



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ESPECIALIDAD LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**TÍTULO:**

**"DETERMINACION DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRFÍA EN CAPA FINA QUE INGRESAN DE LAS DIFERENTES CASAS ASISTENCIALES DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO JUNIO- NOVIEMBRE DEL 2012 ”.**

Tesina de grado previo a la obtención del Título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico.

**TUTOR:**

**DR. WILSON EDWIN MONCAYO MOLINA**

**AUTOR:**

**GALO DANIEL FONSECA TAPIA**

**RIOBAMBA, ABRIL DEL 2013**

## **APROBACIÓN DEL ASESOR**

En mi calidad de asesor del Proyecto de Tesina sobre el tema **"DETERMINACION DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA QUE INGRESAN DE LAS DIFERENTES CASAS ASISTENCIALES DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO JUNIO- NOVIEMBRE DEL 2012 "**. Del señor egresado **GALO DANIEL FONSECA TAPIA** con CI 060358631-4, considero que dicho informe reúne los requisitos y méritos suficientes, para ser sometidos a la evaluación del tribunal examinador que le designe.

.....  
**DR. WILSON EDWIN MONCAYO MOLINA**  
**TUTOR**

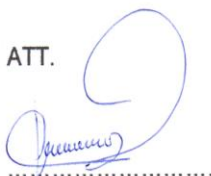
RIOBAMBA 8 DE NOVIEMBRE DEL 2013

Dr. Miguel Ángel Cardoso  
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PRESENTE.

CERTIFICACION

A petición de la parte interesada tenemos a bien informar que el señor egresado Galo Daniel Fonseca Tapia con cédula de ciudadanía No. 060358631-4 ha realizado las debidas correcciones en su tema de investigación cuyo tema es: **"DETERMINACION DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA QUE INGRESAN DE LAS DIFERENTES CASAS ASISTENCIALES DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO AL LABORATORIO FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERÍODO JUNIO-NOVIEMBRE DEL 2012 "**. por lo cual se encuentra apta para la defensa publica de la tesis.

ATT.



Lic. Cristian Silva

Preside



Lcda. Yisnella Cedeño

Miembro 1



Dr. Wilson Moncayo

Miembro 2



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ESPECIALIDAD LABORATORIO CLÍNICO E  
HISTOPATOLÓGICO**

**TEMA: " DETERMINACIÓN DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRFÍA EN CAPA FINA QUE INGRESAN DE LAS DIFERENTES CASAS ASISTENCIALES DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERIODO JUNIO - NOVIEMBRE DEL 2012".**

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

**APROBADO Y CALIFICADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

**Nota:**

<b>PRESIDENTE</b>	Lic. Cristian Silva	<b>FIRMA.....</b>
<b>MIEMBRO 1</b>	Lcda. Gisnella Cedeño	<b>FIRMA.....</b>
<b>MIEMBRO2</b>	Dr. Wilson Moncayo	<b>FIRMA.....</b>

### **Derechos De Autoría**

Yo Galo Daniel Fonseca Tapia soy responsable de las ideas, criterios, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo de investigación, los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.

## **Dedicatoria**

Esta investigación está dedicada a la memoria de mi madre Rosita, pilar fundamental en mi formación como ser humanos y como futuro profesional, y en especial a mi hermano Enrique Tapia que gracias a su apoyo incondicional he llegado a ser ayuda a la sociedad como persona y practicante de la ciencia.

Daniel.

## **Agradecimiento**

A mis padres, hermanos y tíos por la imprescindible ayuda y orientación, pero sobre todo por el excelente ejemplo profesional y personal.

Agradezco a todos los amigos que de una manera u otra han contribuido en el cumplimiento del reto profesional y personal de estudiar en la UNACH.

A todos los miembros del excelente equipo al que hemos tenido la oportunidad de pertenecer, por todo lo bueno que hemos compartido, gracias amigos: estudiantes, docentes y colegas.

## **INDICE GENERAL**

Aprobación del asesor	i
Certificación del Tribunal	ii
Aprobación y Calificación de los miembros del tribunal	iii
Derechos de autoría	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de cuadros	xi
Índice cuadros	xiv
Resumen	xvii
Abstract	xviii
Introducción	1

<b>CAPÍTULO I</b>	<b>4</b>
1. Problematización	4
1.1. Planteamiento del problema.	4
1.2. Formulación del problema	5
1.3. Objetivos	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	5
1.4. Justificación e importancia	6

<b>CAPÍTULO II</b>	<b>9</b>
2. Marco teórico	9
2.1. Posicionamiento personal	9
2.2. Fundamentación teórica	9
2.2.1. Laboratorio de química forense del Departamento de criminalística de la policía Judicial de chimborazo	9
2.2.1.1. Definición	10



2.2.2.	Toxicología	10
2.2.3.	Intoxicación	11
2.2.4.	Benzodicepinas	12
2.2.4.1.	Generalidades	12
2.2.4.2.	Características físicas y químicas	16
2.2.4.3.	Farmacología	17
2.2.4.4.	Aplicaciones actuales de benzodicepinas	17
2.2.4.5.	Efectos de las benzodicepinas	18
2.2.4.6.	Desarrollo de la tolerancia y de la dependencia,potencial para el abuso	18
2.2.4.7.	Disposición	19
2.2.4.7.1.	Rutas del metabolismo	19
2.2.4.8.	Toxicología	25
2.2.5.	Concentración de la sangre	26
2.2.6.	Plazos de la detección en orina	29
2.2.7.	Interpretación de resultados	30
2.2.7.1.	Orina	30
2.2.7.2.	Sangre, suero y plasma	30
2.2.8.	Interferencias	31
2.2.9.	Procedimientos de la extracción	31
2.2.9.1.	Extracción de dos líquidos	31
2.2.10.	Métodos confirmatorios	34
2.2.10.1.	Cromatografía de gas	34
2.2.10.2.	Técnica llena de la columna	35
2.2.10.3.	Métodos capilares de columna	38
2.2.11.	Cromatografía	43
2.2.11.1.	Cromatografía de capa fina	44
2.2.12.	Análisis cualitativo	47
2.2.13.	Análisis semicuantitativo	49
2.2.14.	Análisis cuantitativo	49
2.3.	Control de calidad	50

2.4.	Cadena de custodia	<b>50</b>
2.4.1.	Cadena de custodia procedimiento	<b>51</b>
2.5.	Normas de bioseguridad	<b>52</b>
2.5.1.	Principios de la bioseguridad	<b>52</b>
2.5.2.	Normas de bioseguridad universales	<b>54</b>
2.6.	Procedimiento	<b>58</b>
2.6.1.	Protocolo para la toma de muestra de orina	<b>58</b>
2.6.2.	Rotulación	<b>60</b>
2.6.3.	Cadena de custodia	<b>60</b>
2.6.4.	Recepción de muestras en el laboratorio	<b>61</b>
2.6.5.	Preparación de los estándares, reactivos y reveladores	<b>62</b>
2.6.6.	Preparación del revelador	<b>64</b>
2.6.7.	Extracción	<b>66</b>
2.6.7.1.	Extracción líquido – líquido	<b>66</b>
2.6.8.	Identificación	<b>69</b>
2.6.8.1.	Método de cromatografía de capa fina	<b>69</b>
2.6.8.1.1.	Preparación de los capilares	<b>69</b>
2.6.8.1.2.	Preparación de la placa sílica gel	<b>70</b>
2.6.8.1.3.	Preparación del sistema de solventes	<b>70</b>
2.6.8.1.4.	Desarrollo de la cromatografía	<b>72</b>
2.6.9.	Revelado	<b>74</b>
2.6.9.1.	Revelador físico	<b>74</b>
2.6.9.2.	Revelador químico	<b>74</b>
2.7.	Resultados	<b>76</b>
2.7.1.	Cálculo para la identificación de las muestras investigadas mediante el factor de retención	<b>76</b>
2.8.	Definición de términos básicos	<b>76</b>
2.9.	Hipótesis	<b>79</b>
2.10.	Variables	<b>79</b>
2.10.1.	Variable independiente	<b>79</b>
2.10.2.	Variable dependiente	<b>79</b>

2.11.	Operacionalizacion de las variables	80
<b>CAPÍTULO III</b>		<b>82</b>
3.	Marco metodológico	82
3.1.	Método científico	82
3.2.	Tipo de investigación	82
3.3.	Diseño de investigación	83
3.4.	Tipo de estudio	83
3.4.1.	Población y muestra	83
3.4.1.1.	Población	83
3.4.1.2.	Muestra	83
3.5.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	84
3.6.	Técnicas para el análisis e interpretación de los resultados.	84
<b>CAPITULO IV</b>		<b>86</b>
4.	Interpretacion de resultados	86
<b>CAPÍTULO V</b>		<b>101</b>
5.	Conclusiones y recomendaciones	101
5.1.	Conclusiones	101
5.2.	Recomendaciones	102
<b>CAPITULO VI</b>		<b>104</b>
6.	Bibliografía	104
6.1.	Lincografia	110
	Anexos	111

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 2. 1	
Benzodicepinas bajo control internacional	13
CUADRO N° 2. 2	
Terapéuticos y concentraciones tóxicas del plasma para las benzodicepinas y sus metabolitos.	27
CUADRO N° 2. 3	
Tiempos de retención relativos para benzodicepinas por la columna capilar de cromatografía gaseosa.	39
CUADRO N° 2. 4	
Datos Espectrales Totales (Ei+) Para Las Benzodicepinas	42
CUADRO N° 2. 5	
Niveles de Bioseguridad	54
CUADRO N° 2. 6	
Operacionalizacion De Las Variables	80
Cuadro N ° 4. 1	
Datos estadísticos de las muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de chimborazo durante el periodo de junio -noviembre del 2012.	86
CUADRO N ° 4. 2	
Datos estadísticos positivos y negativos de compuestos benzodicepínicos en muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense en el mes de junio- 2012	87
CUADRO N ° 4. 3	
atos estadísticospositivos y negativos de compuestos benzodicepínicos en muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense el mes de julio del 2012	88
CUADRO N ° 4. 4	
Datos estadísticos positivos y negativos de compuestos	

benzodiazepínicos en muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense en el mes de agosto 2012	89
CUADRO N ° 4. 5	
Datos estadísticos positivos y negativos de compuestos benzodiazepínicos en muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense en el mes de septiembre del 2012	90
CUADRO N ° 4. 6	
Datos estadísticos positivos y negativos de puestas benzodiazepínicos en muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense en el mes de octubre del 2012	91
CUADRO N ° 4. 7	
Datos estadísticos positivos y negativos de compuestos benzodiazepínicos en muestras de orina que ingresaron al laboratorio de química forense en el mes de noviembre del 2012	92
CUADRO N ° 4. 8	
Datos estadísticos de las muestras de orina, positivo y negativo que ingresaron al laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de chimborazo en el periodo de junio- noviembre del 2012	93
CUADRO N ° 4. 9	
Datos estadísticos de las muestras de orina que pertenecen a personas de sexo masculino y femenino que ingresaron al laboratorio de química forense en el periodo de junio-noviembre del 2012.	94
CUADRO N ° 4. 10	
Datos estadísticos de los factores de retención de los estándares que se utilizaron para la determinación de benzodiazepinas en muestras de orina	95

CUADRO N ° 4. 11	
Datos estadísticos de los factores de retención (rf) de las muestras que resultaron positivas para la determinación de benzodiazepinas (metabolito oxazepam) en muestras de orina.	96
CUADRO N ° 4. 12	
Datos estadísticos de los factores de retención de las muestras que resultaron positivas para la Determinación de benzodiazepinas en muestras de orina	98
CUADRO N° 4. 13	
Comprobacion de hipotesis	99

## ÍNDICE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 2. 1	
Policía nacional criminalística	9
GRÁFICO N° 2. 2	
Pictograma tóxico altamente letal	11
Gráfico N° 2. 3	
Psicofarmacos controlados	12
GRÁFICO N° 2. 4	
Rutas de metabolismo de las benzodiazepinas	19
GRÁFICO N° 2. 5	
Rutas generales del metabolismo para 1.4 benzodiazepinas metabolizadas a través de nordazepam y de oxazepam	21
GRÁFICO N° 2. 6	
Rutas generales del metabolismo para triazolo y midazobenzodiazepinas	22
GRÁFICO N° 2. 7	
Rutas generales del metabolismo para nitro – benzodiazepinas	23
GRÁFICO N° 2. 8	
Rutas generales del metabolismo para otras benzodiazepinas. Parte I	24
GRÁFICO N° 2. 9	
Rutas generales del metabolismo para otras benzodiazepinas. Parte II	25
GRÁFICO N° 2. 10	
Concentración en sangre	26
GRÁFICO N° 2. 11	
Extracción líquido – líquido	32
GRÁFICO N° 2. 12	
Cromatograma de gas	41
GRÁFICO N° 2. 13	
Cromatografía. Sistema analítico	44

GRÁFICO N° 2. 14	
Placa de silica gel	48
GRÁFICO N° 2. 15	
Cadena de custodia (medicina legal)	51
GRÁFICO N° 2. 16	
Toma de muestra de orina de las diferentes casas de salud de la ciudad de riobamba	59
GRÁFICO N° 2. 17	
Información de la muestra	60
GRÁFICO N° 2. 18	
Recolección de las muestras en el	61
GRÁFICO N° 2. 19	
Estándares	63
GRÁFICO N° 2. 20	
Elaboración de estándares	63
GRÁFICO N° 2. 21	
Elaboración del revelador	64
GRÁFICO N° 2. 22	
Extracción del metabolito de las	66
GRÁFICO N° 2. 23	
Reducción de los capilares	69
GRÁFICO N° 2. 24	
Elaboración de la placa	70
GRÁFICO N° 2. 25	
Elaboración del sistema de solventes	71
GRÁFICO N° 2. 26	
Aplicación de las muestras y estándares	72



GRÁFICO N° 2. 27	
Desarrollo cromatográfico	73
GRÁFICO N° 2. 28	
Revelado físico	74
GRÁFICO N° 2. 29	
Revelado químico	75

## RESUMEN

En las instalaciones del laboratorio de Química Forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo se ha realizado este trabajo de tesina, cuyo tema a desarrollar es; "DETERMINACIÓN DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRFÍA EN CAPA FINA QUE INGRESAN DE LAS DIFERENTES CASAS ASISTENCIALES DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERIODO JUNIO - SEPTIEMBRE DEL 2012 ". Como un medio o instrumento en beneficio y ayuda dirigido al servicio de los bioanalistas clínicos y pacientes en general. Que realizan las pruebas como ayuda en el diagnostico médico. Serán beneficiarios todos aquellos pacientes que son atendidos en esta unidad de Salud, para lo cual se ha realizado una investigación completa, exhaustiva y experimental que nos permite afirmar sobre la utilización de los diversos métodos de separación de metabolitos y confirmación de dichos tóxicos presentes en las muestras analizadas que se realizan en dicho laboratorio. Esta investigación se estudió en un periodo de 6 meses, que va desde Junio a Septiembre del año 2012. Para esta investigación se trabajó con diversos métodos los cuales son las más utilizados para la determinación de la presencia de metabolitos en las muestras de orina. Para garantizar la efectividad del estudio se ha seguido correctamente un protocolo, así como las respectivas normas de bioseguridad y control de calidad que nos permitan asegurar en lo personal y en lo científico que se ha investigado el análisis planteado.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
**CENTRO DE IDIOMAS**

---

**ABSTRACT**

On the Forensic Chemistry laboratory facilities of the Chimborazo judicial police criminology department this thesis has been done. "DETERMINE BENZODIAZEPINES IN URINE SAMPLES, BY THE METHOD OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY THAT GET IN FROM DIFFERENT HEALTHCARE INSTITUTIONS IN THE CHIMBORAZO PROVINCE ON THE FORENSIC CHEMISTRY LABORATORY FACILITIES OF THE CHIMBORAZO JUDICIAL POLICE CRIMINOLOGY DEPARTMENT DURING THE PERIOD JUNE - SEPTEMBER 2012 ". As a means or an instrument for the benefit and help directly to the clinical bioanalysts service and patients in general, these tests are done to help the medical diagnosis, all patients who are treated in this Health unit will benefit, for which a full, exhaustive and experimental investigation was done, and it allows us to state the use of various metabolites separation methods and the confirmation of the presence of such toxics in the samples that were analyzed in the laboratory. This research was studied in a 6-month period, and run from June to September of 2012. Many methods were used in this investigation and they are the most used to determine the presence of metabolites in the urine samples. To ensure the effectiveness of the study, a correct protocol was followed as well as the appropriate biosafety standards and quality control that allow us to ensure, personally and scientifically that the proposed analysis had been investigated.

**Reviewed by:**

Lic. Elizabeth Diaz

**ENGLISH PROFESSOR AT THE LANGUAGE CENTER**



Riobamba November 7<sup>th</sup>, 2013

## **INTRODUCCIÓN**

La presente investigación se pretende realizar en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, con la finalidad de conocer el índice de intoxicaciones por causa de los compuestos benzodiazepínicos en muestras de orina de pacientes que han sido tratados en las diferentes Casas Asistenciales de Salud, mediante el empleo de métodos técnico científicos como es la purificación o separación del tóxico por extracción y su determinación a través la cromatografía en capa fina, ya que existe un sinnúmero de casos a causa de este tipo de tóxicos utilizados ya sea con fines para el tratamiento de los desórdenes de la ansiedad y el insomnio, debido a esto las benzodiazepinas son una de las clases de medicamentos más prescritos en el mundo, aunque la mayoría de los pacientes reciben los mismos por períodos cortos de tiempo (menos de tres meses) hay un porcentaje importante entre el 1 y 3% de la población mundial utiliza estos fármacos por períodos prolongados.

El uso prolongado de las benzodiazepinas causa preocupación debido a la poca evidencia existente de eficacia prolongada, los trastornos de memoria y el riesgo de accidentes que se asocian a su uso y el posible abuso y dependencia que pueden causar. El uso crónico de las benzodiazepinas ha llevado a causar la impresión de que estas sustancias tienen un alto potencial de abuso, cuando en realidad la incidencia de abuso es pequeña en comparación a sus legítimos usos médicos.

Las benzodiazepinas producen una serie de efectos farmacológicos activando receptores muy específicos en el cerebro, receptores que forman parte del principal sistema receptor / neurotransmisor que es inhibidor en el sistema nervioso central, el ácido aminobutírico (GABA).

Por todo lo expuesto anteriormente, además es de suma importancia el trabajo de investigación, debido a que existen personas que se dedican al mal uso de estos fármacos, ya sea por el parcial o total desconocimiento de su uso que conlleva a las intoxicaciones comunes en el medio, como también con fines delictivos en violaciones, robos, asaltos, y fines suicidas u homicidas.

# **CAPÍTULO I**

# **PROBLEMATIZACIÓN**

## CAPÍTULO I

### 1. PROBLEMATIZACIÓN

#### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Uno de los motivos que nos ha llevado a la realización de esta investigación es por la experiencia que se ha obtenido durante nuestras prácticas hospitalarias en los diferentes hospitales del país y de la provincia, mediante la presente investigación se pretende dar a conocer tanto al paciente como al profesional la presencia o ausencia de benzodiazepinas en el organismo.

Otra problemática que se presenta comúnmente en nuestro medio es el mal manejo de estas sustancias por no tener conocimiento alguno para la utilización adecuada, dando lugar a las intoxicaciones accidentales y posteriormente la muerte a causa de los mismos, cabe indicar que también son utilizados no solo en el tratamiento de las personas que presentan algún tipo de enfermedad a nivel del sistema nervioso central, sino con la finalidad de ocasionar daños al ser vivo ya sea en robos, violaciones, homicidios, debido a que son sustancias que son utilizadas como hipnóticos, sedantes o tranquilizantes. Cabe indicar que existe gran cantidad de personas que han utilizado estas sustancias para auto-eliminarse (suicidios), ya sea por causa de problemas de índole económico, sentimental, social u otros, siendo cada una de ellas razones para realizar esta investigación.

Siendo el **laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía judicial de Chimborazo** el lugar donde se realiza dicha prueba, es de suma importancia hacer hincapié en la correcta utilización de la técnica de cromatografía de capa fina en tal razón la formulación del problema es de la siguiente manera:

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

Determinar la presencia de benzodiazepinas en muestras de orina, mediante el método de cromatografía en capa fina que ingresan de las diferentes casas Asistenciales de Salud de la Provincia de Chimborazo al laboratorio de química forense del departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo durante el periodo Junio- Septiembre del 2012

## **1.3. OBJETIVOS**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinarla presencia de benzodiazepinas en muestras de orina, mediante el método de cromatografía en capa fina, que ingresan de las diferentes Casas Asistenciales de Salud de la provincia de Chimborazo al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo.

### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Revisar documentación bibliográfica e información tecnológica y electrónica relacionada con la toxico-cinética, absorción, distribución, metabolismo y excreción o eliminación de los compuestos benzodiazepínicos.
- Realizar la purificación de los compuestos benzodiazepínicos en muestra de orina mediante el método de extracción líquido – líquido, con el propósito de separar de la muestra el tóxico y obtener su máxima



pureza, para realizar el análisis cualitativo sin la presencia de sustancias inadecuadas que interfieran en el proceso.

- Determinar la presencia o ausencia de benzodiazepinas a partir de muestras de orina purificadas, por medio del método de cromatografía de capa fina, a través de sus respectivos factores de retención.
- Tabular los datos estadísticos obtenidos en el tiempo de prueba en la determinación de compuestos benzodiazepínicos en muestra de orina que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo.

#### **1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

Las benzodiazepinas son medicamentos psicotrópicos que actúan sobre el Sistema Nervioso Central, aunque estas sustancias en clínica ejercen efectos cualitativamente semejantes, las diferencias cuantitativas importantes en sus espectros farmacodinámicos y sus propiedades farmacocinéticas han dado por resultado diversos patrones de aplicación terapéutica, como efectos sedantes e hipnóticos, ansiolíticos, anticonvulsivos, amnésicos y miorelajantes. Son usados en medicina para la terapia de la ansiedad, insomnio y otros estados afectivos, así como las epilepsias, abstinencia alcohólica y espasmos musculares.

Se usan y abusan recreacionalmente en la activación de las vías de gratificación dopaminérgicas del Sistema Nervioso Central y las cuales desarrollan un alto grado de tolerancia, así como subidas de las dosis en niveles muy elevados. El uso de largos periodos de tiempo tiene el potencial de crear dependencia física y psicológica y añade un riesgo de serios síntomas de abstinencia, la tolerancia y la dependencia se crea con rapidez entre los usuarios de estos medicamentos, demostrando síntomas

de abstinencia de las benzodiazepinas en tan solo 3 semanas de uso continuo.

Esta investigación se lleva a cabo por el alto índice de mortalidad que se presenta debido a este tóxico, ya sea por su mal manejo, manipulación o por la falta de información acerca del uso o abuso de este tipo de sustancias independientemente del caso en el cuál se utiliza. Además se ha realizado las indagaciones correspondientes para comprobar que no existen investigaciones de este tipo a nivel de la Universidad Nacional de Chimborazo, ni publicaciones en alguna Institución a nivel Provincial o Nacional, al igual que en el lugar donde se va a participar con la investigación, dejando así un alto prestigio a la Institución y así brindar un mejor servicio a la sociedad y comunidad en general.

# **CAPÍTULO II**

# **MARCO TEÓRICO**

## **CAPÍTULO II**

### **2. MARCO TEÓRICO**

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

Se ha realizado las indagaciones correspondientes para comprobar que no existen investigaciones de este tipo a nivel de la UNACH, ni publicaciones en alguna institución, al igual que en el lugar donde se va a participar con la investigación, así que es de gran relevancia servir a la comunidad con el presente trabajo.

Con conocimiento de los grandes y múltiples problemas que acarrea un producto de deficiente calidad al momento de realizar nuestro trabajo como personal de laboratorio ha propuesto plantear la presente investigación para poder dar una solución a la problemática de la misma.

#### **2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

##### **2.2.1. LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO**

###### **GRÁFICO 2.1**

###### **1 POLICÍA NACIONAL CRIMINALÍSTICA**



**FUENTE: FOTOGRAFIA:** DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO  
**ELABORADO:** Fonseca Daniel

### **2.2.1.1. DEFINICIÓN**

**LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO.** - Es una Institución Pública que presta sus servicios en el campo de la Salud a través de análisis periciales toxicológicos, sustancias psicotrópicas y estupefacientes, biológicos, insumos químicos y otros, destinado a la ciudadanía a nivel Distrital, atendiendo sus necesidades buscando mejorar el estilo de vida de los pacientes y el esclarecimiento de casos investigación legal, como también fomentar el desarrollo de los futuros profesionales que allí se forman.

### **2.2.2. TOXICOLOGÍA**

La toxicología es una ciencia que identifica, estudia y describe, la dosis, la naturaleza, la incidencia, la severidad, la reversibilidad y, generalmente, los mecanismos de los efectos tóxicos que producen los xenobióticos. La toxicología también estudia los efectos nocivos de los agentes químicos, biológicos y de los agentes físicos en los sistemas biológicos y que establece, además, la magnitud del daño en función de la exposición de los organismos vivos a previos agentes, buscando a su vez identificar, prevenir y tratar las patologías derivadas de dichos efectos.

Actualmente la toxicología también estudia, el mecanismo de los componentes endógenos, como los radicales libres de oxígeno y otros intermediarios reactivos, generados por xenobióticos y endobióticos. En el último siglo la toxicología se ha expandido, asimilando conocimientos de varias ramas como la biología, la química, la física y las matemáticas.

Las vías de ingreso al organismo de estas sustancias xenobióticas son:

*Respiratoria:* Es la más común y la mayor, los contaminantes llegan rápidamente al organismo a través de los pulmones y luego al resto del cuerpo por medio del torrente sanguíneo. Debemos tener presente que no solo una sustancia en estado gaseoso puede ser inhalada, también pueden ser líquidos (aerosoles) y sólidos (polvo en suspensión), para evitar el ingreso de este agente al organismo se deben utilizar protectores respiratorios con un filtro adecuado al agente contaminante.

*Digestiva:* Podemos ser afectados no solo por ingerir directamente el producto sino por otros elementos contaminados los cuales llevamos a la boca y nariz.

*Cutánea:* Se produce en el momento que ingresan los contaminantes por los poros y estos a su vez llegan al torrente sanguíneo. Los efectos no necesariamente se presentarán de forma inmediata (Estado de Latencia), se debe tener especial cuidado cuando se produce una lesión con algún elemento contaminado ya que de esta forma el agente tiene acceso directo a nuestro organismo, la piel deja de ser nuestra capa protectora.

### 2.2.3. INTOXICACIÓN

#### GRÁFICO 2.2.

Gráfico N° 2. 2 PICTOGRAMA TÓXICO ALTAMENTE LETAL



FUENTE. [www.texca.com/simbolos.htm](http://www.texca.com/simbolos.htm)

Una **intoxicación** se produce por exposición, ingestión, inyección o inhalación de una sustancia tóxica. Las intoxicaciones accidentales o voluntarias debidas al consumo de medicamentos son las más frecuentes. Otros tóxicos son: productos industriales, domésticos, de jardinería, drogas, monóxido de carbono y alcohol en un uso excesivo. La gravedad de la intoxicación depende de la toxicidad del producto, del modo de introducción, de la dosis ingerida y de la edad de la víctima.

#### 2.2.4. BENZODIACEPINAS

##### GRÁFICO 2.3.

Gráfico N° 2.3 PSICOFARMACOS CONTROLADOS



FUENTE: [es.wikipedia.org/wiki/Psicofarmacología](https://es.wikipedia.org/wiki/Psicofarmacología).

##### 2.2.4.1. GENERALIDADES:

Las **benzodiazepinas** son medicamentos psicotrópicos que actúan sobre el sistema nervioso central, con efectos sedantes, hipnóticos, ansiolíticos, anticonvulsivos, amnésicos y miorrelajantes (relajantes musculares). Por ello se usan las benzodiazepinas en medicina para la terapia de la ansiedad, insomnio y otros estados afectivos, así como las epilepsias, abstinencia alcohólica y espasmos musculares. Los individuos que abusan de drogas estimulantes con frecuencia se administran benzodiazepinas para *calmar* su estado anímico. A menudo se usan

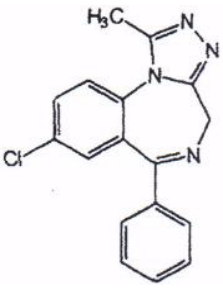
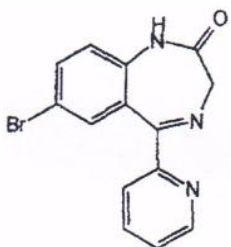
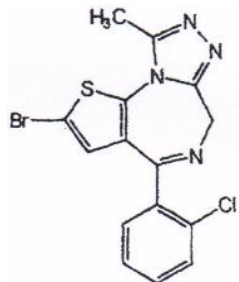
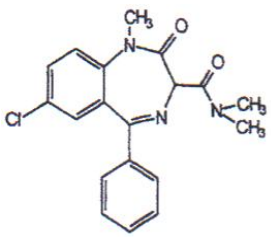
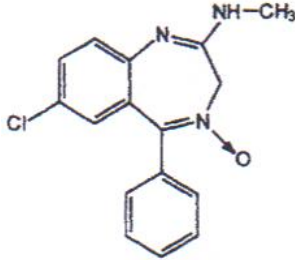
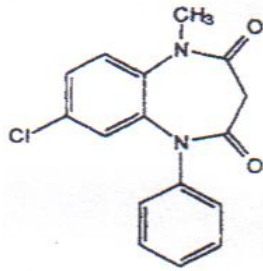
benzodiazepinas para tratar los estados de pánico causados en las intoxicaciones por alucinógenos.

Más de cincuenta de éstos se ponen actualmente para el uso clínico en el mundo entero.

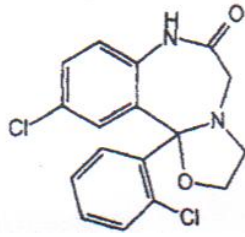
Aparecen principalmente como cápsulas y tabletas, no obstante algunos se ponen en otras formas farmacéuticas tales como soluciones inyectables. (Benzodiazepinas (en línea) disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/intoxicaci%c3%b3n>)

**Tabla 2.1**

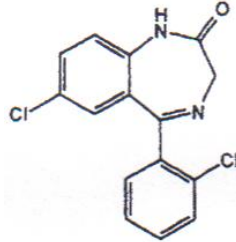
**Cuadro N° 2.1 Benzodiazepinas bajo control internacional**

 <p>Alprazolam C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub></p>	 <p>Bromazepam C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>BrN<sub>3</sub>O</p>	 <p>Brotizolam C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>BrClN<sub>4</sub>S</p>
 <p>Camazepam C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O</p>	 <p>Chlordiazepoxide C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O</p>	 <p>Clobazam C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub></p>

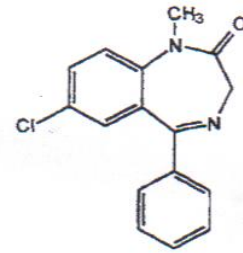




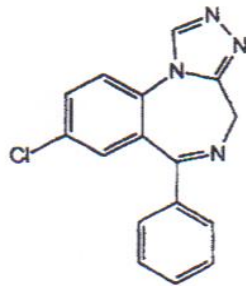
Cloxazolam  
 $C_{17}H_{14}Cl_2N_2O_2$



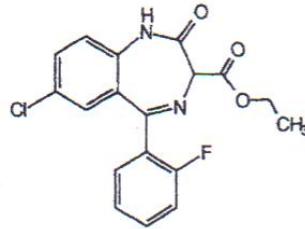
Delorazepam  
 $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O$



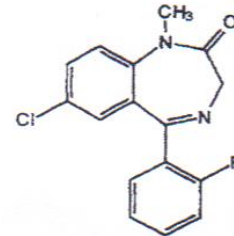
Diazepam  
 $C_{16}H_{13}ClN_3O$



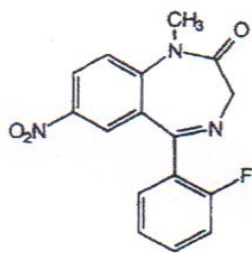
Estazolam  
 $C_{16}H_{11}ClN_4$



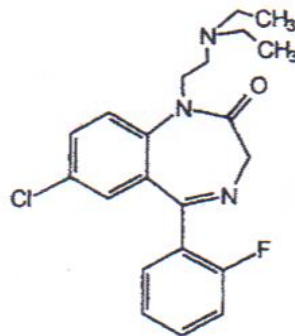
Ethyl loflazepate  
 $C_{18}H_{14}ClFN_2O_3$



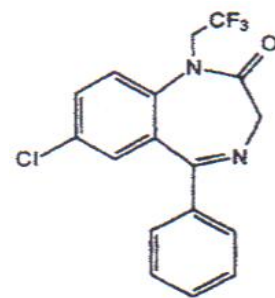
Fludiazepam  
 $C_{16}H_{12}ClFN_2O$



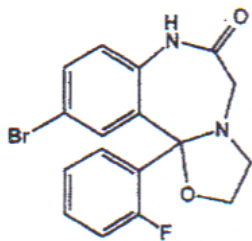
Flunflazepam  
 $C_{16}H_{12}FN_3O_3$



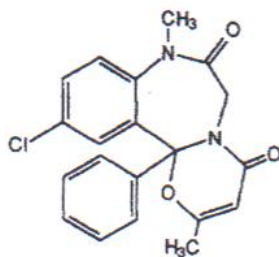
Flurazepam  
 $C_{21}H_{23}ClFN_3O$



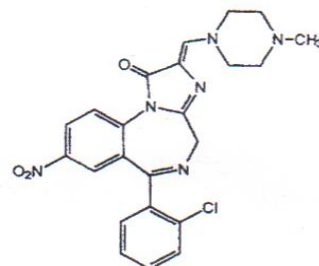
Halazepam  
 $C_{17}H_{12}ClF_3N_2O$



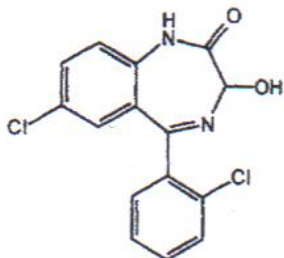
Haloxazolam  
 $C_{17}H_{14}BrFN_2O_3$



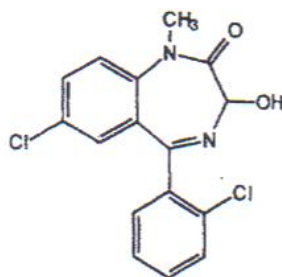
Ketazolam  
 $C_{20}H_{17}ClN_2O_3$



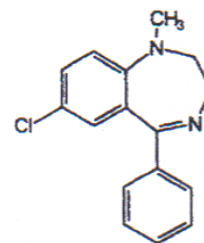
Loprazolam  
 $C_{23}H_{21}ClN_6O_3$



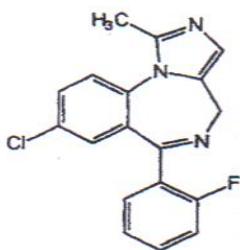
Lorazepam  
 $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$



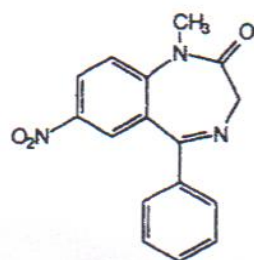
Lormetazepam  
 $C_{16}H_{12}Cl_2N_2O_2$



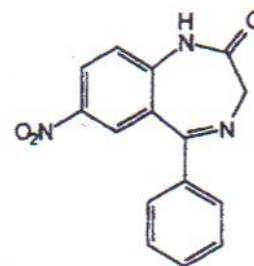
Madazepam  
 $C_{13}H_{15}ClN_2$



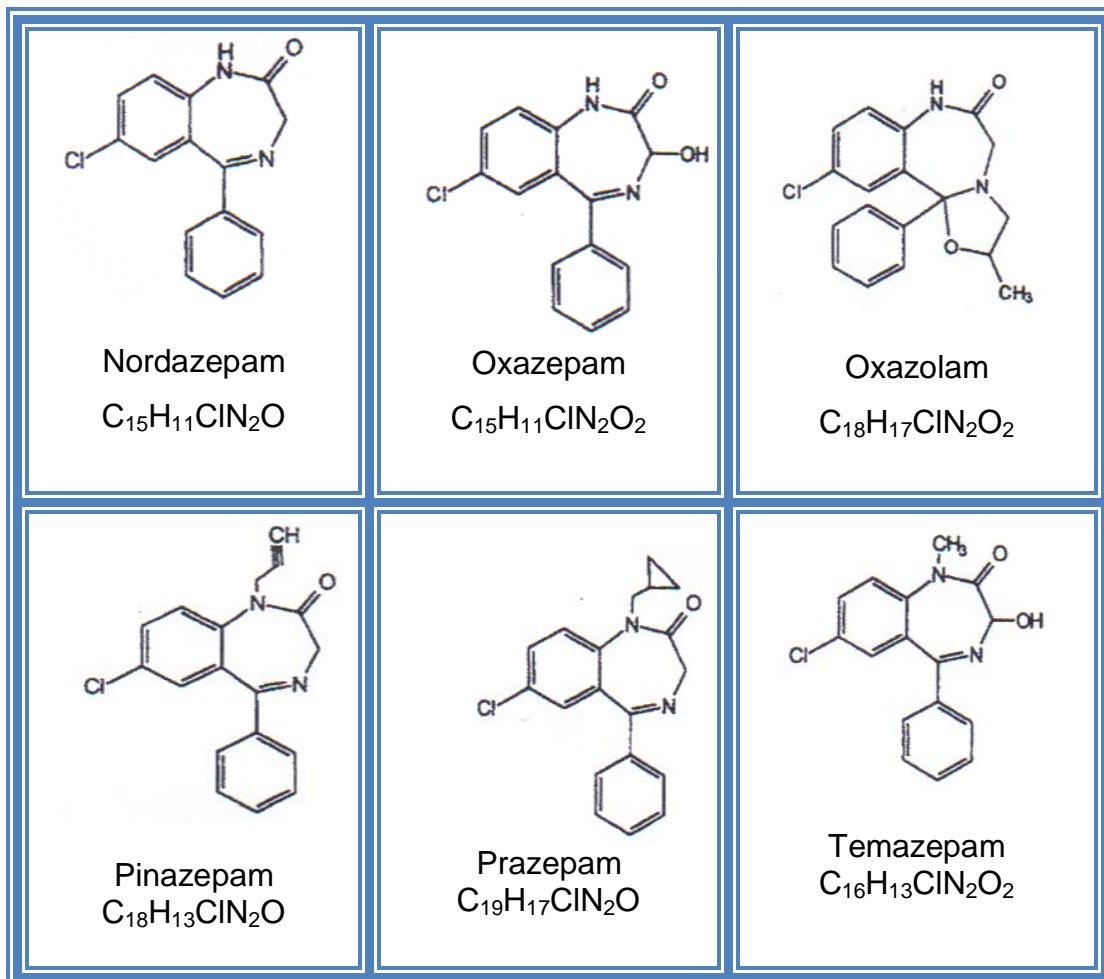
Mídazolam  
 $C_{18}H_{13}ClFN_3$



Nimetazepam  
 $C_{16}H_{13}ClN_3O_3$



Nitrazepam  
 $C_{15}H_{11}N_3O_3$



FUENTE: MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES. NEW YORK, 1997

#### 2.2.4.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

Las benzodiazepinas clásicas se basan en una estructura de 5 benzodiazepinas del arilo 1.4 en la cual el anillo de benceno esté ruidido al enlace 6 - 7 del diazepine 1.4. El sustituto aril en el halophenyl 5 es generalmente fenilo (e.g. oxazepam o medazepam) o 2 de las posiciones (e.g. el fluorophenyl 2 cloro fenilo para el lorazepam o 2 para el flurazepam). Las benzodiazepinas introducidas incluyen cuanto más recientemente variaciones tales como un anillo del imidazol (1, el diazole 3) fundido al enlace 1 - 2 del 1, 4 el diazepine, es decir las benzodiazepinas del imidazo, e.g. midazolam o lopraxolam. Similar pero

diferentes son distintamente los triazolobenzodiazepines que tienen un 1,2, anillo de 4 triazoles en vez del imidazol. Los ejemplos de estos compuestos son alprazolam, estazolam y triazolam. Otras modificaciones estructurales incluyen el annelation de anillos heterocíclicos en los 4 – 5 en enlace (e.g. haloxazolam, ketazolam y oxazolam) o el reemplazo del anillo de benceno por un anillo del thienyl (clotiazepam). Muchas benzodiazepinas hidrolizarán en soluciones acidas para formar la benzofenona correspondiente que se puede capitalizar encendido para los propósitos analíticos. En la forma acida baja libre, las benzodiazepinas son generalmente solubles en la mayoría de los solventes orgánicos tales como éter de etilo, acetato de etilo, cloroformo y metanol, pero la mayoría son insolubles en agua. (MANUAL NACIONES UNIDAS. New York, 1997)

#### **2.2.4.3. FARMACOLOGÍA**

El renombre de continuación de las benzodiazepinas es debido principalmente a su índice terapéutico amplio, reacciones adversas serias mínimas y a la ausencia de efectos secundarios nerviosos autonómicos indeseables, especialmente en comparación con los agentes psicotrópicos usados antes, por ejemplo, el meprobamate o los barbitúricos.

#### **2.2.4.4. APLICACIONES ACTUALES DE BENZODIAZEPINAS**

Las aplicaciones actuales incluyen:

- Como las personas hipnotizadas y sedativos - e.g. triazolam, flunitrazepam, oxazepam;
- Como los ansiolíticos y tranquilizantes de menor importancia - e.g. diazepam, temazepam, alprazolam;
- Como antidepresivos - e.g. alprazolam;

- Como relajantes de músculo - e.g. diazepam y tetrazepam;
- Como anticonvulsivos - e.g. diazepam, clobazam y clonazepam;
- Como anestésicos intravenosos - e.g. midazolam.

#### **2.2.4.5. EFECTOS DE LAS BENZODIACEPINAS**

Todos los derivados de la benzodiacepina en uso clínico poseen características del relajante del ansiolítico, del sedativo, de la persona hipnotizada, el tranquilizing, del anticonvulsivo y de músculo dentro de sus espectros farmacodinámicos. El predominio de estas características, sin embargo, varía perceptiblemente entre los compuestos. Por lo tanto, las drogas individuales se seleccionan para el uso adentro Terapia en base de su potencia relativa en cada uno de estas categorías así como de las necesidades del paciente.

La acción de benzodiacepinas se basa en atar a los receptores específicos de la benzodiacepina situados principalmente en el sistema límbico mediado por  $\gamma$  - ácido aminobutírico (GABA) y un cíclico y plantas en ng/ml bajo) de las concentraciones, que pueden acumular en temas con la debilitación hepática (ejm. encefalopatía hepática).

(BENZODIACEPINAS:[http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/temas\\_farma/volumen5/2\\_benzodiaz.pdf](http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/temas_farma/volumen5/2_benzodiaz.pdf))

#### **2.2.4.6. DESARROLLO DE LA TOLERANCIA Y DE LA DEPENDENCIA, POTENCIAL PARA EL ABUSO**

Las benzodiacepinas se abusan con frecuencia. La tolerancia puede convertirse con el uso repetido que lleva a una progresión a dosis más altas. En estas dosis de las situaciones usadas pueden estar muchas veces ésos recomendados para el uso terapéutico. Por lo tanto, las concentraciones de la sangre pueden exceder ésos considerados normalmente en literatura terapéutica de la supervisión de la droga.

Aunque el metabolismo no se sepa para ser inducido por el uso de largo plazo de benzodiazepinas, dependencia física de las benzodiazepinas. Puede llevar a los síntomas de retiro incluyendo hiperactividad, ansiedad, delirio, alucinaciones, asimiento y contracciones nerviosas musculares. Las benzodiazepinas más largas del período causan a menudo síntomas de retiro más pronunciados en la discontinuación del uso, que puede desarrollar varios días tales como narcótico o alcohol. Esto afectará inevitable a la severidad de la toxicidad.

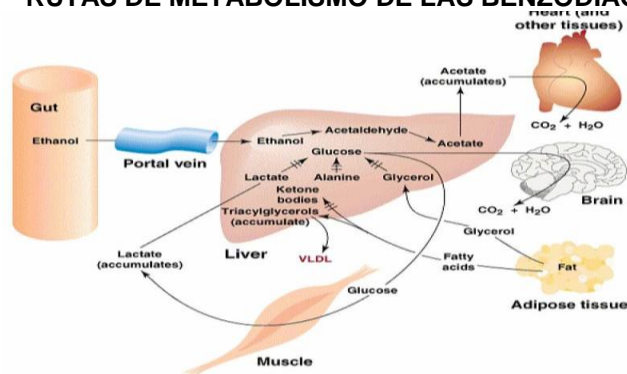
El uso concomitante de benzodiazepinas y del alcohol tan bien como el uso de dosis elevadas de benzodiazepinas puede producir cambios del comportamiento marcados, incluyendo la agresión, la disociación y la desinhibición. Los efectos de la resaca de benzodiazepinas, similares a éstos experimentados después de uso del alcohol son comunes. La amnesia Anterograda es también uso posterior común de altas dosis y después de la administración intravenosa. ((MANUAL NACIONES UNIDAS. New York, 1997))

## 2.2.4.7. DISPOSICIÓN

### 2.2.4.7.1. RUTAS DEL METABOLISMO

**GRÁFICO 2.4.**

**Gráfico N° 2.4 RUTAS DE METABOLISMO DE LAS BENZODIAZEPINAS**



FUENTE: [www.monografias.com/metabolismo/benzodiazepinas](http://www.monografias.com/metabolismo/benzodiazepinas)

Las benzodiazepinas se metabolizan con una variedad hidroxilación (alifática y aromática), deshidroxilación, reacciones de la reducción (fase I) seguidas en muchos casos por la conjugación al ácido glucurónico (fase II) antes de la excreción. En la mayoría de los casos los metabolitos de la fase I tienen cierta actividad biológica que pueda ser mayor o menor que el del padre, mientras que las conjugaciones no pasan ninguna actividad significativa. Varias benzodiazepinas se pueden considerar los profármacos.

Figure III.1 ilustración de los caminos metabólicos comunes para 1,4 - las benzodiazepinas. Nordazepam y el oxazepam son metabolitos comunes para estas drogas. El período del nordazepam es muy largo considerado long-acting. Prazepam y el halazepam se metabolizan tan rápidamente al nordazepam y a los 3 metabolitos hidroxis respectivos que no son perceptibles en orina de la sangre. Semejantemente, el medazepam se metaboliza rápidamente al normedazepam. Clorazepato se convierte al nordazepam ya en el estómago.

Figure III.2 ilustración de los caminos metabólicos comunes para el triazolo- y los imidazobenzodiazepinas que implican sobre todo la hidroxilación en las posiciones 1 y 4 así como hendidura del anillo en el caso del alprazolam para formar el methylaminobenzophenone correspondiente.

La figura III.3 ilustra los caminos metabólicos comunes para 7 nitrobenzodiazepinas, es decir flumitrazepam, nitrazepam, nimertazepam y clonazepam. El metabolismo implica la reducción del nitro-grupo y de la acetilación subsecuente. Por ejemplo, el flumitrazepam se reduce a 7 amino-flunitrazepam y después se acetiliza para formar el acetamidoflunitrazepam 7.

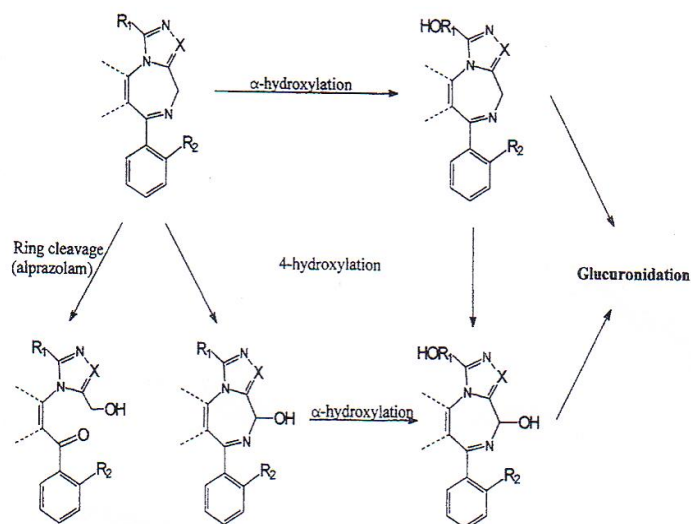
Además, el flunitrazepam también experimenta N-demethylation. El metabolismo del nimetazepam es similar al del flunitrazepam. En contraste con flunitrazepam, el nitrazepam experimenta además hendidura del anillo al aminobenzophenone correspondiente.

Figuras III.4-6 ilustración de los caminos metabólicos para las otras benzodiazepinas. Flurazepam y el loflazepate de etilo se transforman tan rápidamente al desalkylflurazepam que las drogas que provienen y son poco probables en sangre u orina.

### GRÁFICO 2.5.

FIGURA III.1

#### RUTAS GENERALES DEL METABOLISMO PARA 1.4 – BENZODIAZEPINAS METABOLIZADAS A TRAVÉS DE NORDAZEPAM Y DE OXAZEPAM



Alprazolam	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{H}$	$X = \text{N}$
Brotozolam	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{Cl}$	$X = \text{N}$
Estazolam	$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{H}$	$X = \text{N}$
Midazolam	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{F}$	$X = \text{CH}$
Triazolam	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{Cl}$	$X = \text{N}$

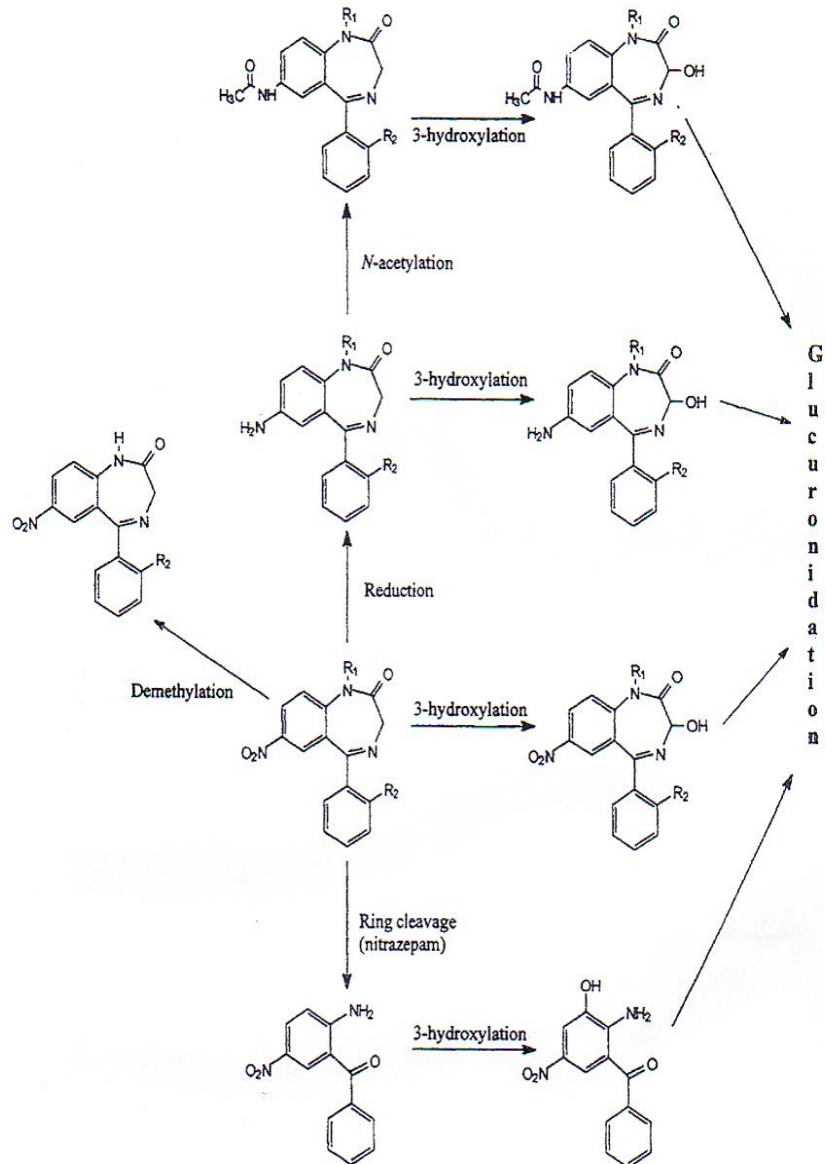
FUENTE: MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES. NEW YORK, 1997



## GRÁFICO 2.6.

### FIGURA III.2.

Gráfico N° 2.6 RUTAS GENERALES DEL METABOLISMO PARA TRIAZOLO Y IMIDAZOBENZODIAZEPINAS.



Clonazepam  $R_1 = H$ ,  $R_2 = Cl$  Nimetazepam  $R_1 = CH_3$ ,  $R_2 = H$

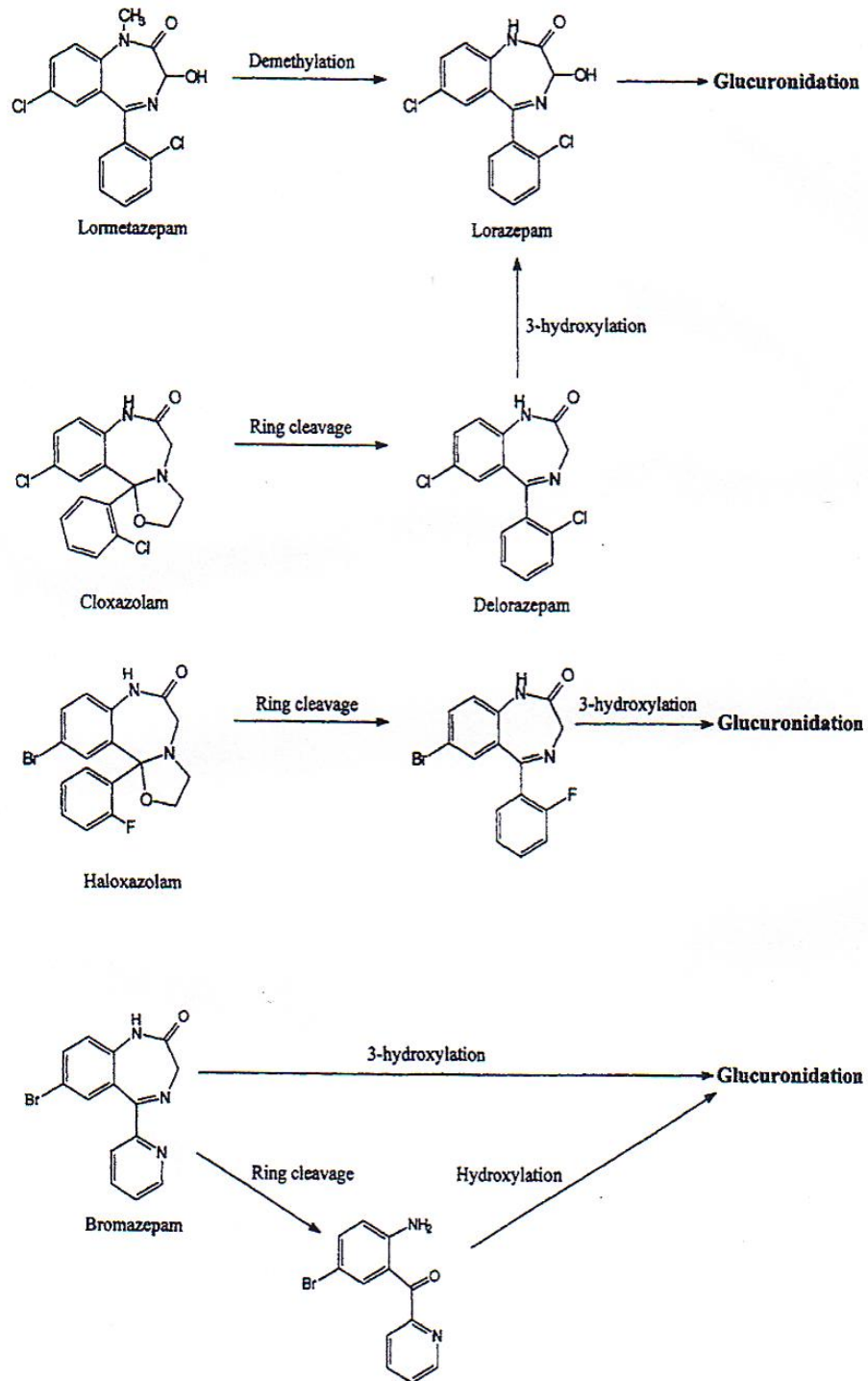
Flunitrazepam  $R_1 = CH_3$ ,  $R_2 = F$  Nitrazepam  $R_1 = H$ ,  $R_2 = H$

FUENTE: MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES, NEW YORK, 1997

## GRÁFICO 2.7.

### FIGURA III.3.

#### Gráfico N° 2.7 RUTAS GENERALES DEL METABOLISMO PARA NITRO - BENZODIACEPINAS

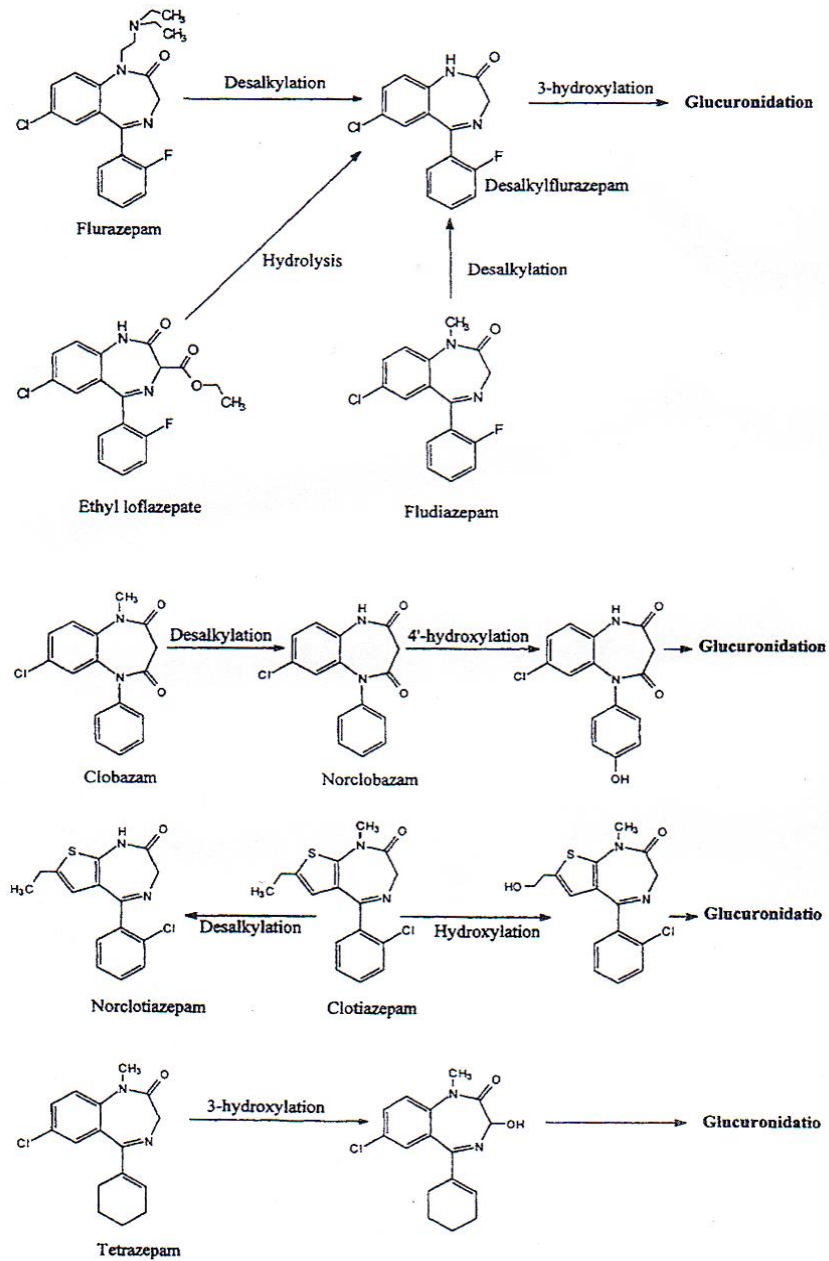


FUENTE: MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES, NEW YORK, 1997

## GRÁFICO 2.8.

### FIGURA III.4.

Gráfico N° 2.8 RUTAS GENERALES DEL METABOLISMO PARA OTRAS BENZODIACEPINAS. PARTE I.

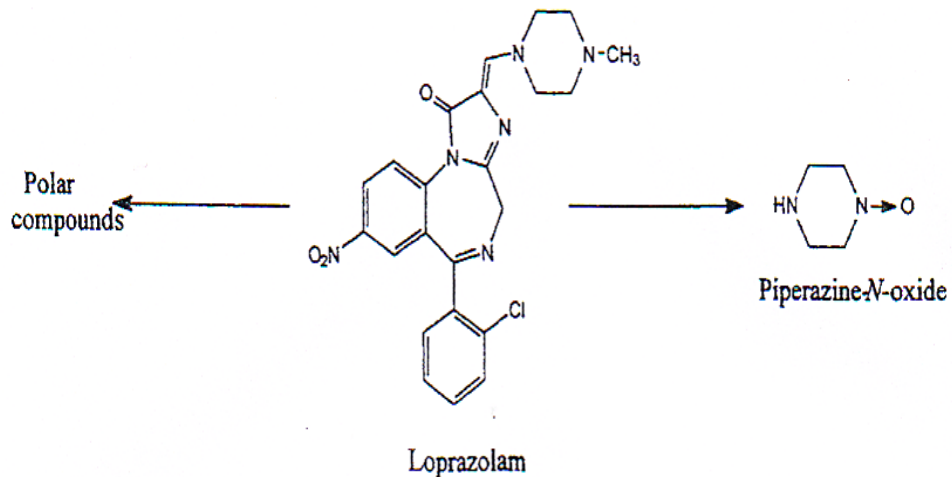


FUENTE: MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES, NEW YORK, 1997

## GRÁFICO 2.9.

### FIGURA III.5.

Gráfico N° 2.9 RUTAS GENERALES DEL METABOLISMO PARA OTRAS BENZODIACEPINAS. PARTE II.



FUENTE: MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES, NEW YORK, 1997

#### 2.2.4.8. TOXICOLOGÍA

La sobredosificación con benzodiazepinas da lugar generalmente a somnolencia, a la ataxia, a la debilidad muscular y a la coma profunda. Para el tratamiento de la administración de la sobredosis de las benzodiazepinas de benzodiazepinas específicas se ha utilizado el flumazenil del antagonista. Las dosificaciones intravenosas de hasta 1 mg de flumazenil invertirán la coma y la depresión del CNS asociadas a toxicidad de la benzodiazepina. Flumazenil se puede también tomar oral.

Las intoxicaciones mortales que resultan de la ingestión de benzodiazepinas solamente son infrecuentes, pero posibles. (MANUAL COLOMBIA BOGOTÁ. 1992).

### 2.2.5. CONCENTRACIÓN DE LA SANGRE

Las concentraciones presentaron en la tabla III.4 representan los niveles de la droga del suero alcanzados comúnmente durante la terapia de la benzodiacepina. Los niveles pueden exceder éstos durante terapia crónica, en los ancianos, en éstos con la función hepática reducida y en los pacientes que aumentan su dosis que sigue el desarrollo de la tolerancia

La tabla también incluye las concentraciones sobre las cuales se han divulgado los síntomas tóxicos. Observe que las dosis diarias pueden variar basado en la indicación para la cual la droga se prescribe y en la historia de pacientes. Debe ser acentuado que significativo traslápese entre terapéutico y las gamas potencialmente tóxicas pueden existir y que los síntomas tóxicos pueden convertirse en concentraciones más bajas en individuos susceptibles.

#### GRÁFICO 2.10.

Gráfico N° 2. 10 **CONCENTRACIÓN EN SANGRE**



FUENTE: MANUAL NACIONES UNIDAS. New York, 1997

Los valores en esta tabla se deben utilizar como una guía solamente e interpretación hecha con la precaución, basada en la información clínica, patológica y toxicológica todo disponible.

**TABLA 2.2.**

**TERAPÉUTICOS Y CONCENTRACIONES TÓXICAS DEL PLASMA PARA  
LAS BENZODIACEPINAS Y SUS METABOLITOS.**

<b>Benzodiazepine</b>	<b>Máximo therapeutic level (mg/l)</b>	<b>Minimum level for Toxicity (mg/l)</b>
Alprazolam	0.07	0.10
Bromazepam	0.17	0.25
Brotizolam	0.02	
Camazepam	0.60	2.00
Chlordiazepoxide as Demoxepam	2.00 4.00	3.50
Clobazam as Norclobazam	0.40 4.00	
Clonazepam as 7-aminoclonazepam	0.06 0.10	0.10 0.10
Clorazepate as Nordazepam	2.0	2.0
Diazepam as Nordazepam	2.0 2.0	2.0 2.0
Estazoiam	0.10	
Ethyl loilazepate as Desalkylflurazepam	0.15	0.2

Benzodiazepine	Máximum therapeutic level	Minimum level for Toxicity
Flunitrazepam	0.02	0.05
as 7-aminoflunitrazepam	0.02	0.2
Flurazepam	0.01	0.15
as Desalkylflurazepam	0.15	0.2
Ketazolam	0.02	2.0
as Nordazepam	2.0	
Loprazolam	0.01	
Lorazepam	0.25	0.30
Lormetazepam	0.02	
Medazepam	0.10	0.60
as Nordazepam	2.0	2.0
Midazolam	0.25	1.0
Nitrazepam	0.15	0.2
as 7-aminonitrazepam	0.2	0.4
Nordazepam	2.0	2.0
Oxazepam	2.0	2.0
Oxazolam	2.0	2.0
as Nordazepam		
Pirazepam	2.0	2.0
as Nordazepam		
Prazepam	2.0	2.0
as Nordazepam		
Temazepam	2.0	2.0
Tetrazepam	1.0	
Triazolam	0.02	0.01

FUENTE. Manual de aspectos generales del análisis de drogas controladas en especímenes biológicos. Colombia 1999.

La interacción de benzodiazepinas con otros compuestos centralmente de actuación, ejm. alcohol, narcóticos, antidepresivos tricíclicos, phenothiazines o barbitúricos, puede llevar a las intoxicaciones fatales en concentraciones más bajas.

La información sobre regímenes de dosificación típicos se puede encontrar en farmacopeas nacionales. Las benzodiazepinas tienen el potencial para afectar a funcionamiento cognoscitivo y psicomotor, y afectan así tareas divididas de la atención tales como conducción.

Estos efectos de empeoramiento se pueden reforzar por el alcohol.

#### **2.2.6. PLAZOS DE LA DETECCIÓN EN ORINA**

El intervalo de tiempo sobre el cual las benzodiazepinas se pueden detectar en orina es altamente variable.

Varios factores contribuyen a esta variabilidad incluyendo la dosis de la droga, a las diferencias en el metabolismo y la excreción de varias benzodiazepinas, a crónicos contra la administración aguda, la ingestión co- para otras drogas que puedan deteriorar o realzar el metabolismo de la droga y finalmente la metodología analítica usada.

Las benzodiazepinas se pueden detectar generalmente en la orina para aproximadamente 24-48 horas después de utilizado para las benzodiazepinas de actuación de los cortocircuitos a hasta siete días o más largos para las drogas temporarias intermedias y largas.



## **2.2.7. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

### **2.2.7.1. ORINA**

Las concentraciones de la orina de benzodiazepinas y de sus metabolitos no se pueden relacionar con una dosis o un rato particular de la droga desde la dosis pasada puesto que la concentración de la orina depende del volumen de líquido excretado, la separación de la creatinina (función del riñón) y el tiempo desde la dosis pasada. Los individuos también varían en su capacidad de metabolizar las drogas. Oxazepam es un metabolito común para muchas benzodiazepinas (véase el cuadro III. 2 y los cuadros III. 1 - 6). Por lo tanto, a menos que se forme otro, los metabolitos específicos no será posible determinar qué benzodiazepina fue ingerida. La medida de la sangre para la presencia de la droga del padre puede ser útil en este contexto. El triazolo- y las benzodiazepinas nitro, por ejemplo, forman los metabolitos específicos (véase el cuadro III. 2 y los cuadros III. 2-3). No es posible deducir un grado probable de intoxicación de concentraciones de la orina.

### **2.2.7.2. SANGRE, SUERO Y PLASMA**

La sangre (o suero, o plasma) se pueden utilizar para obtener una estimación del grado de uso de la droga. El cuadro III. 4 ilustra la concentración generalmente asociada a uso terapéutico y esos asociados posiblemente al desarrollo de síntomas tóxicos. Hay, sin embargo, traslape entre las gamas dependiendo de la modalidad del tratamiento, la tolerancia, la presencia de cualquier enfermedad natural o el uso concomitante de otras drogas que presionen el CNS (ejm. alcohol, narcótico).

### **2.2.8. INTERFERENCIAS**

1. La prueba de cribado del inmunoensayo puede no llevar necesariamente a la detección de benzodiazepinas debido a reactividades cruzadas bajas o porque los compuestos de la blanco están solamente presentes en un nivel debajo del límite cortado o de detección. La prueba de inmunoensayo semejantemente positiva no se puede encontrar positiva por el método confirmativo. Esto puede ser evitada si el límite de detección para el método confirmativo es más bajo que el que está para el método de cribado.

2. Los resultados positivos falsos con inmunoensayos de la benzodiazepina también se han divulgado con el oxaproxim inflamatorio anti no esteroideal de la droga y con el sertraline del inhibidor del reuptake de la serotonina.

### **2.2.9. PROCEDIMIENTOS DE LA EXTRACCIÓN**

Las benzodiazepinas y sus metabolitos no conjugados se pueden extraer fácilmente en una variedad de solventes orgánicos por técnicas de dos líquidos y solid-phase de la extracción y los extractos aplicados a la instrumentación analítica sensible conveniente. Como arriba conocidas muestras de orina debe ser hidrolizado a la extracción.

#### **2.2.9.1. EXTRACCIÓN DE DOS LÍQUIDOS**

La selección de un sistema solvente para los procedimientos de la extracción debe considerar la seguridad de la salud de los personales del laboratorio por, los peligros que evitan, si posibles de la toxicidad e inflamabilidad. Estas ediciones se discuten en los Naciones Unidas manuales en las pautas recomendadas para la garantía de calidad y las

buenas prácticas de laboratorio. Los solventes usados para el aislamiento de benzodiazepinas incluyen el cloruro n-butyl, diclorometano, hexanes - diclorometano, cloruro n-butyl - acetato de etilo, éter de etilo y acetato de etilo.

### GRÁFICO 2.11.

Gráfico N° 2. 11 **EXTRACCIÓN LÍQUIDO – LÍQUIDO**



**FUENTE: FOTOGRAFÍA:** LABORATORIO DE QUIMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINILASTICA DE CHIMBORAZO  
**ELABORADO:** Fonseca Daniel

## **MÉTODO DE LA EXTRACCIÓN DE LA FASE SÓLIDA PARA LA ORINA USANDO COLUMNAS MEZCLADAS DE LA FASE**

### **Materiales y Reactivos**

1. Limpie las columnas de Dau de la pantalla (tecnologías químicas unidas).
2. Sistema del múltiple de vacío del SPE.
3. Almacenador intermediario de fosfato 100mM, pH 6.0

### **Método**

1. Hidrolize 5ml de la orina con glucuronidase.
2. Clave el espécimen con un estándar interno apropiado.

3. Precondicione la columna limpia de la pantalla DAU con 3 ml de metanol seguidos por 3 ml de agua y 1 ml del almacenador intermediario de fosfato 100mM, pH 6.0.
4. Transfiera el espécimen de orina a una columna y enjuáguese en 1-2 ml/min (fije el múltiple de vacío en el kPa 10- 17).
5. Lave la columna con 2ml del agua seguido por 2ml del acetonitrilo del 20% en el almacenador intermediario de fosfato 100mM, pH 6.0.
6. Seque la columna yéndose en el vacío completo por aproximadamente 5 Min.
7. Columna de colada con 2 ml de hexano.
8. Enjuague las sustancias apagado con 3 ml de acetato de etilo.
9. Evapore el eluído al estado seco y reconstituya el residuo con UL 100 del acetato de etilo.

## **MÉTODO DE LA EXTRACCIÓN DE LA FASE SÓLIDA PARA LA SANGRE USANDO COLUMNAS DE LA SILICONA DE OCTADECYL**

### **Materiales y Reactivos**

1. Limpie C18 las columnas, magnesio 100 (corporación mundial de la supervisión).
2. Sistema del múltiple de vacío del SPE.
3. Almacenador intermediario del borato, pH 9.

### **Métodos**

1. Punto 2 ml de suero, antemortem o de sangre post mortem con un estándar interno apropiado.
2. Agregue 2 ml de acetona, mézclese y centrifúguelos brevemente.
3. Evapore el sobrenadante al estado seco y disuelva el residuo en 2 ml del almacenador intermediario del borato, pH 9.

4. Precondicione limpien la columna C18 con 2 ml de metanol seguidos por 2 ml de agua y 1 ml del almacenador intermediario del borato, pH 9.
5. Transfiera el espécimen pretratado a la columna y enjuáguese a un flujo de aproximadamente 1 ml/min.
6. Lave la columna con 1 ml de agua seguido por 1 ml de metanol del 15% en agua.
7. Seque la columna por la centrifugación, después enjuague las benzodiazepinas con 1 ml de metanol en un frasco de la colección.
8. Evapore el eluido al estado seco y reconstituya el residuo en UL 20 del metanol.

## **2.2.10. MÉTODOS CONFIRMATORIOS**

### **2.2.10.1. CROMATOGRAFÍA DE GAS**

La cromatografía de gas es una técnica conveniente para el análisis de benzodiazepinas. Ambos, lleno y capilar los métodos de columna están disponibles. Las dosis bajas de muchas de las benzodiazepinas hacen la cromatografía de gas capilar la técnica preferible de los dos.

La química de muchos de los analitos, específicamente la polaridad si hidroxil y los amino-sustitutos, pueden limitar la eficacia de la cromatografía de gas. Por lo tanto, se utilizan las técnicas de la derivatización. La formación de derivados del silil, del acil y del alquilo se ha descrito. Las altas concentraciones de los analitos (inyección del fag 1-2) se pueden detectar sin la derivatización.

Los derivados trimetiles del silil (el trifluoroacetamida del bis de N, del o (trimethylsilyl) (BSTFA) con el trimetilclorosilano del 1% (TMCS) [105]) y los derivados tert-butílicos metílicos del silil tienen la ventaja que dan a iones estables, de molecularidad elevada del peso para el capítulo de la

espectrometría total ver 8 III.F.ó.b) sin embargo, los extractos silylated del material biológico tienden a ser sucios y son, por lo tanto, no convenientes para los detectores nitrógeno-fosforados (NPD)

La sililación no realiza la respuesta de los detectores de captura de electrón (ECD). Otros acercamientos están al acilato y alquilizan el hidróxido y los amino-sustitutos con el cloruro del propionyl y el yoduro propyl, respectivamente [107]. La acilación/la alcoholación tiene la ventaja, de que los derivados se pueden sujetar a procedimientos más futuros de la limpieza antes de análisis.

#### **2.2.10.2. TÉCNICA LLENA DE LA COLUMNA**

La selección de fases inmóviles disponibles para la cromatografía de gas de benzodiazepinas en columnas llenas es grande.

Cualquier embalaje moderado no polar tal como silicón dimethyl (OV-1) o silicón metílico del 50% (OV-17) es conveniente. Mientras que ciertas fases se recomiendan en este manual, ésta no significa necesariamente que otras fases no son convenientes. (MANUAL NACIONES UNIDAS. New York, 1997)

La longitud y el diámetro interno, mientras que afecta a la retención característica de sustancias, se pueden todavía variar de éstos recomendados, proporcionando la cromatografía las condiciones son establecidas por el analista y el procedimiento final validados con respecto a especificidad y reproducibilidad y otros indicadores de funcionamiento críticos para el método actual. La cromatografía de gas llena de la columna ha limitado sensibilidad y, por lo tanto, sólo sea conveniente para esos analitos presentes en las altas concentraciones en muestras de orina hidrolizadas.

## **MÉTODOS LLENOS DE COLUMNA**

### **MÉTODO A**

Column: 0.91 m x 4 mm ID glass column, packed with 10%  
OV-1 on Chromosorb G-HP, 80-100 mesh

Carrier gas: Argon/methane (95:5) at 50 ml/min\*

Column temperature: 230°C

Injector temperature: 300°C

Detector temperature: 1.83 m x 2 mm ID glass column, packed with 3% OV-  
17 on Chromosorb W-HP, 80-100 mesh

### **MÉTODO B**

Column: Argon/methane (95:5) at 30 ml/min\*

Carrier gas: 260°C

Column temperature: 230°C

Injector temperature: 300°C

Detector temperature:

## **PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE LA MUESTRA**

Las muestras de orina se deben hidrolizar antes de la extracción según el procedimiento descrito en el capítulo III.F.3.

Los procedimientos recomendados de la extracción descritos en el capítulo III.F4 deben ser utilizados.

El nitrógeno es también conveniente como gas portador para ECDs.

**Nota:** Antes de uso, todas las columnas llenas deben ser condicionadas. Generalmente la temperatura de condicionamiento debe ser por lo menos 30°C sobre la temperatura en la cual el análisis debe ser realizado, a menos que éste requiriera exceder el límite superior de la temperatura de la columna según lo especificado por el fabricante. En este caso, un diferencial más pequeño de la temperatura debe ser utilizado y el período de condicionamiento ser prolongado substancialmente.

Típicamente, las columnas se condicionan durante la noche o para un mínimo de 15h. El condicionamiento se realiza con el flujo llevado normal del gas y con la columna desconectada del detector.

## **TÉCNICA CAPILAR DE LA COLUMNA**

Similar a la cromatografía de gas llena de la columna, a la selección de columnas capilares con respecto a fase inmóvil, al espesor del film, a las dimensiones de la columna y al tipo es grande.

Las características de la cromatografía de cada columna se deben establecer como siendo adecuadas para el procedimiento analítico. La mayoría de las columnas metálicas fenilos dimethyl del silicón o del silicón del 5% se pueden utilizar para el análisis de extractos derivatizados y underivatized.

Se recomiendan los métodos siguientes.



### **2.2.10.3. MÉTODOS CAPILARES DE COLUMNA**

#### **CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO**

**Columna:** la identificación de 12m x 0.53 milímetros químicamente enlazó la columna capilar de la silicona fundida con la capa de 1.0 uní de silicón metílico fenilo del 5% (BP-5 o el equivalente).

**Gas portador:** Helio en 2-3 ml/min

**Cociente partido:** Modo de Splitless

**Temperatura de la columna:** Iniciar un por 100°C 2 minutos, entonces programados en 7.5°C/min a 310°C para el minuto 10

**Temperatura del inyector:** 250°C Temperatura del detector: 300°C

#### **PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE LA MUESTRA**

Las muestras de orina se deben hidrolizar antes de la extracción según el procedimiento descrito en el capítulo III.F.3. Los procedimientos recomendados de la extracción descritos en el capítulo III.F.4 deben ser utilizados.

**TABLA 2.3.**  
**CONCERNIENTE AL DIAZEPAN**  
**TIEMPOS DE RETENCIÓN RELATIVOS PARA BENZODIACEPINAS POR LA**  
**COLUMNA CAPILAR DE CROMATOGRAFÍA GASEOSA.**

Benzodiazepina	Relátive retention
Alprazolam	1.225
Bromazepam	1.079
Chlordiazepoxide (as	1.025
Clobazam	1.053
Clonazepam	1.186
7-aminoclonazepam	1.186
Diazepam	1.000
Flunitrazepam	1.086
7-aminoflunitrazepam	1.099
Flurazepam	1.136
Desalkylfiurazepam	1.002
Lorazepam	0.986
Midazolam	1.069
Nitrazepam	1.159
7-aminonitrazepam	1.148
Nordazepam	1.034
Oxazepam	0.843
Prazepam	1.088
Temazepam	1.075
Triazolam	1.276

## **DETECTORES**

Los detectores convenientes para el análisis de benzodiazepinas de GC incluyen el detector de captura de electrón (ECD) y el detector fosforado del nitrógeno (NPD) (a menudo llamado un nitrógeno detector selectivo).

Los detectores de ionización a la llama sin elemento calefactor (FID) no tienen generalmente suficiente sensibilidad a ser útil para el análisis de benzodiazepinas. Un detector selectivo total tal como espectrómetros totales o trampas del ion es de uso frecuente conjuntamente con la CROMATOGRAFÍA GASEOSA capilar y es la técnica de la opción para la sensibilidad y la energía discriminatoria.

## **CROMATOGRAFÍA GASEOSA-ESPECTROMETRÍA DE MASA**

La cromatografía gaseosa-espectrometría de masa es un método confirmativo altamente específico para las benzodiazepinas. Al identificar las benzodiazepinas de GC - el ms, espectros debe ser admitido el modo de exploración completo, la identificación de un analito es obtener comparando su tiempo de retención y por lo menos tres iones del calificador con los de los estándares de referencia.

Para asegurar especificidad, la cuantificación se debe realizar usando cromatogramas reconstruidos del ion, es decir usando los cromatogramas del ion generados de los datos completos de la exploración, comparando el ion del pico bajo con el área representativa del ion estándar interno y de la curva de calibración. Los iones debajo de  $m/z$  50 son poco probables de estar de valor de diagnóstico.

Para la cromatografía gaseosa-espectrometría de masa deuterio - estándares etiquetados son convenientes para la cuantificación por la supervisión seleccionada del ion.

## CAPILAR DE LA COLUMNA - MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA GASEOSA Y ESPECTROMETRÍA DE MASA

### Condición de funcionamiento

- 12.5 m x identificación de 0.20 milímetros químicamente enlazaron la columna del tubo capilar de la silicona fundida con 0.33 $\mu$ m de capas del silicón dimethyl (ejm. HP-1).
- 25 m x identificación de 0.20 milímetros químicamente enlazaron la columna capilar de la silicona fundida con 0.33  $\mu$ m de capas del silicón metílico fenilo al 5% (e.g. HP - 5).

**Gas portador:** Helio a 0.65 ml/min, velocidad linear 34.7 cm/s

**Cociente partido:** modo splitless

**Temperatura de columna:** Empezar a 140°C por 1 minuto, entonces programarlo a 30°C/min a 260°C, asimiento a 260°C por 5 minutos, entonces se levanta a 320°C en 50°C/min.

**Temperatura del inyector:** 250°C Temperatura del interfaz: 280°C

### Preparación de las soluciones de la muestra

Las muestras de orina se deben hidrolizar antes de la extracción según el procedimiento descrito en el capítulo III.F.3.

**GRÁFICO 2.12.**  
Gráfico N° 2.12 CROMOTOGRAFO DE GAS



**TABLA 2.4.**

**Cuadro N° 2. 4 DATOS ESPECTRALES TOTALES (EI+) PARA LAS  
BENZODIACEPINAS**

<b>Benzodiazepine</b>	<b>Base peak ion, m/z</b>	<b>Other ions, m/z (abundance)</b>
Alprazolam	308	279, 204
a-hydroxyalprazolam-TMS	381	382(30), 396(40), 383 (39)
Bromazepam-TMS	388	374(16), 386(95), 387(96)
Chlordiazepoxide	282	283, 284
Clonazepam-TMS	387	352(87), 386(45)
7-aminoclonazepam-TMS	429	394(99), 414(30)
Diazepam	256	283(92), 284(67), 221
Flunitrazepam	312	286(85), 285(71)
7-aminoflunitrazepam-TMS	355	327(87), 326(36)
Rurazepam	86	99(9), 387(3)
Desalkylflurazepam-TMS	359	360(91), 341(62), 245
Halazepam	324	352,289
Lorazepam-diTMS	429	430(43), 431(33)
Midazolam	310	297, 312
o-hydroxymidazolam-TMS	310	312(34), 399(10), 413(37)
Nitrazepam-TMS	352	353(65), 306(26)
7-aminonitrazepam-diTMS	394	395(87), 396(30)
Nordazepam-TMS	341	342(56), 343(45), 327
Oxazepam-diTMS	429	415(18), 401(20), 430
Pinazepam	308	280(99), 307(86)
Prazepam	269	295(83), 91(54), 241, 324
Temazepam-TMS	343	283, 257
Triazolam	313	238, 312, 314, 342
a-hydroxytriazolam-TMS	415	417(70), 430(50), 432(34)

**FUENTE:** MANUAL PARA EL USO POR LABORATORIOS NACIONALES NEW YORK, 1997

## **Cromatografía líquida del alto rendimiento (CLAR)**

La CLAR es una técnica útil para el análisis cuantitativo de benzodiazepinas.

Su valor es polémico como la reproducibilidad de los datos de la retención varía de columna a la columna y es dependiente en un número de factores.

Las columnas inversas se utilizan para el análisis de benzodiazepinas en especímenes biológicos. Para proteger la columna analítica el uso de una columna de protector con el mismo embalaje se recomienda. Las fases móviles usadas son ácidas.

Un almacenador intermediario de fosfato del mezclado a un acetonitrilo y/o un metanol. Es importante controlar el pH de la fase móvil pues las pequeñas diferencias pueden afectar perceptiblemente a la cromatografía. El gradiente así como análisis isocrático se ha divulgado.

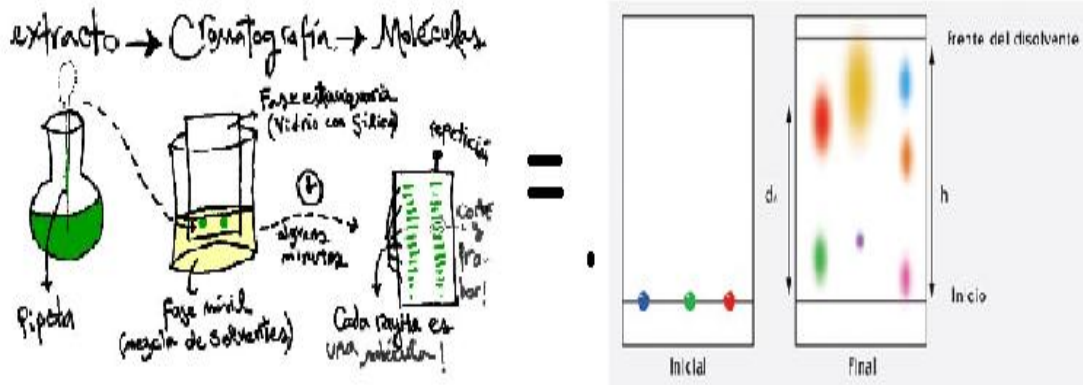
Para las mezclas complejas de benzodiazepinas o para un desconocido general, el análisis del gradiente o una combinación de sistemas isocráticos (benzodiazepinas específicas de la blanco del shich) es necesaria. La mayoría de las benzodiazepinas son detectadas por ULTRAVIOLETA en 230 nanómetros, nitrobenzodiazepinas en 240 nanómetros. Para la identificación máxima se requiere la detección de array de diodos.

### **2.2.11. CROMATOGRAFÍA**

La cromatografía es un sistema analítico que permite separar los diferentes componentes de una muestra problema, con el fin de identificarlos y/o cuantificarlos.

## GRAFICO 2.13.

### CROMATOGRFÍA. SISTEMA ANALÍTICO



FUENTE. Fonseca Daniel

## MODOS EN QUE SE TRABAJA LA CROMATOGRFÍA

- Cromatografía de capa fina
- Cromatografía de capa fina de alta eficiencia (HPTLC).
- Cromatografía de columna
- Cromatografía líquida de alta presión
- Cromatografía de gas Cromatografía de papel

### 2.2.11.1. CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA

#### Elementos:

Este sistema se trabaja con los siguientes elementos:

Cromatoplas que consiste en una hoja de vidrio (20x20 cms.) recubierta con el soporte o sorbente (sorbente es el medio en que se produce la separación cromatográfica); el eluyente que consiste en un solvente o mezcla de solventes y la cubeta que contiene al eluyente y a la cromatoplasca.

**Procedimiento:**

La muestra se aplica en un extremo de la cromatoplaca mediante una micropipeta especial, en cantidades que oscilan entre 1 y 20 micro litros, luego se introduce la cromatoplaca en la cubeta que contiene el eluyente, generalmente 100 ml., de tal manera la cromatoplaca queda hundida en el eluyente aproximadamente 5mm el eluyente asciende luego por la cromatoplaca mediante fuerza capilar hasta una distancia prefijada con anterioridad, en límite de esta distancia se conoce con el nombre de frente del solvente, cuando el eluyente llega al frente, el proceso cromatográfico termina, lo cual dura aproximadamente 40 minutos.

Como la gran mayoría de las sustancias no se pueden ver directamente por carecer de coloración propia, se visualiza mediante la observación a la luz ultra-violeta o mediante el tratamiento con reactivos de coloración específicos, los que se aplican por pulverización, luego de esto generalmente se suele calentar la placa hasta la aparición de manchas de colores característicos, correspondientes a las sustancias de interés.

**CLASES DE CROMATOGRAFÍA**

Según el principio fisicoquímico que interviene en el proceso cromatográfico, la cromatografía puede ser de:

- a. Absorción
- b. Partición
- c. Intercambio iónico
- d. Permeación a través del gel, etc.



### **Absorción:**

Este tipo es el más usado en cromatografía de capa fina, en este sistema las sustancias quedan retenidas en el soporte mediante fuerzas electrostáticas de diferente densidad según la polaridad de la sustancia (la polaridad depende de la estructura molecular) de tal forma que cuando el eluyente pasa sobre la muestra en su camino ascendente, arrastra las sustancias con diferente velocidad, quedando separadas a lo largo de la placa cuando la elución llega a su fin.

Los soportes usados con este sistema son:

- Silicagel
- Aluminio óxido
- Florisil

### **Partición:**

En este sistema la separación de las sustancias se logra gracias a la diferente solubilidad de las sustancias en la fase estacionaria (que está impregnada en el solvente), y en la fase móvil o eluyente; de esta manera tenemos que los componentes más solubles en la fase estacionaria migrarán menos y los men-cs solubles migraran más, lográndose así la disgregación de la muestra en sus componentes.

Los soportes más usados en este sistema son:

- Celulosa
- Tierra silícea

## Serie Eluotrópica

Esta serie consiste en una dosificación de los solventes que se usan en cromatografía según su poder de elución, lo que está determinado en parte por su polaridad, constante dieléctrica, facilidad de formar puentes de hidrogeno, etc., a continuación enumeramos los solventes más usados en cromatografía, comenzando por los menos polares y terminando por los más polares:

• Hexano	• Acetonitrilo
• N-heptano	• 2-Propanol
• N-hexano	• Acetato de etilo
• Ciclohexano	• 1 -Propanol
• Iso-octano	• Etilmetilcetona
• Tetracloruro de	• Acetona
• carbono	• Etanol
• Tolueno	• Dioxano
• Benceno	• Tetrahidrofurano
• Cloroformo	• Metanol
• Diclorometano	• Agua
• 1-Betanol	

Mediante esta clasificación es posible determinar el eluyente adecuado para cada problema, así pues, la polaridad del solvente a usar será similar a la polaridad de la sustancia que nos interesa aislar, esto es válido siempre y cuando se trabaje la cromatografía de absorción.

### 2.2.12. ANÁLISIS CUALITATIVO

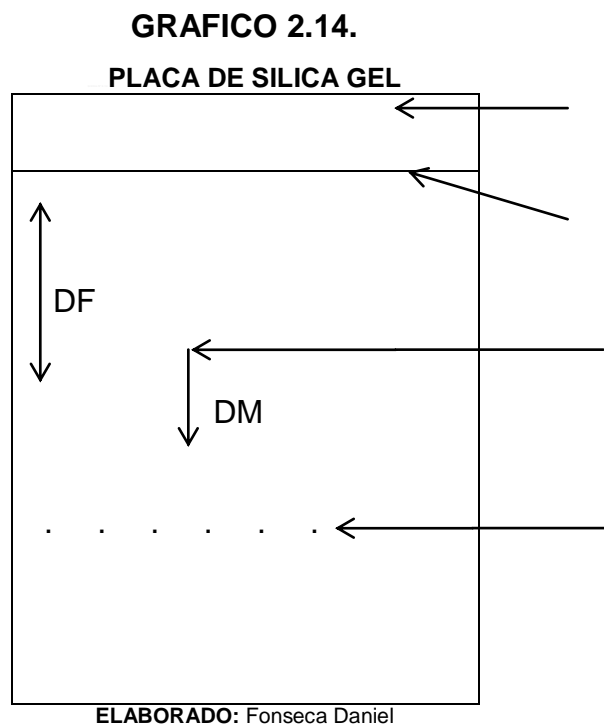
Para identificar una sustancia recurrimos en primer lugar a comparar la altura de migración con la de estándares de la sustancia esperada, pues

la altura de migración es específica para cada sustancia en condiciones cromatográficas definidas, de tal manera, que si dos manchas tienen diferente altura de migración, con absoluta seguridad sabremos que corresponden a sustancias diferentes, por otro lado, tenemos que si dos manchas tienen la misma altura de migración, lo más posible es que correspondan a la misma sustancia, la certeza se logra verificando la igualdad de altura de migración en diferentes eluyentes y sobre todo, utilizando reactivos de coloración específica para la sustancia de interés.

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

DM: Distancia medida desde el punto de aplicación hasta el centro de la mancha.

DF: Distancia medida desde el punto de aplicación hasta el frente del solvente



Este valor aunque no es totalmente reproducible, es una guía muy útil para comparar resultados y evaluar procedimientos cromatográficos. En la literatura relacionada con el tema se mencionan valores  $R_f$  para una gran cantidad de sustancias.

### **2.2.13. ANÁLISIS SEMICUANTITATIVO**

Se puede hacer evaluaciones semi-cuantitativas comparando el tamaño y la intensidad de mancha de la sustancia problema frente a manchas de patrones de diferente concentración, que han sido aplicadas simultáneamente, el grado de exactitud está dado por el número de diluciones de los patrones empleados.

### **2.2.14. ANÁLISIS CUANTITATIVO**

Hay dos formas de hacer el análisis cuantitativo:

- a) Raspando la mancha de interés para luego extraer la sustancia mediante un solvente adecuado y a continuación determinar la cantidad mediante titulación o lectura colorí métrica.

Este sistema aunque es exacto y fácil de realizar, tiene la desventaja de que se puede usar sólo cuando la sustancia de interés se encuentra en cantidades relativamente grandes.

- b) Densitometría. Mediante este sistema la determinación se hace directamente sobre la placa midiendo la intensidad de la luz reflejada y/o transmitida, utilizando un aparato llamado densitómetro, éste es el sistema más adecuado para hacer determinaciones cuantitativas en cromatografía de capa fina, especialmente pruebas de toxicología, por el gran ahorro de tiempo y trabajo; por la exactitud y reproductividad que su empleo trae.

### **2.3. CONTROL DE CALIDAD**

**El control de calidad** son todos los mecanismos, acciones, herramientas que realizamos para detectar la presencia de errores.

La función del control de calidad existe primordialmente como una organización de servicio, para conocer las especificaciones establecidas por la ingeniería del producto y proporcionar asistencia al departamento de fabricación, para que la producción alcance estas especificaciones.

Como tal, la función consiste en la recolección y análisis de grandes cantidades de datos que después se presentan a diferentes departamentos para iniciar una acción correctiva adecuada.

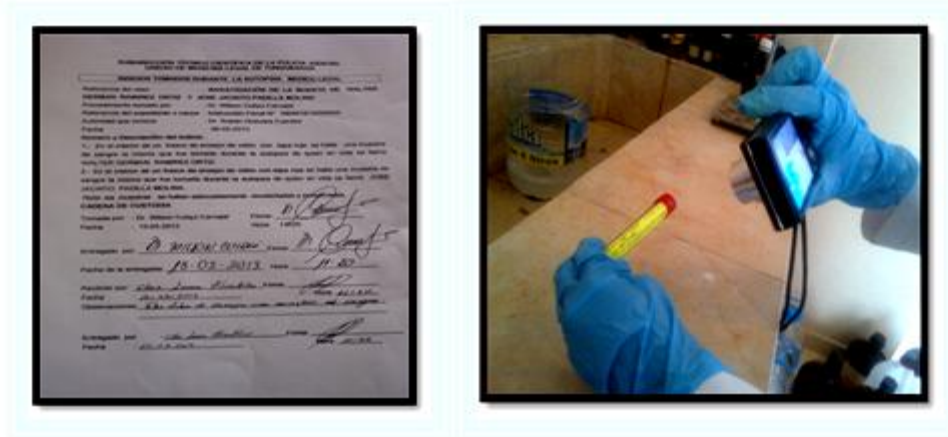
Todo producto que no cumpla las características mínimas para decir que es correcto, será eliminado, sin poderse corregir los posibles defectos de fabricación que podrían evitar esos costos añadidos y desperdicios de material.

### **2.4. CADENA DE CUSTODIA**

Es un procedimiento controlado que se aplica a los indicios materiales relacionados con el delito, desde su localización hasta su valoración por los encargados de administrar justicia y que tiene como fin no viciar el manejo de que ellos se haga y así evitar alteraciones, sustituciones, contaminaciones o destrucciones.

## GRAFICO 2.15.

Gráfico N° 2. 15 CADENA DE CUSTODIA (MEDICINA LEGAL)



FUENTE: FOTOGRAFIA: DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE RIOBAMBA  
ELABORADO POR: Fonseca Daniel

### 2.4.1. CADENA DE CUSTODIA PROCEDIMIENTO

1. El fiscal de turno autoriza que se proceda a realizar la toma de muestra para el análisis toxicológico.
2. Extracción o recolección de la muestra de humor vítreo.
3. Transporte o traslado de la muestra a cargo del perito de turno.
4. Entrega de la Cadena de Custodia y de la muestra para posterior análisis en el Laboratorio de Química Forense de Criminalística de Chimborazo.
5. La Hoja de Cadena de Custodia consta:
  - Características de la evidencia que se entrega, peso, volumen, embalaje, material, prenda de vestir, etc.
  - Nombre, firma y cédula de identidad de la persona que entrega las muestras
  - Nombre, firma y cédula de identidad de la persona que recibe las muestras.
  - Fecha y hora de entrega
  - Empresa que realiza el transporte si se daría el caso

6. Chequear el número de referencia de cada muestra y constatar con el formulario enviado y comprobar la integridad de los precintos.
7. Al abrir los recipientes comprobar que las muestras y descripción de las mismas son correctas.
8. Fotografiar lo indicado y refrigerar las muestras para su posterior análisis.

## **2.5. NORMAS DE BIOSEGURIDAD**

### **2.5.1. PRINCIPIOS DE LA BIOSEGURIDAD**

1. Universalidad: Las medidas deben involucrar a todos los pacientes, trabajadores y profesionales de todos los servicios, independientemente de conocer o no su serología. Todo el personal debe seguir las precauciones estándares rutinariamente para prevenir la exposición de la piel y de las membranas mucosas, en todas las situaciones que puedan dar origen a accidentes, estando o no previsto el contacto con sangre o cualquier otro fluido corporal del paciente. Estas precauciones, deben ser aplicadas para todas las personas, independientemente de presentar o no enfermedades.
2. Uso de barreras: Comprende el concepto de evitar la exposición directa a sangre y otros fluidos orgánicos potencialmente contaminantes, mediante la utilización de materiales adecuados que se interpongan al contacto de los mismos. La utilización de barreras (ej. guantes) no evitan los accidentes de exposición a estos fluidos, pero disminuyen las probabilidades de una infección
3. Medios de eliminación de material contaminado: Comprende el conjunto de dispositivos y procedimientos adecuados a través de los cuales los materiales utilizados en la atención de pacientes, son depositados y Elementos básicos de la bioseguridad.

Los elementos básicos de los que se sirve la seguridad biológica para la contención del riesgo provocado por los agentes infecciosos son tres:

1. Prácticas de trabajo: Unas prácticas normalizadas de trabajo son el elemento más básico y a la vez el más importante para la protección de cualquier tipo de trabajador. Las personas que por motivos de su actividad laboral están en contacto, más o menos directo, con materiales infectados o agentes infecciosos, deben ser conscientes de los riesgos potenciales que su trabajo encierra y además han de recibir la formación adecuada en las técnicas requeridas para que el manejo de esos materiales biológicos les resulte seguro. Por otro lado, estos procedimientos estandarizados de trabajo deben figurar por escrito y ser actualizados periódicamente.
2. Equipo de seguridad (o barreras primarias): Se incluyen entre las barreras primarias tanto los dispositivos o aparatos que garantizan la seguridad de un proceso (como por ejemplo, las cabinas de seguridad) como los denominados equipos de protección personal (guantes, calzado, pantallas faciales, mascarillas, etc).
3. Diseño y construcción de la instalación (o barreras secundarias): La magnitud de las barreras secundarias dependerá del agente infeccioso en cuestión y de las manipulaciones que con él se realicen. Vendrá determinada por la evaluación de riesgos. En muchos de los grupos de trabajadores en los que el contacto con este tipo de agentes patógenos sea secundario a su actividad profesional, cobran principalmente relevancia las normas de trabajo y los equipos de protección personal, mientras que cuando la manipulación es deliberada entrarán en juego, también, con mucha más importancia, las barreras secundarias.

Los niveles de bioseguridad son estándares internacionales y su clasificación está dada en función del grado de letalidad de las enfermedades.



**Cuadro N° 2. 5**  
**NIVELES DE BIOSEGURIDAD**

<b>BSL Biological safety Levels</b>	<b>Agentes Infecciosos</b>	<b>Prácticas</b>	<b>Equipamiento de seguridad. (Barreras Primarias)</b>	<b>Infraestructura. ( Barreras Secundarias)</b>
Nivel 1	No causales de enfermedad en adultos sanos	Trabajos microbiológicos estándares	No se requieren	Mesadas con bachas y agua corriente
Nivel 2	Asociados con enfermedades en adultos, peligro de infección por: herida percutánea, ingestión, exposición de membranas mucosas	BSL-1 más: Acceso limitado, Señalización de peligro biológico, Manual de bioseguridad disponible, descontaminación rutinaria de desechos seleccionados	Gabinetes de seguridad Clase I o II para todas las manipulaciones de agentes que puedan causar aerosoles o derrames. Guardapolvos, guantes y mascarillas cuando se requieran	BSL-1 más: autoclave dedicada
Nivel 3	Exóticos con potencial de transmisión por aerosoles, causales de enfermedades serias o letales	BSL-2 más: Acceso controlado, Descontaminación de todos los desechos, Descontaminación de ropa de trabajo, Controles serológicos periódicos	BSL-2 para todas las manipulaciones, respiradores autónomos cuando se requieran	BSL-2 más: Separación física de pasillos y laboratorios, Puertas de acceso doble con cerradura automática, Aire viciado no recirculado, Flujo de presión negativa en el laboratorio
Nivel 4	Exóticos peligrosos con alto riesgo de enfermedad letal, infecciones transmisibles por aire y por vías desconocidas	BSL-3 más: Cambio de ropa antes de entrar al recinto, Ducha descontaminante al salir del mismo, todos los materiales descontaminados para salir del ámbito	Todos los procedimientos llevados a cabo en gabinetes Clase III, o gabinetes Clase I y II en combinación con traje completo de presión positiva	BSL-3 más: Edificio aislado o zona caliente. Sistema de circulación de aire, vacío y descontaminación dedicados.

**FUENTE:** Manual para el uso por laboratorios nacionales New York 1997

## 2.5.2. NORMAS DE BIOSEGURIDAD UNIVERSALES

Mantenga el lugar de trabajo en óptimas condiciones de higiene y aseo.

- Evite fumar, beber y comer cualquier alimento en el sitio de trabajo.
- No guarde alimentos, en las neveras ni en los equipos de refrigeración de sustancias contaminantes o químicos.
- Maneje todo paciente como potencialmente infectado. Las normas universales deben aplicarse con todos los pacientes, independientemente del diagnóstico, por lo que se hace innecesaria la clasificación específica de sangre y otros líquidos corporales.
- Lávese cuidadosamente las manos antes y después de cada procedimiento e igualmente si se tiene contacto con material patógeno.
- Utilice en forma sistemática guantes plásticos o de látex en procedimientos que con lleven manipulación de elementos biológicos y/o cuando maneje instrumental o equipo contaminado en la atención de pacientes.
- Utilice un par de guantes por paciente. En caso de ser reutilizables sométalos a los procesos de desinfección, desgerminación y esterilización respectivos.
- Absténgase de tocar con las manos enguantadas alguna parte del cuerpo y de manipular objetos diferentes a los requeridos durante el procedimiento.
- Emplee mascarilla y protectores oculares durante procedimientos que puedan generar salpicaduras gotitas -aerosoles- de sangre u otros líquidos corporales.
- Use batas o cubiertas plásticas en aquellos procedimientos en que se esperen salpicaduras, aerosoles o derrames importantes de sangre u otros líquidos orgánicos.
- Evite deambular con los elementos de protección personal en óptimas condiciones de aseo, en un lugar seguro y de fácil acceso.

- Mantenga sus elementos de protección personal en óptimas condiciones de aseo, en un lugar seguro y de fácil acceso.
- Utilice equipos de reanimación mecánica, para evitar el procedimiento boca a boca.
- Evite la atención directa de pacientes si usted presenta lesiones exudativas o dermatitis serosas, hasta tanto éstas hayan desaparecido.
- Mantenga actualizados u esquema de vacunación contra el riesgo de HB.
- Las mujeres embarazadas que trabajen en ambientes hospitalarios expuestas al riesgo biológico VIH/SIDA y/o Hepatitis B, deberán ser muy estrictas en el cumplimiento de las precauciones universales y cuando el caso lo amerite, se deben reubicar en áreas de menor riesgo.
- Aplique en todo procedimiento asistencial las normas de asepsia necesarias.
- Utilice las técnicas correctas en la realización de todo procedimiento.
- Maneje con estricta precaución los elementos corto punzante y dispóngalos o deséchelos en recipientes a prueba de perforaciones. Los que son para reutilizarse deben someter a los procesos de desinfección, desgerminación y esterilización; los que se van a desechar, se les coloca en el recipiente hipoclorito de sodio a 5.000 ppm durante 30 minutos, se retira luego el hipoclorito y se esterilizan o incineran. Puede emplearse otro tipo de desinfectante que cumpla los requisitos mínimos de este proceso.
- No cambie elementos cortopunzantes de un recipiente a otro.
- Absténgase de doblar o partir manualmente las hojas de bisturí, cuchillas, agujas o cualquier otro material cortopunzante.
- Evite desenfundar manualmente la aguja de la jeringa. Para ello utilice la pinza adecuada y solamente gire la jeringa.
- Absténgase de colocar el protector a la aguja y descártela en recipientes resistentes e irrompibles.

- Evite reutilizar el material contaminado como agujas, jeringas y hojas de bisturí.
- Todo equipo que requiere reparación técnica debe ser llevado a mantenimiento, previa desinfección y limpieza. El personal de esta área debe cumplirlas normas universales de prevención y control del factor de riesgo biológico.
- Realice desinfección y limpieza a las superficies, elementos, equipos de trabajo al final de cada procedimiento y al finalizar la jornada.
- En caso de derrame o contaminación accidental de sangre u otros líquidos corporales sobre superficies de trabajo, cubra con papel u otro material absorbente; luego vierta hipoclorito de sodio a 5.000 ppm (o cualquier otro desinfectante indicado) sobre el mismo y sobre la superficie circundante, dejando actuar durante 30 minutos; después limpie nuevamente la superficie con desinfectante a la misma concentración y realice limpieza con agua y jabón. El personal encargado de realizar dicho procedimiento debe utilizar guantes, mascarilla y bata.
- En caso de ruptura de material de vidrio contaminado con sangre u otro líquido corporal, los vidrios deben recogerse con escoba y recogedor, nunca las manos.
- Los recipientes para transporte de muestras deben ser de material irrompible y cierre hermético. Deben tener preferiblemente el tapón de rosca.
- Manipule, transporte y envíe las muestras disponiéndolas en recipientes seguros, con tapa y debidamente rotuladas, empleando gradillas limpias para su transporte. Las gradillas a su vez se transportarán en recipientes herméticos de plásticos o acrílico que retengan fugas o derrames accidentales. Además deben ser fácilmente lavables.
- En caso de contaminación externa accidental del recipiente, éste debe lavarse con hipoclorito de sodio al 0.01% (1.000 ppm) y secarse.

- En las áreas de alto riesgo biológico el lavamanos debe permitir accionamiento con el pie, la rodilla o el codo.
- Restrinja el ingreso a las áreas de alto riesgo biológico al personal no autorizado, al que no utilice los elementos de protección personal necesarios y a los niños.
- La ropa contaminada con sangre, líquidos corporales u otro material orgánico debe ser enviada a la lavandería en bolsa plástica roja.
- Disponga el material patógeno en bolsas resistentes de color rojo que lo identifique con símbolo de riesgo biológico.
- En caso de accidente de trabajo con material corto punzante haga el reporte inmediato de accidente de trabajo.
- Los trabajadores sometidos a tratamiento con inmunosupresores no deben trabajar en áreas de riesgo biológico.

## 2.6. PROCEDIMIENTO

### 2.6.1. PROTOCOLO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE ORINA

#### GRÁFICO Nº 2.16

#### 16 TOMA DE MUESTRA DE ORINA DE LAS DIFERENTES CASAS DE SALUD DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA



Gráfico N° 2.

C



D



Autor: Fonseca Daniel

**A.- HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE CHIMBORAZO** casa de salud de la ciudad de Riobamba lugar principal de donde proviene la mayoría de las muestras de orina que van hacer analizadas en el Laboratorios de Química Forense de la Policía Judicial de Chimborazo.

**B.- PACIENTE** que se encuentra siendo valorado por los médicos del hospital, posible intoxicado. Se registra los nombres completos del paciente, hora, fecha de entrega de la muestra y causa posible del percance. Se observa todos los cambios físicos que presenta el cuerpo del paciente.

**C.- LAS MUESTRAS DE ORINA** recolectadas se las traslada al laboratorio de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo en algunos casos son llevados por los agentes policiales y en otros casos son trasladados por los familiares de los pacientes que se encuentran en dicha casa asistencial de salud

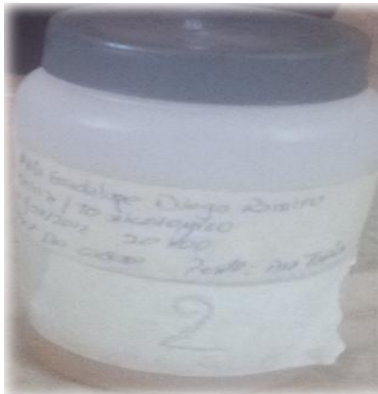
**D.- LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DE LA POLICA JUDICIAL DE CHIMBORAZO** lugar en el que se va a realizar los distintos análisis químicos para detectar la presencia o no de tóxicos en este caso de la presencia de benzodiazepinas en muestras de orina.

## 2.6.2. ROTULACIÓN

### GRÁFICO Nº 2.17

#### INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

A



Para un correcto análisis toxicológico debe constar con la siguiente información:

- Caso o Nombre
- Fecha y hora de la toma de muestra
- Agente Fiscal de turno
- Persona que toma la muestra
- Tipo de muestra
- Peso/Volumen(opcional)

Autor: Fonseca Daniel

A.- Muestra de orina rotulada correctamente.

## 2.6.3. CADENA DE CUSTODIA

Es el procedimiento legal que se debe seguir desde la toma de la muestra de orina hasta la entrega de los resultados de los análisis.

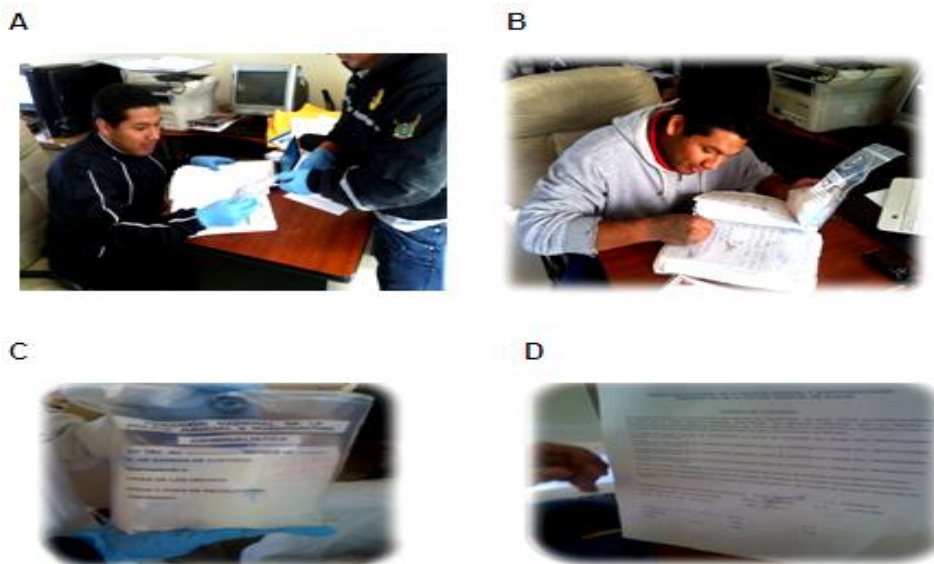
### Pasos a seguir

1. Se informa al señor Agente Fiscal de turno, para su respectiva comparecencia indispensable.
2. Se toma la muestra por el analista acreditado en presencia del señor Agente Fiscal quien autoriza la toma.
3. Se traslada la muestra al Laboratorio de análisis, por un miembro del Ministerio Público, agente, policía o analista.
4. Se entrega los resultados por parte del analista acreditado por el Ministerio Público al señor Agente Fiscal de turno, el cual solicita el análisis con fines investigativos.

## 2.6.4. RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

### GRÁFICO Nº 2.18

#### Gráfico Nº 2. 18 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico

**Autor:** Fonseca Daniel

A. Recepción de la muestra por el analista, mediante la respectiva cadena de custodia, a través de un agente policial.

B. Se registra las muestras.

C. Se verifica minuciosamente las características de las muestras recibidas en el laboratorio.

D. Hoja de la cadena de custodia firmada por los miembros competitivos.

#### LA HOJA DE CUSTODIA CONSTA DE:

- Nombre y número de cédula de la persona que entrega las muestras
- Fecha y hora de entrega
- Nombre y número de cédula de la persona que recibe las muestras



- Chequear que el número de referencia de cada muestra coincida con el formulario enviado.
- Comprobar la integridad de los precintos.
- Se abre los recipientes y comprobar que la identificación y descripción son correctas.
- Firma de los integrantes del proceso.

## 2.6.5. PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES, REACTIVOS Y REVELADORES

### ELABORACIÓN DEL ESTÁNDAR

Existe una alta variedad de benzodiazepinas que están en nuestro medio por tal manera se los ha clasificado a los más conocidos comercialmente, como:

- Tóxicos y
- Moderadamente tóxicos.

Las benzodiazepinas más comúnmente utilizadas en nuestro medio son 6, las mismas que derivan en un compuesto principal llamado oxacepam, metabolito que se utilizó como estándar base para el análisis tóxico de las muestras de orina.

<ul style="list-style-type: none"> <li>• BROMAZEPAM</li> <li>• CLONAZEPAM</li> <li>• ALPRAZOLAM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CLORDIAZEPOXIDO</li> <li>• DIAZEPAM</li> <li>• KETAZOLAM</li> </ul>
--	--

Entre los principales estándares cuyos principios activos son los siguientes:

## GRÁFICO Nº 2.19

Gráfico N° 2. 19 ESTÁNDARES



Autor: Fonseca Daniel

## GRÁFICO Nº 2.20

Gráfico N° 2. 20 ELABORACIÓN DE ESTÁNDARES



B

B<sub>1</sub>



C



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico

**Autor:** Fonseca Daniel

**A.-** Diferentes estándares utilizados en la presente investigación.

**B, B<sub>1</sub>-** Se prepara los mismos en concentraciones al 1% en metanol.

**C.-** Estándares listos para el análisis de benzodiazepinas en capa fina.

## 2.6.6. PREPARACIÓN DEL REVELADOR

El revelador para benzodiazepinas es el reactivo de dragendorff. Este proporciona manchas naranjas, o amarillas dependiendo del tipo de benzodiazepina.

### GRÁFICO Nº 2.

Gráfico Nº 2. 21 ELABORACIÓN DEL REVELADOR



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico

**Autor:** Fonseca Daniel

## **METODO 1**

- A.** Se mezcla 1.3g de Nitrato de bismuto (III) + 60 ml de agua + 10 ml de ácido acético glacial
- B.** Añadir 1.2g de ioduro de potasio en 30 ml de agua
- C.** Mezclar A y B y aforar a 100 ml con agua destilada
- D.** Después de aforar, mezclar bien y está listo el revelador
- E.** Se coloca la preparación en un frasco ámbar para evitar el contacto de los rayos ultravioleta para su conservación.

## **METODO 2**

- A.** Se mezcla 1g de Nitrato de bismuto (III) + 3 ml de ácido clorhídrico 10 M.
- B.** Añadir 1g de ioduro de potasio + 15 ml de ácido acético glacial
- C.** Mezclar A y B y aforar a 100 ml con agua destilada luego colocar la preparación en un frasco ámbar para evitar el contacto de los rayos ultravioleta para su conservación.

## 2.6.7. EXTRACCIÓN

### 2.6.7.1. EXTRACCIÓN LÍQUIDO – LÍQUIDO

#### GRÁFICO Nº2.22

Gráfico N° 2. 22 EXTRACCIÓN DEL METABOLITO DE LAS  
BENZODIACEPINAS PARTIR DE LA MUESTRA DE ORINA

A



B



C



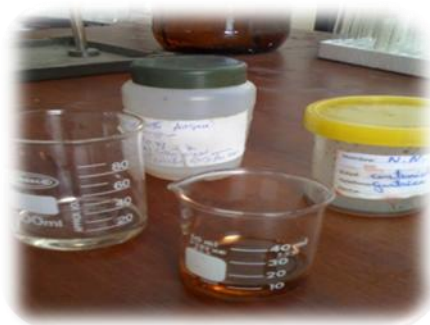
D



E



F



G



H



H<sub>1</sub>



I



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico  
**Autor:** Fonseca Daniel

- A.** Muestra de orina, presenta poca interferencia, la cual se extrae con diferentes solventes extractores el más usado es el cloroformo.
- B.** Se emplea para el proceso un embudo de separación, se añade la muestra de orina y el solvente extractor (cloroformo) en una proporción 1:1.(30 ml de muestra + 30 ml de cloroformo) y añadimos unas gotas de hidróxido de sodio al 1% para llevar la preparación a un Ph 9.
- C.** Se agita el embudo con el contenido durante 5' con constante movimiento, permitiendo que el solvente extractor obtenga la mayor concentración de la benzodiacepina
- D.** Se separa la fase acuosa y orgánica.
- E.** Se extrae la fase orgánica que contiene la benzodiacepina.
- F.** Benzodiacepina extraída más solvente extractor para posterior análisis.
- G.** Se deja evaporar a temperatura de 40 o 50 °C llevando la preparación la Sorbona (estar pendiente de la evaporación para que no se quemé el residuo que queda en el vaso de precipitación).
- H. H<sub>1</sub>.** Se re disuelve el residuo de benzodiacepina con 0.5 – 1 ml de metanol y luego se procede a poner la disolución en tubos de ensayo q posteriormente deben ser refrigerados hasta el momento de la aplicación en las placas de sílica gel.
- I.** Muestra lista para la aplicación por cromatografía de capa fina.

## 2.6.8. IDENTIFICACIÓN

### 2.6.8.1. MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

#### 2.6.8.1.1. PREPARACIÓN DE LOS CAPILARES

#### GRÁFICO Nº 2.23

Gráfico N° 2. 23 REDUCCIÓN DE LOS CAPILARES

A



B



C



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico  
**Autor:** Daniel Fonseca

**A.** Se somete el capilar a la acción del calor en el centro de la llama del mechero.

**B.** Se separa en dos partes por efecto de la temperatura, con un extremo terminado en punta.

**C.** Capilares con un diámetro menor, listos para ser aplicados en la placa de sílica gel.



### 2.6.8.1.2. PREPARACIÓN DE LA PLACA SÍLICA GEL

#### GRÁFICO Nº 2.24

Gráfico N° 2 . 24 ELABORACIÓN DE LA PLACA

A



B



Fotografías: Laboratorio de Análisis Toxicológico

Autor: Daniel Fonseca

**A.** Se corta la placa de sílica gel con un tamaño de 10cm de alto y el ancho dependerá del número de muestras que van hacer analizadas.

**B.** Se traza una línea desde la base inferior a la superior a una distancia de 1.5 cm.

Se rotula la placa sílica gel para las muestras y estándares.

### 2.6.8.1.3. PREPARACIÓN DEL SISTEMA DE SOLVENTES

Para preparar el sistema de solventes se debe tener en cuenta que los mismos van a pasar del estado líquido a un estado de vapor teniendo presente que la cuba cromatográfica este herméticamente cerrada, para posterior saturación. El sistema de solventes utilizado para esta investigación es:

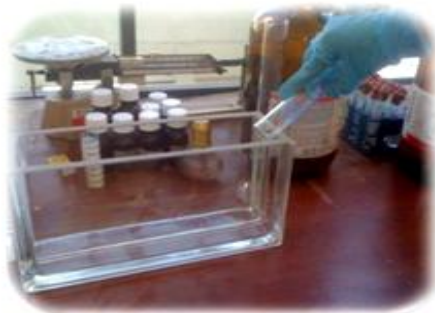
- Cloroformo : Acetona (1:1)
- **Metanol : Cloroformo (1:1)**

El sistema de solventes más utilizado es **Metanol: Cloroformo (1:1)**, debido a que tiene mayor afinidad con las benzodiazepinas, el cual permite que exista un mejor recorrido del sistema de eluyentes sobre la placa de sílica gel.

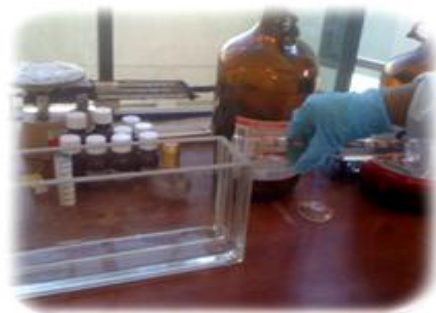
### GRÁFICO Nº 2.25

Gráfico N° 2. 25 ELABORACIÓN DEL SISTEMA DE SOLVENTES

**A**



**A<sub>1</sub>**



**B**



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico

**Autor:** Fonseca Daniel

**A. A<sub>1</sub>-** Se añade respectivamente los solventes en proporción (1:1)

**B.** Se tapa herméticamente la cuba cromatográfica.

**C.** Se mezcla para saturar los solventes en el interior de la cuba cromatográfica.

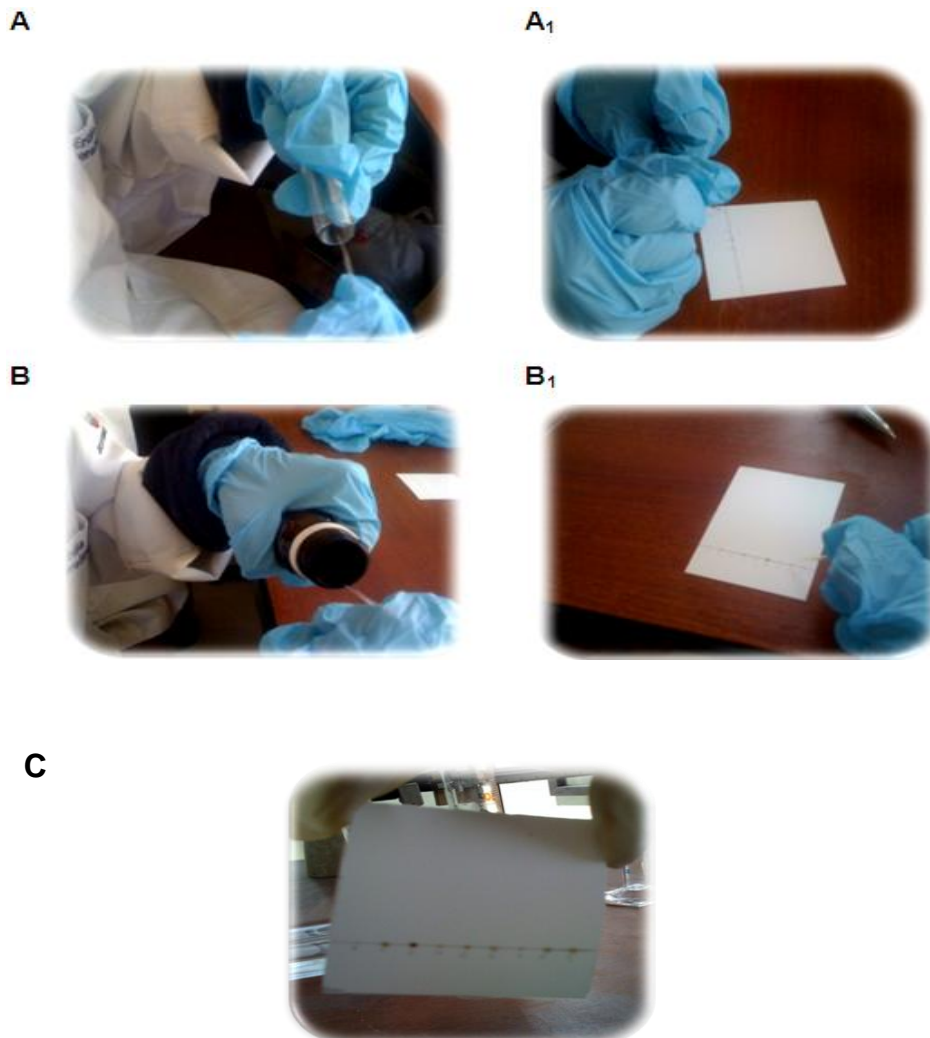
#### 2.6.8.1.4. DESARROLLO DE LA CROMATOGRAFÍA

- **Aplicación de las muestras y estándares en la placa**

Las aplicaciones de las muestras y estándares se deben hacer de 2 a 3 veces con un intervalo de 40 segundos por cada muestra

#### GRÁFICO Nº 2.26

Gráfico N° 2. 26 APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS Y ESTÁNDARES



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico  
**Autor:** Fonseca Daniel

**A, A<sub>1</sub>.**- Se absorbe la muestra en los capilares.

**B, B<sub>1</sub>.**- Se aplica los estándares en la sílica gel.

**C.**- Se deja secar la placa a temperatura ambiente.

**GRÁFICO Nº 2.27**  
**DESARROLLO CROMATOGRÁFICO**

**A**



**B**



**C**



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico

**Autor:** Daniel Fonseca

**A.-** Se introduce la placa de sílica gel que contiene las muestras en el interior de la cuba cromatográfica.

**B.-** Los estándares y muestras empiezan a interactuar entre la fase móvil y estacionaria por el principio de capilaridad y adsorción.

**C.-** Se retira la placa y se deja secar a temperatura ambiente.

## 2.6.9. REVELADO

### 2.6.9.1. REVELADOR FÍSICO

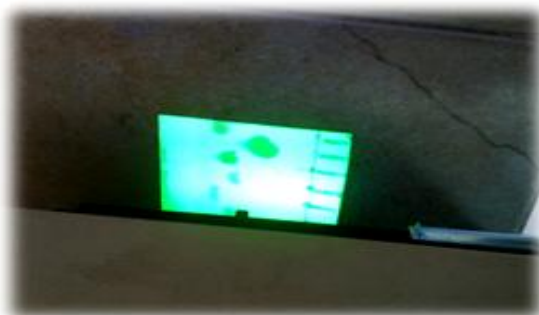
- **Lámpara Luz Ultravioleta**

Se utiliza la lámpara de luz ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm, y se observa la aparición de unas manchas fluorescentes de color violeta sobre un fondo blanco.

#### GRÁFICO Nº 2.28

Gráfico Nº 2. 28 REVELADO FÍSICO

A



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico

**Autor:** Daniel Fonseca

A.- Se revela con lámpara UV a 254 nm

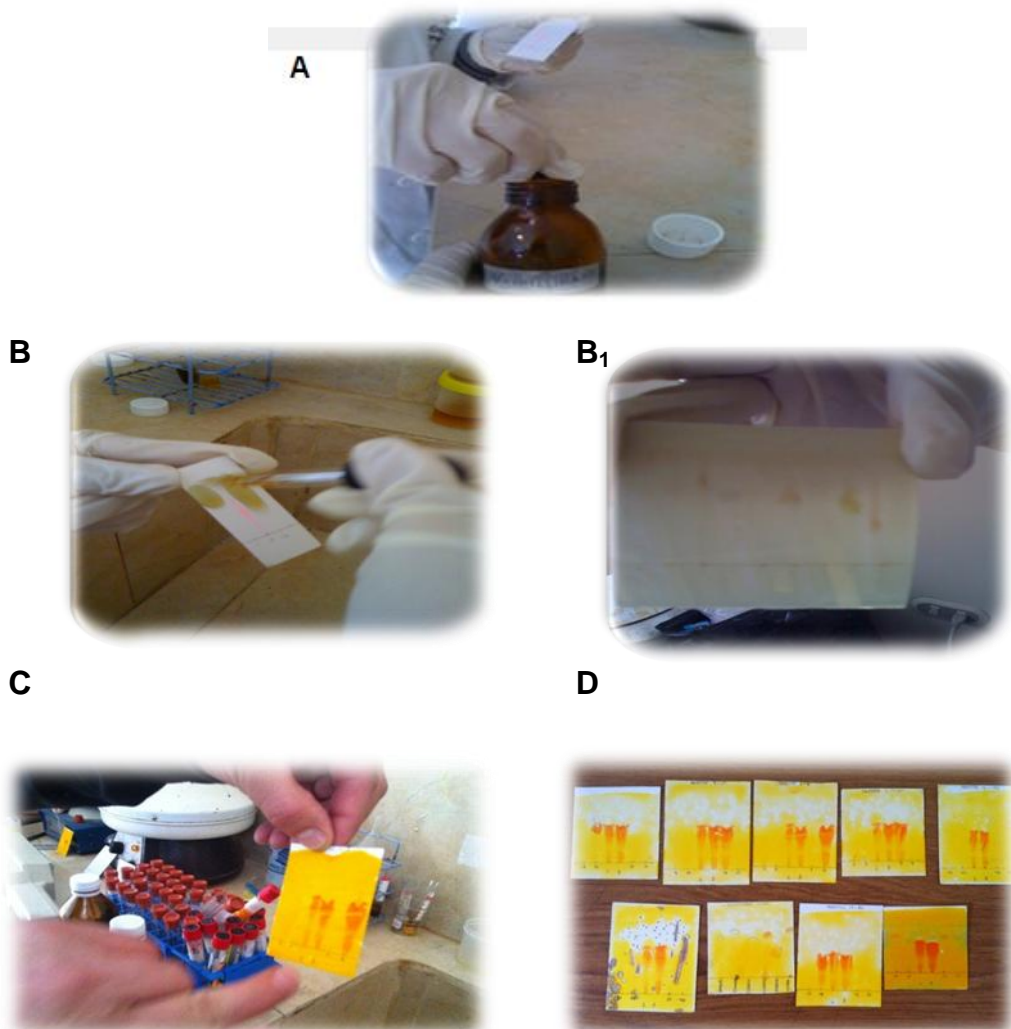
### 2.6.9.2. REVELADOR QUÍMICO

- **Reactivo de Dragendorff**

Mediante este reactivo aparecerán manchas de color naranja, que resulta positivo para los compuestos benzodiazepínicos

## GRÁFICO Nº 2.29

### Gráfico N° 2. 29 REVELADO QUÍMICO



**Fotografías:** Laboratorio de Análisis Toxicológico  
**Autor:** Fonseca Daniel

**A.-** Revelador químico dragendorff

**B, B1.-** Se coloca el revelador en la placa

**C.-** Se deja secar a temperatura ambiente.

**D.-** Placa revelada presentando manchas de color naranja para posterior cálculo del Rf (factor de retención).

## 2.7. RESULTADOS

### 2.7.1. CÁLCULO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS INVESTIGADAS MEDIANTE EL FACTOR DE RETENCIÓN

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

*R<sub>f</sub>* = factor de retención

DM= distancia recorrida por la muestra

DS =distancia recorrida por el sistema de solventes

## 2.8. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **Activación metabólica.** Biotransformación de una sustancia, de toxicidad relativamente baja, en un derivado tóxico
- **Adicción.** Afición y sometimiento al uso regular de una sustancia en busca de alivio, bienestar, estimulación o vigor, frecuentemente con desarrollo de necesidad de consumo.

- **Adsorción** Proceso por el cual una sustancia química queda total o parcialmente retenida en algún medio que impide que dicha sustancia siga distribuyéndose
- **Agente toxico** Cualquier agente químico o físico presente en los sistemas biológicos capaz de producir efectos nocivos una vez absorbido por los individuos que los habitan
- **Alucinación.** Estado en que el individuo cree que está percibiendo estímulos (luminosos, sonoros, etc.) que en realidad no existen; son frecuentes en las psicosis producidas por tóxicos y en algunas enfermedades mentales
- **Antídoto.** Sustancia capaz de contrarrestar o reducir el efecto de una sustancia potencialmente tóxica mediante una acción química relativamente específica<sup>1</sup>
- **Bioactivación.** Conversión metabólica de un xenobiótico a un derivado más tóxico.
- **Disolventes** Líquido en el cual puede ser disueltas otras sustancias, sólidas o Líquidas, para formar una solución
- **Psicofármaco.** Sustancia que modifica la actividad psíquica por diversos mecanismos, fundamentalmente por acción sobre el sistema nervioso central.
- **Reactivo** La descripción de como una sustancia suelta energía bajo ciertas condiciones (usualmente en la forma de calor).



- **Sedante.** Sustancia que ejerce un efecto calmante o tranquilizante. (Ansiolítico, anestésico narcótico)
- **Tóxico** Una sustancia que causa efectos biológicos adversos y posiblemente dañinos
- **Toxina.** Sustancia venenosa producida por un organismo, (microbio, animal o planta)
- **Toxicidad** Capacidad que tiene una sustancia para causar daño a un organismo vivo. Una sustancia altamente tóxica causará lesión a un organismo si se le administra en cantidades muy pequeñas y una sustancia de baja toxicidad no producirá efecto a menos que la cantidad administrada sea grande.

Sin embargo, no es posible definir la toxicidad en términos cuantitativos sin referirse a la cantidad de sustancia administrada o absorbida, la vía por la cual se administra esta cantidad (inhalación, ingestión, inyección)

- **Toxicidad Aguda** Se refiere a los efectos que ocurren inmediatamente después de la exposición a una sustancia tóxica.
- **Toxico-dinámica.** Proceso de interacción de una sustancia tóxica con los lugares diana, y las consecuencias bioquímicas y fisiopatológicas que conducen a los efectos tóxicos.
- **Toxico-cinética.** Expresión en términos matemáticos de los procesos que experimenta una sustancia tóxica en su tránsito por el cuerpo. Considera la velocidad de los procesos y las variaciones de las concentraciones de las sustancias originales y de sus metabolitos en los compartimientos.

- **Veneno** Una sustancia tóxica que puede causar muerte o enfermedad.
- **Xenobiótico** Un químico o mezcla química que es desconocida para el cuerpo
- **Volatilidad** Capacidad de un compuesto de evaporarse a una determinada presión y temperatura

## **2.9. HIPÓTESIS**

Determinación de benzodiazepinas en muestras de orina, mediante el método de cromatografía en capa fina que ingresan de las diferentes casas asistenciales de salud de la Provincia de Chimborazo al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

## **2.10. VARIABLES**

### **2.10.1. VARIABLE INDEPENDIENTE**

Cromatografía de capa fina

### **2.10.2. VARIABLE DEPENDIENTE**

Determinación de Benzodiazepinas

## 2.11. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Concepto	Categoría	Indicador	Técnica
<b>Variable Independiente</b>	Método analítico de separación en el cual los metabolitos se separan por la interacción de una Fase Móvil y una Fase Estacionaria mediante la capilaridad o adsorción	Separación de metabolitos	Determinación del factor de retención  Reveladores físicos y químicos	Observación de separación de metabolitos  Guía de observación
<b>Variable Dependiente</b>	Las <b>benzodiazepinas</b> son medicamentos psicotrópicos que actúan sobre el sistema nervioso central, Por ello se usan las benzodiazepinas en medicina para la terapia de la ansiedad, insomnio y otros estados afectivos, Los individuos que abusan de drogas estimulantes con frecuencia se administran benzodiazepinas para <i>calmar</i> su estado anímico	Depresor del sistema nervioso central	Somnolencia , Dificultades en la concentración, Problemas de coordinación, Debilidad muscular Confusión. Pérdida de memoria depresiones y embotamiento emocional aumenta el nerviosismo y la agresividad	Observación de separación de metabolitos  Guía de observación

FUENTE: Manual para el uso por laboratorios nacionales New York 1997

# **CAPÍTULO III**

# **MARCO METODOLÓGICO**

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. MÉTODO CIENTÍFICO

**Método deductivo:** Este método nos ayudará a determinar las causas y consecuencias que va a producir el problema de nuestra investigación.

**Método Inductivo:** Este método nos ayudará a determinar causas y consecuencias que originan el problema de nuestra investigación, dentro de la sociedad.

#### 3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

**Descriptiva:** Se procederá a realizar una descripción exacta del problema encontrado en el laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo.

**Explicativa:** Mediante el agotamiento de los recursos necesarios realizaremos una indagación previa utilizando la observación y la encuesta se detallara completamente y de manera eficiente todo el protocolo para dicho proceso.

### **3.3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

**De Campo:** Porque la investigación se llevara a cabo en un determinado lugar en donde el investigador y la muestra están realmente en contacto para que se pueda estudiar minuciosamente cada una de las características del fenómeno.

**Experimental:** La utilización del método de cromatografía de capa fina dentro del laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo, se constituye en la variable de estudio, la misma será observada tal como se da indicara en el protocolo, y será sujeta a manipulación por parte del investigador, siempre y cuando cuente con el debido conocimiento de las respectivas normas de bioseguridad en el laboratorio.

### **3.4. TIPO DE ESTUDIO**

#### **3.4.1. POBLACIÓN Y MUESTRA**

##### **3.4.1.1. POBLACIÓN**

Personas atendidas en las diversas casas asistenciales de salud de la provincia de Chimborazo en el periodo comprendido de junio – septiembre del 2012.

##### **3.4.1.2. MUESTRA**

Se trabajara con un promedio de 60 muestra de orina, que ingresan de las diferentes casas asistenciales de salud de la provincia de Chimborazo

al laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo.

### **3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se utilizarán cuestionarios o formularios de petición de exámenes del Laboratorio de química forense y los resultados emitidos por el laboratorio de la institución.

### **3.6. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.**

Las técnicas que se utilizarán cromatografía de capa fina en muestra de orina y se interpreta los resultados mediante la observación visual, microscópica y finalmente el respectivo reporte y entrega de resultados.

#### **3.6.1. Técnica**

Observación directa

#### **3.6.2. Instrumento**

Proceso de extracción

Método cualitativo

# **CAPÍTULO IV**

# **MARCO METODOLÓGICO**



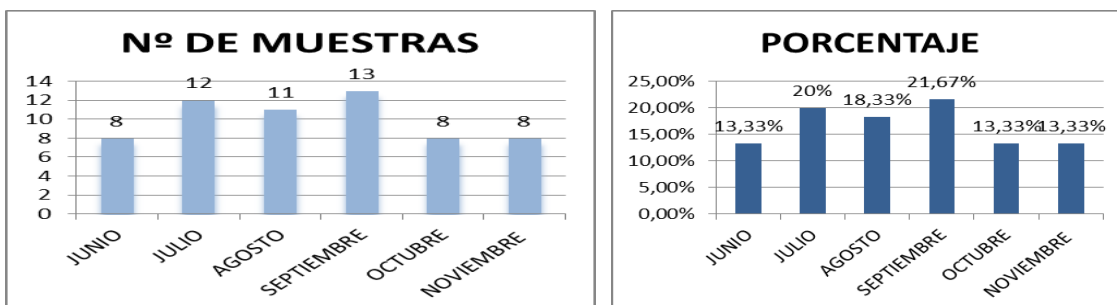
## CAPITULO IV

### 4. INTERPRETACION DE RESULTADOS

**Cuadro N° 4. 1 DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO DURANTE EL PERIODO DE JUNIO – NOVIEMBRE DEL 2012.**

NÚMERO DE MUESTRAS DE ORINA PARA EL ANÁLISIS DE BENZODIACEPINAS EN EL PERIODO JUNIO-NOVIEMBRE DEL 2012		
MESES	Nº DE MUESTRAS	PORCENTAJE
JUNIO	8	13.33%
JULIO	12	20%
AGOSTO	11	18.33%
SEPTIEMBRE	13	21.67%
OCTUBRE	8	13.33%
NOVIEMBRE	8	13.33%
TOTAL	60	100%

**NÚMERO DE MUESTRAS DE ORINA PARA EL ANÁLISIS DE BENZODIACEPINAS EN EL PERIODO JUNIO-NOVIEMBRE DEL 2012.**



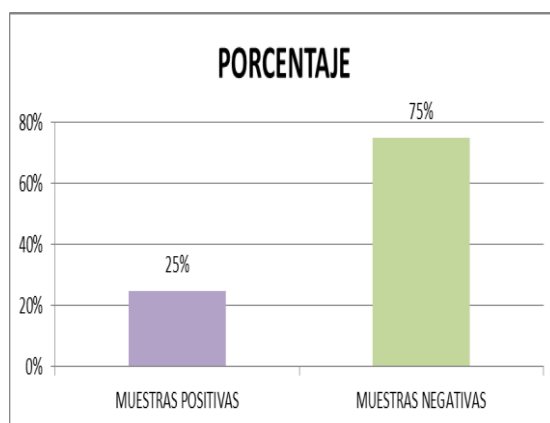
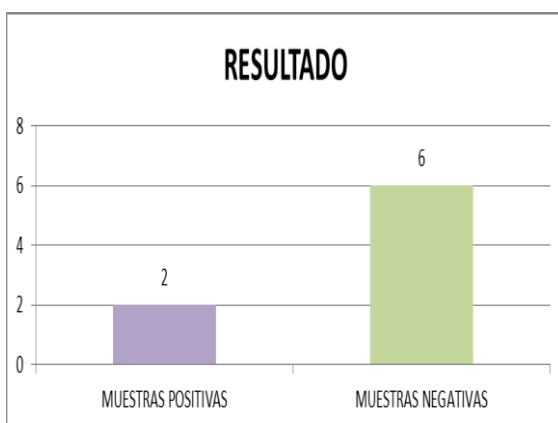
### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El análisis se basó en una población de 60 muestras que han ingresado al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo en el periodos junio - noviembre del 2012: el 13.33% corresponde al mes de junio, el 20% al mes julio, el 18.33% al mes de agosto, el 21.66% al mes de septiembre, el 13.33% al mes de octubre , y el 13.33% corresponde al mes de noviembre, presumiendo así que existe presencia de benzodiacepinas en orina con mayor cantidad de pacientes en el mes de julio y septiembre.

**Cuadro N° 4. 2 DATOS ESTADÍSTICOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS EN MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EN EL MES DE JUNIO- 2012**

<b>NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN JUNIO DEL 2012</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>2</b>	<b>25%</b>
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	<b>6</b>	<b>75%</b>
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>

**NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN JUNIO DEL 2012**



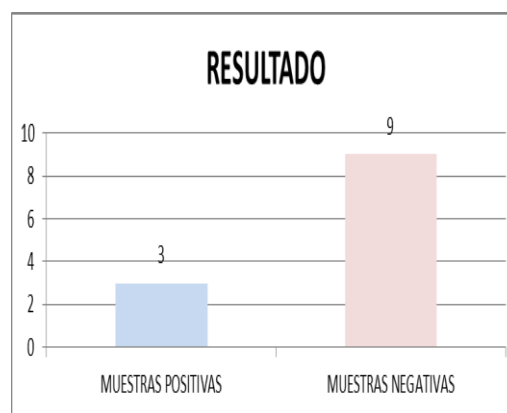
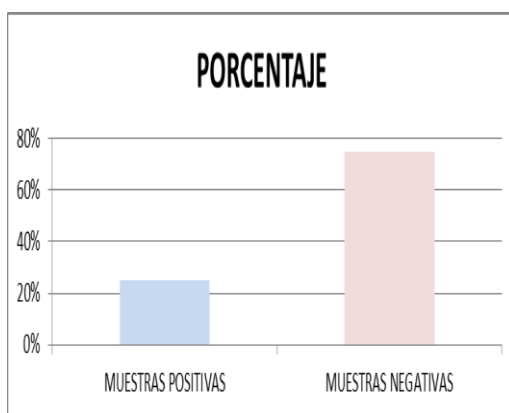
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

En el mes de Junio del 2012 ingresaron 8 muestras de las cuales 2 resultaron positivas para compuestos benzodiazepínicos, lo que significa el 25%, las 6 restantes resultaron negativas, es decir el 75% total analizadas.

**Cuadro N° 4. 3 DATOS ESTADÍSTICOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS EN MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EL MES DE JULIO DEL 2012**

<b>NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN JULIO DEL 2012</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>3</b>	<b>25%</b>
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	<b>9</b>	<b>75%</b>
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>12</b>	<b>100%</b>

**NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN JULIO DEL 2012**



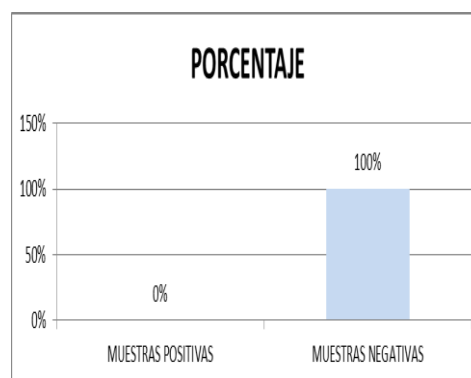
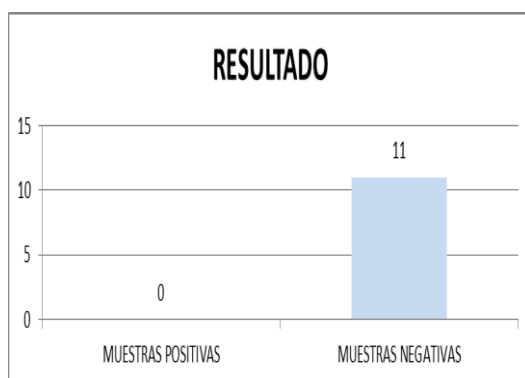
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

En el mes de Julio del 2012 ingresaron 12 muestras de las cuales 3 resultaron positiva para compuestos benzodiazepínicos, lo que significa el 25%, las 9 restantes resultaron negativas, es decir el 75% total analizadas

**Cuadro N° 4. 4 DATOS ESTADÍSTICOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS EN MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EN EL MES DE AGOSTO 2012**

<b>NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN AGOSTO DEL 2012</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>

**NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN AGOSTO DEL 2012**



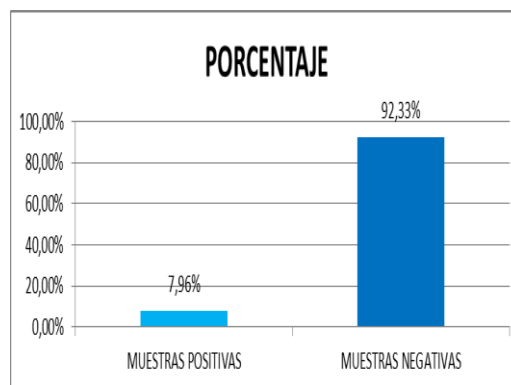
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

En el mes de Agosto del 2012 ingresaron 11 muestras de las cuales 0 resultó positiva para compuestos benzodiazepínicos, lo que significa el 0%, las 11 restantes resultaron negativas, es decir el 100% del total de muestras analizadas, tomando como conclusión que en este mes no se registraron percances de intoxicación por uso o abuso de los diferentes psicofármacos presentes en nuestro medio.

**Cuadro N° 4. 5 DATOS ESTADÍSTICOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS EN MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EN EL MES DE SEPTIEMBRE DEL 2012**

<b>NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN SEPTIEMBRE DEL 2012</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>1</b>	<b>7.96%</b>
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	<b>12</b>	<b>92.33%</b>
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>13</b>	<b>100%</b>

**NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN SEPTIEMBRE DEL 2012**



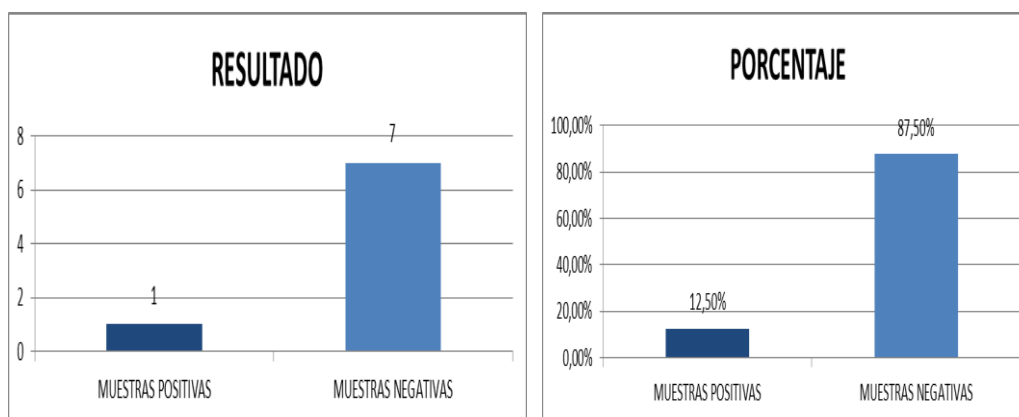
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

En el mes de Septiembre del 2012 ingresaron 13 muestras de las cuales 1 resultó positiva para compuestos benzodiazepínicos, lo que significa el 7.69%, las 12 restantes resultaron negativas, es decir el 92.33% total analizadas

**Cuadro N° 4. 6 DATOS ESTADÍSTICOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS EN MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EN EL MES DE OCTUBRE DEL 2012**

<b>NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN OCTUBRE DEL 2012</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>1</b>	<b>12.5%</b>
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	<b>7</b>	<b>87.5%</b>
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>

**NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN OCTUBRE DEL 2012.**



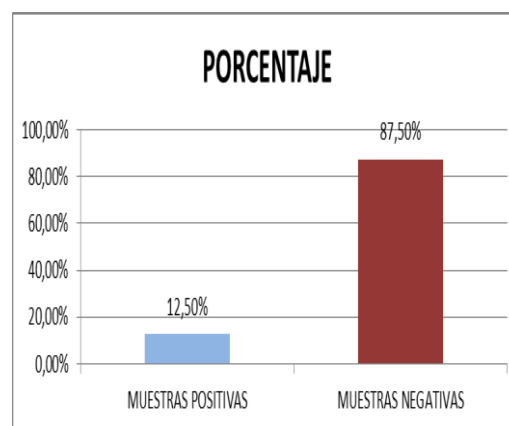
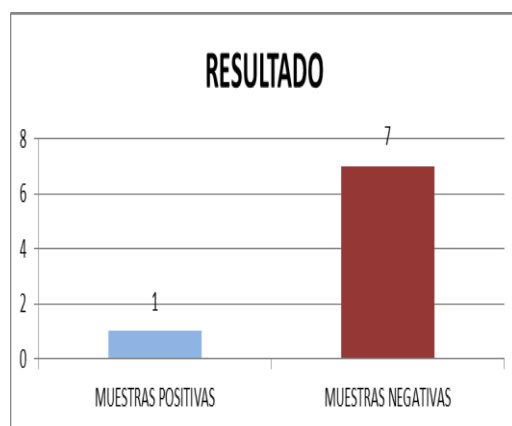
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

En el mes de Octubre del 2012 ingresaron 8 muestras de las cuales 1 resultó positiva para compuestos benzodiazepínicos, lo que significa el 12.5%, las 7 restantes resultaron negativas, es decir el 87.5% total analizadas.

**Cuadro N° 4. 7 DATOS ESTADÍSTICOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS EN MUESTRAS DE ORINA QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EN EL MES DE NOVIEMBRE DEL 2012**

<b>NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN NOVIEMBRE DEL 2012</b>		
<b>MUESTRAS</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>1</b>	<b>12.5%</b>
<b>MUESTRAS NEGATIVAS</b>	<b>7</b>	<b>87.5%</b>
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>

**NÚMERO DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE COMPUESTOS BENZODIACEPÍNICOS ANALIZADOS EN NOVIEMBRE DEL 2012**



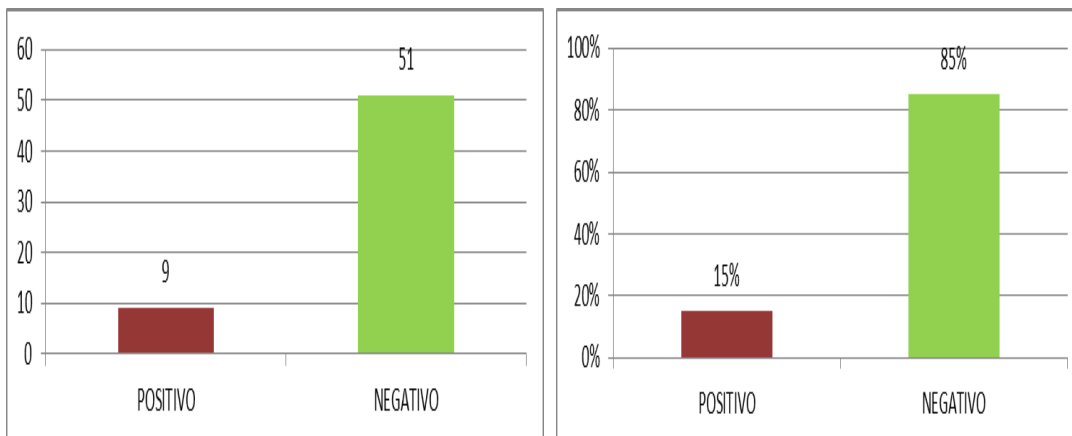
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

En el mes de Noviembre del 2012 ingresaron 8 muestras de las cuales 1 resultó positiva para compuestos benzodiazepínicos, lo que significa el 12.5%, las 7 restantes resultaron negativas, es decir el 87.5% total analizadas

**Cuadro N° 4. 8 DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA, POSITIVO Y NEGATIVO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO EN EL PERIODO DE JUNIO- NOVIEMBRE DEL 2012**

<b>DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA, POSITIVO Y NEGATIVO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE</b>			
	<b>Nº MUESTRA</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>TOTAL</b>	60	9	51
<b>PORCENTAJE</b>	100%	15%	85%

**DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA, POSITIVO Y NEGATIVO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO**



**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

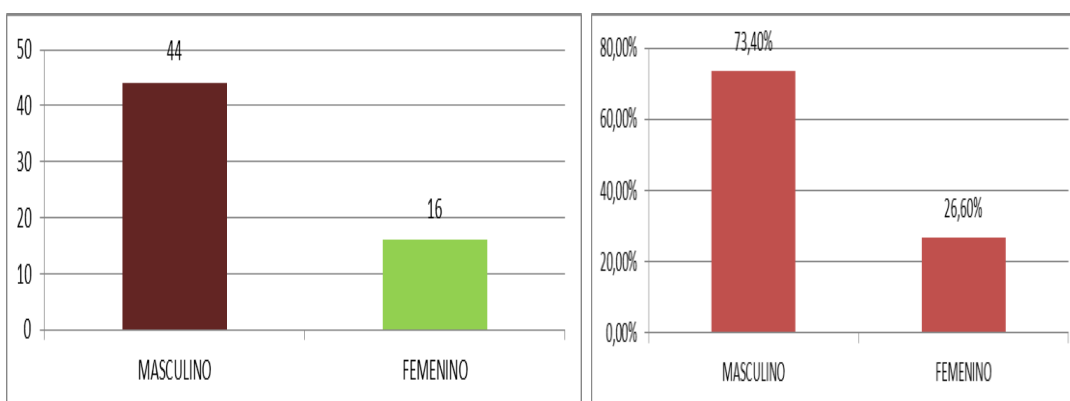
De las 60 muestras de Orina recolectadas desde junio a noviembre del 2012, se obtuvo 9 positivas para compuestos benzodiazepínicos, lo cual representa un 15%, y 51 negativas para compuestos benzodiazepínicos, lo cual representa un 85% del total analizado



**Cuadro N° 4. 9 DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA QUE PERTENECEN A PERSONAS DE SEXO MASCULINO Y FEMENINO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE EN EL PERIODO DE JUNIO-NOVIEMBRE DEL 2012.**

<b>DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA QUE PERTENECEN A PERSONAS DE SEXO MASCULINO Y FEMENINO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE</b>			
	<b>Nº MUESTRA</b>	<b>MASCULINO</b>	<b>FEMENINO</b>
<b>TOTAL</b>	60	44	16
<b>PORCENTAJE</b>	100%	73.40%	26.60%

**DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA QUE PERTENECEN A PERSONAS DE SEXO MASCULINO Y FEMENINO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO**

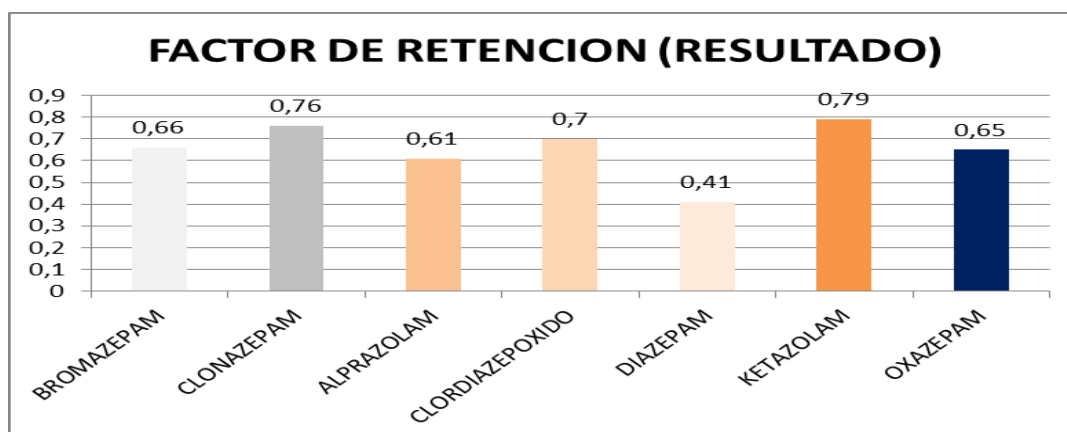


**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

De las 60 muestras de Orina recolectadas desde junio a noviembre del 2012, se obtuvo 44 que pertenecen a personas de sexo masculinos, lo cual representa un 73.40%, y 16 muestras pertenecen a personas de sexo femeninos, lo cual representa un 26.60% del total recolectado. Siendo así los de género masculino los consumidores principales y mayoritarios de este tipo de droga o toxico cabe indicar que las benzodiazepinas son utilizados no solo en el tratamiento de las personas que presentan algún tipo de enfermedad a nivel del sistema nervioso central, sino con la finalidad de ocasionar daños al ser vivo ya sea en robos, violaciones, homicidios, debido a que son sustancias que son utilizadas como hipnóticos, sedantes o tranquilizantes. Cabe indicar que existe gran cantidad de personas que han utilizado estas sustancias para auto-eliminarse (suicidios), ya sea por causa de problemas de índole económico, sentimental, social u otros.

**Cuadro N° 4. 10 DATOS ESTADÍSTICOS DE LOS FACTORES DE RETENCIÓN DE LOS ESTÁNDARES QUE SE UTILIZARON PARA LA DETERMINACIÓN DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA.**

ESTANDAR	OPERACIÓN	FACTOR DE RETENCIÓN (RESULTADO)
BROMAZEPAM	$RF = \frac{26}{39}$	$RF = 0.66$
CLONAZEPAM	$RF = \frac{30}{39}$	$RF = 0.76$
ALPRAZOLAM	$RF = \frac{24}{39}$	$RF = 0.61$
CLORDIAZEPOXIDO	$RF = \frac{24.5}{39}$	$RF = 0.70$
DIAZEPAM	$RF = \frac{16}{39}$	$RF = 0.41$
KETAZOLAM	$RF = \frac{31}{39}$	$RF = 0.79$
OXAZEPAM	$RF = \frac{25}{38}$	$RF = 0.65$



### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

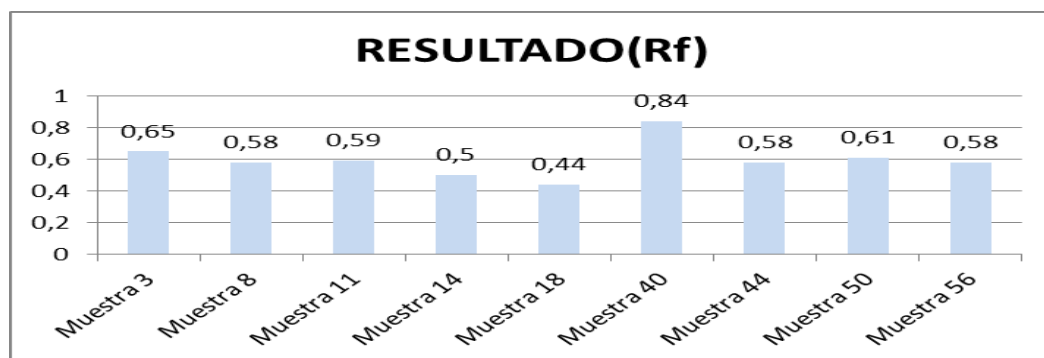
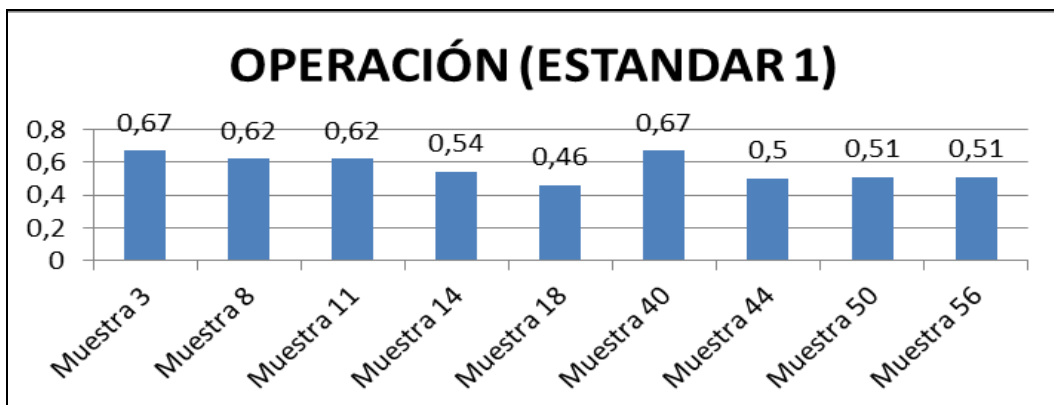
Los factores de retención (Rf) de los estándares utilizados para la determinación de compuestos benzodiazepínicos en muestras de orina, presentan resultados con un pequeño intervalo de diferencia para la identificación de dichos compuestos.

**Cuadro N° 4. 11 DATOS ESTADÍSTICOS DE LOS FACTORES DE RETENCIÓN (Rf) DE LAS MUESTRAS QUE RESULTARON POSITIVAS PARA LA DETERMINACIÓN DE BENZODIACEPINAS (METABOLITO OXAZEPAM) EN MUESTRAS DE ORINA.**

Nº MUESTRA	OPERACIÓN (ESTANDAR 1)	OPERACIÓN (ESTANDAR 2)	RESULTADO (Rf)
Muestra 3	$RF = \frac{25.5}{38}$ $RF = 0.67$	$RF = \frac{25}{38}$ $RF = 0.65$	$RF = \frac{25}{38}$ $RF = 0.65$
Muestra 8	$RF = \frac{28}{45}$ $RF = 0.62$	$RF = \frac{26}{45}$ $RF = 0.57$	$RF = \frac{26.5}{45}$ $RF = 0.58$
Muestra 11	$RF = \frac{29.5}{47}$ $RF = 0.62$	$RF = \frac{29}{47}$ $RF = 0.61$	$RF = \frac{28}{47}$ $RF = 0.59$
Muestra 14	$RF = \frac{25}{46}$ $RF = 0.54$	$RF = \frac{25}{46}$ $RF = 0.54$	$RF = \frac{23}{46}$ $RF = 0.5$
Muestra 18	$RF = \frac{23}{50}$ $RF = 0.46$	$RF = \frac{22.5}{50}$ $RF = 0.45$	$RF = \frac{22}{50}$ $RF = 0.44$

Muestra 40	$RF = \frac{29.5}{44}$ $RF = 0.67$	$RF = \frac{30}{44}$ $RF = 0.68$	$RF = \frac{37}{44}$ $RF = 0.84$
Muestra 44	$RF = \frac{25.5}{51}$ $RF = 0.5$	$RF = \frac{25}{51}$ $RF = 0.49$	$RF = \frac{30}{51}$ $RF = 0.58$
Muestra 50	$RF = \frac{20}{39}$ $RF = 0.51$	$RF = \frac{19.5}{39}$ $RF = 0.5$	$RF = \frac{24}{39}$ $RF = 0.61$
Muestra 56	$RF = \frac{20}{39}$ $RF = 0.51$	$RF = \frac{19.5}{39}$ $RF = 0.5$	$RF = \frac{23}{39}$ $RF = 0.58$

**Cuadro N° 4. 12 DATOS ESTADÍSTICOS DE LOS FACTORES DE RETENCIÓN DE LAS MUESTRAS QUE RESULTARON POSITIVAS PARA LA DETERMINACIÓN DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS DE ORINA**

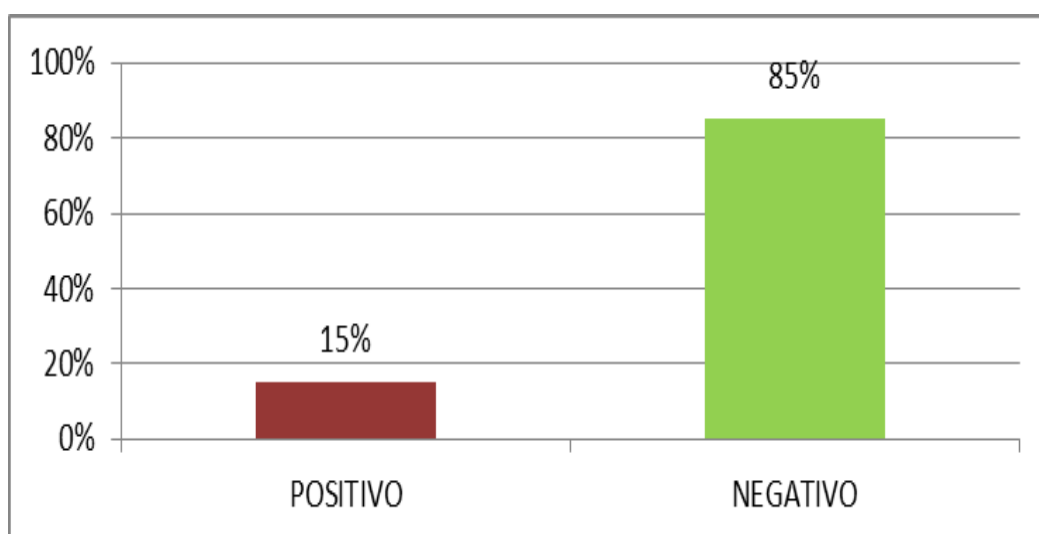


### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El factor de retención de las muestras de orina 3, 8, 11, 14, 18, 40, 44, 50, 56 que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo, presentan valores aproximados a los estándares, lo que nos indica que se trata de compuestos benzodiazepínicos.

**Cuadro N° 4. 13 COMPROBACION DE HIPOTESIS.**

<b>DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS MUESTRAS DE ORINA, POSITIVO Y NEGATIVO QUE INGRESARON AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE</b>			
	<b>Nº MUESTRA</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>TOTAL</b>	60	9	51
<b>PORCENTAJE</b>	100%	15%	85%



De acuerdo al estudio realizado en la presente investigación se determinó que de las 60 muestras de orina que se analizaron en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, 9 muestras de orina resultaron positivas para compuestos benzodiazepínicos lo que corresponde a un 15% de la totalidad de las muestras analizadas, comprobando así la hipótesis de la presente investigación, demostrada por la incidencia del consumo de los diferentes psicofármacos que están en nuestro medio siendo los consumidores mayoritarios las personas de género masculino, ya sea para usos médicos o delictivos.

# **CAPÍTULO V**

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## **CAPÍTULO V**

### **5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1. CONCLUSIONES**

- Mediante esta investigación se adquirió mayor conocimiento acerca de la toxico-cinética (absorción, distribución, metabolismo y excreción) del tóxico, siendo los órganos más afectados el riñón y el baso,
- A través de la extracción liquido – liquido se realizó la purificación de los compuestos benzodiazepínicos a partir de muestras de orina que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, obteniendo un alto grado de concentración y pureza del tóxico que conlleva a resultados satisfactorios durante el análisis cualitativo.
- Por medio de la cromatografía en capa fina (prueba cualitativa confirmatoria), para la identificación de los compuestos benzodiazepínicos y al realizar los cálculos de los respectivos factores de retención ( $R_f$ ), se determinó la presencia o ausencia de este tóxico en muestras de orina.
- En el presente trabajo investigativo se realizó el análisis a 60 muestras (orina) para la identificación de compuestos benzodiazepínicos, de las cuales 9 muestras fueron positivas, lo que corresponde al 15% mientras que 51 muestras resultaron negativas, lo que corresponde al 85 %, por lo consiguiente existió un alto grado de incidencia de intoxicación en persona que se han encontrado relacionadas directa o indirectamente por estas sustancias nocivas por diferentes causas o factores personales o externos.



## 5.2. RECOMENDACIONES

- Al realizar los análisis se debe tomar en cuenta las normas de bioseguridad para evitar posibles contaminaciones debido a que todas las muestras que ingresan al laboratorio son potencialmente peligrosas.
- Al realizar la extracción de la muestra se debe utilizar las cantidades exactas tanto del solvente extractor como de la muestra para poder obtener el tóxico libre de impurezas.
- Se debe aplicar los protocolos correctamente al realizare el análisis y así obtener resultados satisfactorios.
- Al realizar la aplicación de las muestras se debe evitar tocar la placa de sílica gel con los dedos porque esto interfiere en el revelado y en los resultados.
- Al momento de preparar el reactivo revelador el nitrato de bismuto (III) debe ser pesado en cantidades exactas para evitar tener falsos negativos.
- Se debe trabajar en un lugar ventilado debido a que las muestras y reactivos con los que se trabajan son altamente tóxicos.
- El material utilizado para los análisis deben ser lavados y esterilizados inmediatamente después de su uso.

# **CAPÍTULO VI**

# **BIBLIOGRAFÍA**

## CAPITULO VI

### 6. BIBLIOGRAFÍA

- DUFFUS John, Toxicología Ambiental, 1 Edición Omega S.A
- Daniel Fernández Intoxicación por benzodiazepinas, Vol. 18
- GARCIA Alejandro, Toxicología General apuntes básicos, Edición 1975
- GISBERT, J Medicina Legal y Toxicología III Edición
- REPPETO, Manuel, Toxicología Fundamental IV Edición
- Report of the Expert Group on Recommended Methods for Testing Cannabis and Amphetamine/Methamphetamine Analysis, E/CN.7/1987/8.
- Report of the International Conference on Drug Abuse and Illicit Trafficking (United Nations Publication, Sales No, E.87.1.18), para 84.
- Report of the Expert Group on Guidelines for the Establishment of National Testing Programmes and Laboratories for Drugs of Abuse in Body Fluids, E/CN.7/1988/CRP.5, para 42.
- Commission on Narcotic Drugs, Report of the Tenth Special Session, E/1988/13-E/CN.7/1988/14, para 236 (b).
- Recommended Guidelines for Quality Assurance and Good Laboratory Practices, Manual for Use by National Laboratories, ST/NAR/25, United Nations, 1995.
- Recommended Methods for Testing Barbiturate Derivates under International Control, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/18, United Nations, 1989.
- Recommended Methods for Testing Benzodiazepine Derivatives under International Control, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/16, United Nations, 1988.
- Recommended Methods for the Detection and Assay of Heroin, Cannabinoids, Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine and Ring-Substituted Amphetamine Derivatives in Biological Specimens, Manual for Use by National Laboratories, ST/NAR/27, United Nations, 1995.
- E/INCB/1995/W.16, S9th Session, 30 October-16 November 1995.

- Multilingual Dictionary of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances under International Control, ST/NAR/1/REV. I (United Nations Publication, Sales No. E/F/S.93.XI.2).
- Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw-Hill, New York, 1996.
- Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G., Medical Toxicology, Elsevier Science Publishing Company, New York, 1988.
- Fraser, D.B., Tomlinson, J., Satzger, R.D., Analysis of black pearl and other herbal preparations, Proceedings of the AAFS Meeting, Seattle, 1995, 208.
- Tang, B.K., Ineba, T., Kalow, W., Ar-hydroxylation of pentobarbital in man. Drug Metab. Disp. 5,71-74(1977).
- Baldeo, W.C., Gibert, J.N., Powell, J.W., Multidose studies k the human metabolism of pentobarbitone, Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 5, 75-80 (1980).
- Therapeutic Drugs, Dollery, C. (Ed.), Churchill Livingstone, Edinburgh, 1991.
- Whyte, M.P., Dekaban, A.S., Metabolic fate of phenobarbital: A quantitative study of p-hydroxy-phenobarbital elimination in man, Drug Metab. Dist. 5, 63-70 (1977).
- Butler, T.C., Mabaffee, C., Waddell, W.J., Phenobarbital: Studies of elimination, accumulation, tolerance, and dosage schedules, J. Pharmacol. Exp. Therap. 111, 425-435 (1954).
- Harvey, D J., Glazener, L., Stratton, C. et al., Detection of a 5-(3,4-dihydroxy-1,5-cyclohexadien-1-yl)-metabolite of phenobarbital and mephobarbital in rat, guinea pig and human. Res. Comm. Chem. Phann. 3. 557-565 (1972).
- Tang, B.K., Kalow, W., Grey, A.A., Metabolic fate of phenobarbital in man: N-glucoside formation, Drug Metab. Disp. 7, 315-318 (1979).
- Clarke's Isolation and Identification of Drugs, 2nd Edition, Moffat, A.C. (Ed.), the Phannaceutical Press, London, 1986.
- Stead, A.H., Moffat, A.C., A collection of therapeutic, toxic and fatal blood drug concentrations in man, Human Toxicol. 3, 437-464 (1983).

- Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 3rd Edition, Baselt, R.C., Cravey, R.H. (Ed.), Year Book Medical Publishers, New York, 1989.
- The Bulletins of the International Association of Forensic Toxicologists.
- Schramm, W., Smith, R.H., Craig, P., Kidwell, D.A., Drugs of abuse in saliva: A review, *J. Anal. Toxicol.* 16, 1-9 (1992).
- Chan, E.M., Chan, S.C., Screening for acidic and neutral drugs by high performance liquid chromatography in postmortem blood, *J. Anal. Toxicol.* 8, 173-176 (1984).
- Mulé, S.J., Casella, G.A., Confirmation and quantitation of barbiturates in human urine by gas chromatography/mass spectrometry, *J. Anal. Toxicol.* 13, 13-16 (1989).
- Mangin, P., Lugnier, A.A., Chaumont, A.J., A polyvalent method using HPLC for screening and quantification of 12 common barbiturates in various biological materials, *J. Anal. Toxicol.* 11, 27-30 (1987).
- Chen, X.-H., Franke, J.-P., Wijsbeek, J., de Zeeuw, R.A., Isolation of acidic, neutral, and basic drugs from whole blood using a single mixed-mode solid-phase extraction column, *J. Anal. Toxicol.* 16, 351-355 (1992).
- Maurer, H., Identification and differentiation of barbiturates, other sedative-hypnotics and their metabolites in urine integrated in a general screening procedure using computerized gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* 530, 307-326 (1990).
- Bailey, D.N., Kelner, M., Extraction of acidic drugs from water and plasma: study of recovery with five different solvents, *J. Anal. Toxicol.* 8, 26-28 (1984).
- Lillsund, P., Michelson, L., Forsstrom, T., Korte, T., Schultz, E., Ariniemi, K., Portman, M., Sihvonen, M.-L., Seppala, T., Comprehensive drug screening in blood for detecting abused drugs or drugs potentially hazardous for traffic safety, *Forensic Sci. Int.* 77, 191-210 (1996).
- Baselt, R.C., Analytical Procedures for Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology, PSG Publishing Co. Inc..

- Wallace, F.E., Hall, L.R., Haris, S.C., Determination of pentobarbital and certain other barbiturates by capillary gas-liquid chromatography, *J. Anal. Toxicol.* 7, 178-180 (1983).
- Budd, R.D., Mathis, D.F., GLC screening and confirmation of barbiturates in postmortem blood specimens, *J. Anal. Toxicol.* 6, 317-320 (1982).
- Logan, B.K., Stafford, D.T., Liquid/solid extraction on diatomaceous earth for drug analysis in postmortem blood, *J. Forensic Sci.* 34, 553-64 (1989).
- Liu, R.H., McKeehan, A.M., Edwards, C. et al., Improved gas chromatographic/mass spectrometry analysis of barbiturates in urine using centrifuge-based solid-phase extraction, methylation, with d-pentobarbital as internal standard, *J. Forensic Sci.* 39, 1504-1514 (1994).
- Pocci, R., Dixit, V., Dual, V.M., Solid phase extraction and GC/MS confirmation of barbiturates from human urine, *J. Anal. Toxicol.* 16, 45-47 (1992).
- Anderson, W.H., Fuller, D.C., A simplified procedure for the isolation, characterisation, and identification of weak acid and neutral drugs from whole blood, *J. Anal. Toxicol.* 11, 198-204 (1987).
- Ferrara, S.D., Tedeschi, L., Frison, G., Castagna, F., Solid-phase extraction and HPLC-UV confirmation of drugs of abuse in urine, *J. Anal. Toxicol.* 16, 217-222 (1992).
- Armbruster, D.A., Schwarzhoff, R.H., Hubster, E.C., Liserio, M.K., Enzyme immunoassay, kinetic microparticle immunoassay, radioimmunoassay, and fluorescence polarization immunoassay compared for drugs-of-abuse screening, *Clin. Chem.* 39, 2137-2146 (1993).
- McElwee, D.J., A new method for the detection of sedative drugs on thin-layer chromatograms using chlorine vapors and 2,7-dichlorofluorescein, *J. Anal. Toxicol.* 3, 266-268 (1979).
- Thin-Layer Chromatographic R, Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems, DFG/TIAFT, VCH Verlagsgesellschaft (Weinheim), 1987.

- Curry's Poison Detection in Human Organs, 3rd Edition, (Charles C. Thomas), 1976.
- The Analysis of Drugs of Abuse, Gough, T. (Ed.), John Wiley & Sons, New York.
- Jack, D.B., Drug Analysis by Gas Chromatography, Academic Press, Orlando, 1984.
- Gambaro, V., Mariai, R., Marozzi, E., Flash alkylation for the identification of barbiturates in biological material, *J. Anal. Toxicol.* 6, 321-323 (1982).
- Barbour, A., GC/MS analysis of propylated barbiturates, *J. Anal. Toxicol.* 15, 214-215 (1991).
- Joern, W.A., Unexpected volatility of barbiturate derivatives: An extractive alkylation procedure for barbiturates and benzoylecgonine, *J. Anal. Toxicol.* 18, 423 (1994).
- Gill, R., Stead, A.H., Moffat, A.C., Identification of drugs by the effective combination of gas-liquid, high-performance liquid and thin-layer chromatographic techniques, *J. Chromatogr.* 204, 275-284 (1981).
- Coudoré, F., Alazard, J.-M., Paire, M., Andraud, G., Lavarenne, J., Rapid toxicological screening of barbiturates in plasma by wide-bore capillary gas chromatography and nitrogen-phosphorus detection, *J. Anal. Toxicol.* 17, 109-113 (1993).
- Jupp, M., Gill, R., Osselton, D., Comparison of drug retention indices determined by packed, wide bore capillary and narrow bore capillary columns, *J. Forensic Sci.* 32, 1574-1586 (1987).
- Gill, R., Moffat, A.C., Smith, R.M., Hurdley, T.G., A collaborative study to investigate the retention reproducibility of barbiturates in HPLC with a view to establishing retention databases for drug identification, *J. Chromatogr. Sci.* 24, 153-159 (1986).
- Hagan, R.L., Clarification of benzodiazepine structural classes, *J. Anal. Toxicol.* 19, 58 (1995).
- Hagan, R.L., Annelated benzodiazepines: A brief overview of their chemistry, disposition and analysis, *California Association of Toxicologists Newsletter* 1995, 22-33.

- Klotz, U., Kangas, L., Kanto, J., Clinical Pharmacokinetics of Benzodiazepines, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1980.
- Haefely, W., The biological basis of benzodiazepine actions, J. Psychoactive Drugs 15, 9-39 (1983).
- Haefely, W., Structure and function of the benzodiazepine receptor, Chimia 41, 389-396 (1987).
- Casas, M., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., Solid phase extraction of 1,4-benzodiazepines from biological fluids, J. Pharm. Biomed. Anal. 11, 277-284 (1993).
- Mußhoff, F., Daldrup, T., A rapid solid phase extraction and HPLC/DAD procedure for simultaneous determination and quantitation of different benzodiazepines in serum, blood and postmortem blood, Int. J. Legal Med. 105, 105-109 (1992).
- Lin, Z., Beck, O., Procedure for verification of flunitrazepam and nitrazepam intake by gas chromatographic-mass spectrometric analysis of urine, J. Pharm. Biomed. Anal. 13, 719-722 (1995).
- Spiehler, V., Hand, C., Cross reactivity in the DPC serum and urine benzodiazepine radioimmunoassays, California Association of Toxicologists Newsletter, 1991, 2-3.
- Lewellen, L., McCurdy, H., A novel procedure for the analysis of drugs in whole blood by homogenous enzyme immunoassay (EMTT), J. Anal. Toxicol. 12, 260-264 (1988).
- Asselin, W.M., Leslie, J.M., McKinley, B., Direct detection of drugs of abuse in whole hemolyzed blood using EMTT d.a.u. urine assays, J. Anal. Toxicol. 12, 207-215 (1988).
- Kintz, P., Mangin, P., Plasma determination of flumazenil, a benzodiazepine antagonist, by immunotoxicology and by capillary gas chromatography/mass spectrometry, J. Anal. Toxicol. 15, 202-203, (1991).
- Schütz, H., TLC data of hydrolysis products of 1,4- and 1,5-benzodiazepines, J. Anal. Toxicol. 2, 147-148 (1978).
- TLC Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems, (Report XVII of the DFG Commission for Clinical-



Toxicological Analysis, Special Issue of the TIAFT Bulletin), VCH Verlagsgesellschaft (Weinheim), 1992.

- Mulé, S.J., Casella, G.A., Quantitation and confirmation of the diazolo- and triazolobenzodiazepines in human urine by gas chromatography/mass spectrometry, J. Anal. Toxicol. 13, 179-184 (1989).
- Black, D.A., Clark, G.D., Haver, V.M., Garbin, J.A., Saxon, A J., Analysis of benzodiazepines using solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry, J. Anal. Toxicol. 18,185-188 (1994).
- Dickson, P.H., Markus, W. McKernan, J., Nipper, H.C., Urinalysis of alpha-hydroxyalprazolam, agtáa-hydroxytriazalam and other benzodiazepine compounds by GC/EIMS, J. Anal. Toxicol. 16, 67-71 (1992).
- Meatherall, R., GC/MS confirmation of urinary benzodiazepine metabolites, J. Anal. Toxicol. 18, 369-381(1994).
- Peel, H. W., Perrigo, B.J., Toxicological analysis of benzodiazepine type compounds in post mortem blood by gas chromatograpny, J. Anal. Toxicol. 4, 105-113 (1980).
- Chopineau, J., Rivault, F., Sautou, V., Sommier, M.F., Determination of temazepam and its active metabolite, oxazepam in plasma, urine and dialysate using solid-phase extraction followed by bçhigh performance liquid chromatography, J. Liq. Chromatogr. 17, 373-383 (1994).

## 6.1. LINGOGRAFIA

- (BENZODIACEPINAS).URL:<http://es.ask.com/web?qsrc=1&o=1460&l=sem&q=EXTRACCION+LIQUIDO+LIQUIDO>
- (CROMATOGRAFIA) [es.wikipedia.org/wiki/Cromatografía\\_de\\_gases](http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatografía_de_gases)
- (BENZODIACEPINAS METABOLITOS)[www.monografias.com/metabolismo/benzodiacepinas](http://www.monografias.com/metabolismo/benzodiacepinas)
- [http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/temas\\_farma/volumen5/2\\_benzodiaz.pdf](http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/temas_farma/volumen5/2_benzodiaz.pdf)

# ANEXOS

## ANEXO No 1



Fuente: HOSPITAL GENERAL PROVINCIAL DOCENTE DE RIOBAMBA

Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 2



Fuente: SALA DE EMERGENCIA DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE  
REIOMBAMBA

Elaborado: Fonseca Daniel

### ANEX No.3



Fuente: DEPARTAMENTO DE CUIDADOS INTENSIVOS: VALORACION DEL PACIENTE INTOXICADO Q INGRESA AL HOSPITAL GENERALDOCENTE DE RIOBAMBA  
Elaborado: Fonseca Daniel

### ANEXO No. 4



Fuente: LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE RIOBAMBA  
Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 5



Fuente: TOMA DE MUESTRA DE ORINA

Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 6



Fuente: DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE LA POLICIA JUDICIAL DE CHIMBORAZO

Elaborado: Fonseca Daniel



## ANEXO No 7



Fuente: MIEMBROS DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICIA JUDICIAL DE CHIMBORAZO  
Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 8



Fuente: ENTRADA DEL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DE CRIMINALÍSTICA DE LA  
PROVINCIA DE CHIMBORAZO  
Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 9



Fuente: SITIO DE TRABAJO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE ORINA EN GENERAL

Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 10



Fuente: REACTIVOS DEL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DE CRIMINALÍSTICA DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

Elaborado: Fonseca Daniel

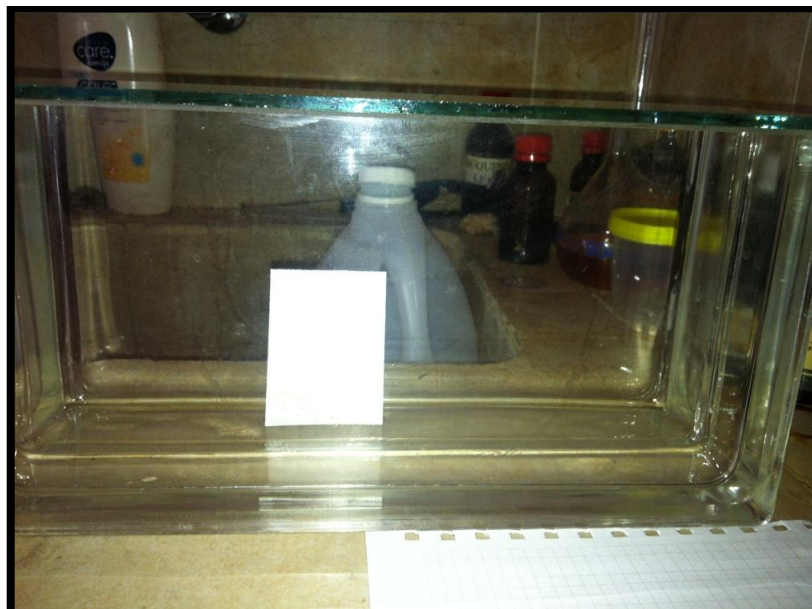
## ANEXO No 11



Fuente: EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO DEL METABOLITO DE BENZODIACEPINAS DE LAS MUESTRAS DE ORINA

Elaborado: Fonseca Daniel

## ANEXO No 12



Fuente: ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS METABOLITOS OBTENIDOS EN LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO

Elaborado: Fonseca Daniel



### ANEXO No 13



Fuente: REVELADO FISICO DE LA PLACA DE SILICA GEL CON RAYOS UV A 254nm  
Elaborado: Fonseca Daniel

### ANEXO No 14



Fuente: REVELADO QUÍMICO DE LA PLACA DE SILICA GEL CON REACTIVO DE DRAGENDORFF  
Elaborado: Fonseca Daniel

**ANEXO No 15**

FUENTE: DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE CHIMBORAZO

**DOCUMENTO DE RECEPCION DE MUESTRA Y ENTREGA DE  
RESULTADOS Q SE REALIZON EN UN ANALISIS TOXICOLOGICO**



**POLICIA NACIONAL DEL ECUADOR**

**DIRECCION NACIONAL DE LA POLICIA JUDICIAL E INVESTIGACION**

**DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE CHIMBORAZO**

**CADENA DE CUSTODIA**

Con fines periciales se recibe la (s) evidencia (s) de

.....

Oficio recibido .....

Entregado por .....

Firma.....

C.I ..... Hora

..... Fecha.....

Recibido por ..... Firma

.....

C.I ..... Hora

..... Fecha .....

Recibido por ..... Firma

.....

C.I ..... Hora

..... Fecha .....

Observaciones

.....



**POLICIA NACIONAL DEL ECUADOR**  
**DIRECCION NACIONAL DE LA POLICIA JUDICIAL E INVESTIGACION**  
**DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE CHIMBORAZO**  
**CADENA DE CUSTODIA**

Oficio No.....

Riobamba.....

Informe toxicológico No.....

CASO: .....

**AGENTE FISCAL DE**

En su despacho .-

De mi consideración:

El suscrito ..... Presenta el siguiente informe toxicológico

**I. OBJETO DE LA PERICIA**

Investigar la presencia de tóxicos en muestra de orina .

**II. ELEMENTOS RECIBIDOS**

En el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de Chimborazo el día..... Y hora..... Se recibe por parte del señor.....un envase de orina rotulado ..... En cuyo interior se encuentra la muestra..... para lo cual se solicita realizar el análisis toxicológico

**III. FUNDAMENTOS TECNICOS**

El análisis toxicológico consiste en el conjunto de medios técnicos confirmatorios como lo son la cromatografía en capa fina y la cromatografía de gas-liquido; mediante los cuales se identifican los tóxicos teniendo en cuenta sus propiedades químicas, físicas y biológicas

**IV. OPERACIONES REALIZADAS**

**4.1 EXTRACCION**

**4.2 ANALISIS CUALITATIVO**

**4.3 ANALISIS CONFIRMATORIOS POR CROMATOGRAFIS EN CAPA FINA**

**V. CONCLUSIONES**

5.1 De acuerdo al análisis se reporto como resultado lo siguiente

Compuestos.....

POSITIVO ( Baja concentración)

Es todo cuanto puedo informar

Nota. Se consumió la totalidad de la muestra

**El presente Informe Pericial**  
**Químico.....**

Atentamente

.....  
PERITO QUIMICO:

DISTRIBUCION

Original: destino

**COPIA: SECRETARIA ADJUNTO: LO INDICADO**



**POLICIA NACIONAL DEL ECUADOR**  
**DIRECCION NACIONAL DE LA POLICIA JUDICIAL E INVESTIGACION**  
**DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE CHIMBORAZO**  
**CADENA DE CUSTODIA**

OFICIO No.....  
RIOBAMBA .....

**CASO :** .....

AGENTE FISCAL DE CHIMBORAZO

En su despacho

Por medio del presente me permito remitirle a usted el informe pericial toxicológico No..... elaborado por el Dr. .... relacionado con el caso .....

Particular que pongo en su conocimiento para los fines pertinentes de la ley.

Aprovecho la oportunidad para expresarle mis sentimientos de alta consideración y estima

Atentamente

DIOS, PATRIA Y LIBERTAD

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALISTICA DE CHIMBORAZO

## ANEXO 16. SOLICITUD DE ANALISIS TOXICLOGICO

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE  
Y MEDICINA TROPICAL  
"LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ"  
QUITO – ECUADOR

### SOLICITUD DE ANALISIS TOXICOLOGICO

<b>Solicitado por</b>	
<b>Unidad de Salud</b>	
<b>Fecha</b>	
<b>Nombre del paciente</b>	
<b>Edad</b>	
<b>Ocupación</b>	
<b>Antecedentes a la intoxicación</b>	
<b>Cuadro clínico ( signos, síntomas, tratamiento aplicado , estado del paciente)</b>	
<b>Tipo de muestra</b>	
<b>Fecha y Hora de la Toma de muestra</b>	
<b>Fecha y hora de ingreso al laboratorio</b>	

### ANALISIS SOLICITADO

**VOLATILES**

Alcohol Etilico  
Alcohol Metilico  
Formaldehido  
Hidrocarburos  
Bipiridilos  
atrazina

**ANTICONVULSIVANTES**

Carbamazepina Organoclorados  
Fenobarbital  
Difenihidantohina Carbamatos

**PLAGUICIDAS**

Organo fosforados  
Cumarinicos  
Piretroides

**DROGAS DE ABUSO**

Anfetaminas  
Barbitúricos  
Benzodiacepinas (X)  
Cocaína  
Canabinnoles/ Marihuana  
Dep. del opio  
Alcaloides/Escopolamina

**MEDICAMENTOS**

Salicilatos  
Paracetamol  
Tiopental  
AINE  
Otros.

**INORGANICOS**

Fosforos  
Plomo  
Mercurio

**GASEOSOS**

Carboxihemoglobina  
Cianuros

**OTRAS SUSTANCIA QUIMICAS**

.....  
.....  
.....

Nombre/ Firma/ Código/ Medico..... Cedula No  
**NOTA: ES OBLIGATORIO COMPLETAR TODOS LOS DATOS INFORMATIVOS**  
Información Toxicológica CIATOX telf.. 022905162. E-mail. ciatoxecu@gmail.com