986) Isolation And Identification Of Drugs, 2nd ed. London, Pharmaceutical Press.
- Stewart, C. P. and Stolman, A. (1960) Toxicology. Mechanisms And Analytical Methods. Academic Press, New York and London. Volumen I y II
- Sunshine, Irving. (1987) Methodology For Analytical Toxicology. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA. Volumen I, II y III.
- World Health Organization (1991). Basic Tests For Pharmaceutical Dosage Forms. Geneva
- World Health Organization (1986). Basic Tests For Pharmaceutical Substances. Geneva.

### Capítulo 2: Aspectos clínicos del análisis toxicológico

- Dreisbach RH, Robertson WO. (1987) Handbook Of Poisoning: Prevention, Diagnosis And Treatment. 12th ed. Norwalk, CT, Appleton Lange.
- True BL, Dreisbach RH (2003) Manual de Toxicología Clínica de Dreisbach: prevención, diagnóstico y tratamiento. 7a ed. Ed: Manual Moderno. México, D.F.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG. (1988) Medical Toxicology: Diagnosis And Treatment Of Human Poisoning. Amsterdam, Elsevier.
- Ellenhorn MJ (1997) Medical Toxicology: Diagnosis And Treatment Of Human Poisoning. 2nd ed. Ed: Williams & Wilkins. USA
- Goldfrank LR et al. (1990) Toxicologic Emergencies Goldfrank's. ed., 4th ed. Norwalk, CT, Appleton Lange.
- Haddad LM, Winchester JF. (1990) Clinical Management Of Poisoning And Drug Overdose. 2nd ed. Philadelphia, Saunders.
- Hayes WJ, Laws ER. (1991) Handbook of Pesticide Toxicology. Vols 1-3. San Diego, Academic Press.
- Luis Marruecos, Santiago Nogué, Joan Nolla. Toxicología Clínica (1993) Editorial Springer-Verlag Ibérica- España.
- Meredith TJ et al. (1993) Naloxone, Flumazenil And Dantrolene As Antidotes. Cambridge, Cambridge University Press. IPCS/CEC Evaluation of Antidotes Series, Vol. 1.
- Meredith TJ et al. (1993) Antidotes For Poisoning By Cyanide. Cambridge, Cambridge University Press. IPCS/CEC Evaluation of Antidotes Series, Vol. 2.
- Meredith TJ et al. (1994) Antidotes for Poisoning By Paracetamol. Cambridge, Cambridge University Press. IPCS/CEC Evaluation of Antidotes Series, Vol. 3.
- MSP (2002). Manual de Atención Primaria de las Intoxicaciones. Ministerio de Salud de La Nación. Argentina
- Proudfoot AT. (1993) Acute Poisoning Diagnosis And Management. 2nd ed. Oxford, Butterworth Heinemann.
- Repetto, Manuel. (1995) Toxicología Avanzada. Ediciones Diaz de Santos, S.A. Madrid-España



- Talamoni, M; Crapanzano, G.; López Sarmiento, C. (2004) Guía de diagnóstico y Tratamiento en Toxicología. EUDEBA. Buenos Aires

### **Capítulo 3: Laboratorio General en el análisis toxicológico**

- Walmsley RN, White GH. (1983) A Guide To Diagnostic Clinical Chemistry. London, Blackwell.
- Whitehead TP et al. (1994) Clinical Chemistry and Haematology: Adult Reference Values. London, BUPA.

### **Capítulo 4. Aspectos prácticos del análisis toxicológico**

- Anderson R. (1987) Sample Pretreatment and Separation. Chichester, Wiley, Analytical chemistry by open learning (ACOL) series.
- Conway, Edward J. (1962) Microdifusion Analysis And Volumetric Error. Crosby Lockwood & Son LT. London.
- Denney RC, Sinclair R. (1957) Visible and Ultraviolet Spectroscopy. Chichester, Wiley. Analytical chemistry by open learning (ACOL) series.
- DFG-TIAFT. (1992) Thin Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardised Systems, 2nd ed. Weinheim, VCH.
- Feldstein L, Klendshoj NC. (1957).The Determination of Volatile Substances by Microdifusion Analysis. Journal of forensic sciences, 1957, 2:39-58.
- Hamilton RJ, Hamilton S. (1987) Thin Layer Chromatography. Chichester, Wiley. Analytical chemistry by open learning (ACOL) series.
- Hawcroft D, Hector T. (1987) Clinical Specimens. Chichester, Wiley, Analytical chemistry by open learning (ACOL) series.
- Sewell P, Clarke B. (1987) Chromatographic Separations. Chichester, Wiley, Analytical chemistry by open learning (ACOL) series.
- Stead AH et al. (1982) Standardised Thin-Layer Chromatographic Systems for the Identification of Drugs and Poisons. Analyst, 107: 1106-1168.
- Stewart, C. P. and Stolman, A. (1960).Toxicology. Mechanisms and Analytical Methods. Academic Press, New York and London. Volumen I y II
- Sunshine, Irving. (1987) Methodology For Analytical Toxicology. CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida, USA. Volumen I, II y III.
- Woodget BW, Cooper D. (1987) Samples and standards. Chichester, Wiley. Analytical chemistry by open learning (ACOL) series.

### **Capítulo 5: Monografías –analítica y datos toxicológicos**

- ACGIH. TLVs and BEIs, 2001
- Budavari S, (1989) The Merck index, 11th ed. Rahway, NJ, Merck.
- Cátedra de Toxicología y Química Legal-UBA (2005) Guía de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Toxicología y Química Legal de la UBA.
- Ellman G.; Courtney, K.D.; Valentino, A; Featherstone, R. (1961) A new and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochem Pharmacol. 7: 88.
- Fiegel F, Anger V. (1966) Spot Tests in Organic Analysis, 7th ed. Amsterdam, Elsevier.
- Friberg GF et al. (1986) Handbook on the Toxicology of Metals, 2nd ed. Vol. I and II. Amsterdam, Elsevier.
- Hayes WJ, Laws ER, (1991). Handbook of Pesticide Toxicology, Vols 1-3. San Diego, Academic Press.
- Wallace Hayes A. (2001). Principles and Methods of Toxicology. 4<sup>th</sup> edición. Ed: Taylor & Francis. USA
- Lenga RE. (1988) The Sigma Aldrich library of chemical safety data, 2nd ed. Vols 1 and 2. Milwaukee, Sigma Aldrich.
- Reynolds JEF, (1993). Martindale. The Extra Pharmacopoeia, 30th ed. London, Pharmaceutical Press.
- Richardson ML, Gangolis S, (1992). The Dictionary of Substances and Their Effects. Cambridge, Royal Society of Chemistry.
- Schutz H. (1982) Benzodiazepines: A Handbook. Berlin, Springer Verlag.

- Schutz H. (1986) Dünnschicht-chromatographische Suchanalyse für 1,4-Benzodiazepine in Harn, Blut und Mageninhalt. [Thin-layer chromatographic screening analysis for 1,4-benzodiazepines in urine, blood and stomach contents.] Weinheim, VCH.
- Siegel, J.A.; Smith, F.P.(2005) Handbook of Forensic Drug Analysis. Elsevier Academic Press.
- Sullivan, J.; Krieger, G.(2001). Clinical Environmental Health and Toxic Exposures. 2<sup>a</sup>. Edición. Ed. Lippincott Williams and Wilkins.USA
- Royal Society of Chemistry (1991) The Agrochemicals Handbook, 3rd ed. Cambridge.
- Weast RC, (1989). Handbook of Chemistry and Physics, 70th ed. Boca Raton, CRC Press.
- Worthing CR, (1991). The Pesticide Manual, 9th ed. Thornton Heath, British Crop Protection Council.

**Sitios web:**

- <http://www.inchem.org>
- Vademécum. En: <http://www.prvademecum.com/>
- Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. (2004) En: <http://www.medicinescomplete.com/mc/clarke/current/chapters.htm>
- Curso Diagnóstico, Tratamiento. Plaguicidas. En: <http://www.cepis.ops-oms.org/tutorial2/e/index.html>