



Servicio Nacional
de Medicina Legal
y Ciencias Forenses

**INSTRUCTIVO PARA LA
DETERMINACIÓN DE
MISOPROSTOL,
LEVONORGESTREL Y OTROS
MEDICAMENTOS USADOS
COMO ABORTIVOS POR
CROMATOGRAFÍA DE CAPA
FINA.**

Octubre, 2017



CONTROLES

ELABORACIÓN DEL INSTRUCTIVO.

FASE	Nombre / Cargo	Firma	Fecha
Elaborado o Modificado por:	Bqc. Catalina Carrillo		20/03/2017
	Mgs Luz Cadavid		
	Ftco. Milagros Marcano		
	Bq. Silvia Yumiseba		
PERITOS DE LA GESTIÓN TOXICOLOGÍA FORENSE			

APROBACIÓN METODOLÓGICA DE LA GESTIÓN ESTRATÉGICA

Fase	Nombre / cargo	Firma	Fecha
Asistencia técnica:	Ing. Alejandra Pérez M. ANALISTA DE LA UNIDAD DE PROCESOS, SERVICIOS Y CALIDAD		29/09/2017
Revisado por:	Lcdo. Christian Escobar RESPONSABLE DE LA UNIDAD DE PROCESOS, SERVICIOS Y CALIDAD		29/09/2017
Aprobado por:	Mgs. Sheldon López COORDINADOR GENERAL DE PLANIFICACIÓN Y GESTIÓN ESTRATÉGICA		29/09/2017

APROBACIÓN TÉCNICA

Nombre / Cargo	Firma	Fecha
Lcda. María Elisa Lara COORDINADORA DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES		30/10/2017

CONTROL E HISTORIAL DE CAMBIOS

Versión	Descripción del cambio	Fecha de creación/actualización
1.0	Primera versión del Instructivo para la determinación de Misoprostol, Levonorgestrel y otros medicamentos usados como abortivos por cromatografía de capa fina como método confirmatorio.	20/03/2017



ÍNDICE DE CONTENIDO

INFORMACIÓN BÁSICA.....	4
GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.....	6
DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.....	6
NORMAS DE SEGURIDAD.....	10
BIBLIOGRAFÍA.....	10
ANEXOS.....	10

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 1.....	9
--------------	---



1. INFORMACIÓN BÁSICA

Macroproceso:	PERICIAS TÉCNICO CIENTÍFICAS
Proceso:	PERICIAS TÉCNICO CIENTÍFICAS MEDICINA LEGAL
Subproceso:	GESTIÓN PERICIAL TOXICOLOGÍA FORENSE
Nombre del instructivo:	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE MISOPROSTOL, LEVONORGESTREL Y OTROS MEDICAMENTOS USADOS COMO ABORTIVOS POR CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA.
Código del instructivo:	SNMLCF-ML-TOXICOLOGÍA-03
Descripción:	<p>PROPÓSITO:</p> <p>Estandarizar el método para la determinación cualitativa de Misoprostol, Levonorgestrel y otros medicamentos usados como abortivos en muestras biológicas y evidencias químicas, por Cromatografía de Capa Fina.</p> <p>ALCANCE:</p> <p>Se aplica en muestras biológicas (sangre, suero, contenido gástrico, vómito, tejido placentario y vísceras) y muestras no biológicas (tabletas, capsulas, pildoras, entre otros.) encontradas en el sitio del suceso.</p>
Responsable:	Jefe de la gestión pericial y peritos acreditados de la Gestión de Toxicología Forense del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.
Marco Legal:	<p>1. CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR.</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Art. 195. La Fiscalía General del Estado.➤ Art. 233. Deberes de servidores públicos. <p>2. CÓDIGO ORGÁNICO INTEGRAL PENAL.</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Art. 292. Alteración de evidencias y elementos de prueba.➤ Art.448. Organización y Dirección.➤ Art. 449. Atribuciones. Numerales 8 y 9.➤ Art. 456. Cadena de Custodia.



➤ **Art. 458.**

Preservación de la escena del hecho o indicios

➤ **Art. 459.**

Actuaciones y Técnicas Especiales de Investigación. Numeral 1.

➤ **Art. 463.**

Obtención de muestras.

➤ **Art. 498.**

Medios de prueba.

➤ **Art. 511.**

Reglas Generales.

3. DECRETO EJECUTIVO N°759. Reglamento de Coordinación Interinstitucional para la Organización, Dirección, Administración y Operación del Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses.

➤ **Art.13**

Director General del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, **numeral:** 5

➤ **Art. 14.**

Atribuciones del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, **numeral:** 1, 2, 4,5.

4. RESOLUCIÓN N° 040-2014. Reglamento del Sistema Pericial Integral de la Función Judicial.

➤ **Capítulos:** 2, 3,4 y 5.

5. RESOLUCIÓN N°073-FGE-2014. Suplemento del Registro Oficial 318,25-VIII-2014.

Acápito: Manual de Química y Toxicología Forense.

➤ El instructivo es "RESTRINGIDO" y de uso exclusivo del Laboratorio de Criminalística y Ciencias Forenses de Pichincha-Quito en su gestión interna Toxicología Forense.

➤ El instructivo es de "USO OBLIGATORIO" para el personal de la gestión interna Toxicología Forense.

➤ Es responsabilidad del Jefe de la gestión interna Toxicología Forense garantizar la aplicación y el cumplimiento del presente instructivo.

➤ Se prohíbe la reproducción total o parcial del instructivo sin autorización expresa.

Lineamientos:



2. GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

2.1. GLOSARIO DE TÉRMINOS.

- **Abortivos:** de acuerdo con Anderson y cols citado por (Goodman, 1996), las define como "sustancias que inducen contracciones uterinas potentes y también la expulsión del feto, por ejemplo la administración de las prostaglandinas E2 o F2 α en el segundo y tercer trimestres del embarazo".
- **Cromatografía de Capa Fina:** "método separativo y permite al mismo tiempo un análisis cualitativo. En general se aplica a posteriori de alguna forma de pre tratamiento de la muestra, como por ejemplo, extracción de analitos de la muestra con solventes" (Fiorenza, 2007).
- **Levonorgestrel:** "progestina sintética biológicamente activa que no es efectiva después de 72 horas; por ser estructuralmente semejante a la progesterona, su mecanismo de acción tiene que ver con el desempeño de esta hormona in vivo" (Rodríguez, 2002).
- **Misoprostol:** análogo de la Prostaglandina E1, su nombre comercial es Cytotec, que es la 15-desoxi-16-hidroxi-16-metil-PGE1. Los estudios clínicos indican que el Misoprostol es moderadamente eficaz para tratar las úlceras duodenal y gástrica, también se ha empleado como abortifaciente y como fármaco de maduración cervical.
- **Muestra biológica:** "especimen sobre el cual se realizará el análisis toxicológico de rutina, cuya adquisición, almacenamiento y transporte al laboratorio se han documentado adecuadamente para garantizar la debida Cadena de Custodia" (Jickells, 2008).
- **Pruebas cualitativas:** "reacciones químicas orientativas de color y precipitación que indican la posible presencia de la sustancia que se pretende identificar con el análisis, estas cubren un número importante de drogas y otros tóxicos" (Skoog, 1992).

2.2. ABREVIATURAS.

- **CCF** : Cromatografía de Capa Fina
- **Conc.** : Concentrado
- **SNMLCF** : Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses

3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.

3.1. FUNDAMENTO TEÓRICO.

Existe una amplia variedad de sustancias que son utilizadas como abortivos, que producen contracciones uterinas potentes y también la expulsión del feto; estas sustancias juegan un papel importante en la toxicología clínica y forense.

Las hormonas que se usan en anticoncepción de emergencia producen alteraciones en tres niveles: inhibiendo o alterando la ovulación, interfiriendo



con la fecundación o el transporte del embrión al útero, o inhibiendo su implantación en el endometrio. (Rodríguez, 2002)

Uno de los métodos empleados para la determinación de estas sustancias es la cromatografía de capa fina la cual puede considerarse como la separación de los analitos en una superficie revestida con una fase estacionaria. La fase móvil se mueve a través de la superficie plana de un borde a otro y se produce la separación de las sustancias según su afinidad a la fase estacionaria y a la fase móvil.

La visualización de la placa cromatográfica se realiza roseando la misma con un reactivo el cual va a interactuar con grupos funcionales específicos presentes en la molécula. (Fiorenza, 2007)

3.2. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y CONDICIONES AMBIENTALES.

3.2.1. EQUIPOS:

- Agitador magnético;
- Estufa;
- Sistema de revelado: Nebulizador y bomba de vacío;
- Sorbona; y,
- Cabina de UV.

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO:

- Papel de filtro;
- Placas cromatográficas: Especificaciones: Sílica Gel, 20 x 20 cm., F-254, 200 µm;
- Papel pH;
- Embudos de extracción o erlenmeyer;
- Capilares reducidos en diámetro por estiramiento al calor;
- Cubas cromatográficas;
- Embudos de filtración;
- Pipetas: serológicas y pasteur; y,
- Vasos de precipitación.

3.2.3. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE REFERENCIA:

3.2.3.1. REACTIVOS:

- Cloroformo;
- Sulfato de sodio anhidro;
- Eluente: (Acetato de Etilo 8,5 ml: Metanol 1 ml: Amoníaco 0,5 ml) (Mezclar y dejar 30 minutos de saturación);
- Subnitrato de Bismuto;
- Ácido acético;
- Ioduro de Potasio;
- Agua destilada; y,
- Revelador:
 - ✓ Para Misoprostol : H₂SO₄/Etanol (1:1)



- ✓ Para Levonorgestrel: Dragendorff

Nota Técnica: la composición y preparación del reactivo Dragendorff se halla en el acápite de Anexos, como Anexo N°6.1.

3.2.3.2. ESTÁNDARES/PATRÓN:

- Nombre comercial: Cytotec. Principio activo: Misoprostol
- Nombre comercial: Glanique, Postinor, Escapel, etc.: Principio activo Levonorgestrel.

3.2.4. MATERIALES VARIOS:

- Guantes desechables; y,
- Papel absorbente.

3.2.5. CONDICIONES AMBIENTALES:

- Ver: Instructivo para el control de temperatura.

3.3. MANEJO DE INDICIOS Y MUESTRAS:

3.3.1. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO:

- Ver: Instructivo para Transporte, Almacenamiento y Conservación de Indicios.

3.3.2. PREPARACIÓN. Y MANIPULACIÓN:

- Ver: Protocolo de Toma, Conservación y Recepción de Muestras Biológicas para Análisis Toxicológicos.

3.4. PROCEDIMIENTO:

El procedimiento considerado para el desarrollo de este ensayo, debe obedecer a las siguientes fases y estipulaciones:

3.4.1. EXAMEN FÍSICO DE LAS MUESTRAS:

- Verificar las características organolépticas de la muestra.

Nota técnica: En el caso de hallarse material no digerido (tabletas, cápsulas, etc.) en contenido gástrico o tejido placentario, examinar por separado.

3.4.2. EXTRACCIÓN CON SOLVENTE:

- Tomar 10 a 50 ml o 5 gr de muestra.
- Alcalinizar la muestra con amoníaco hasta pH (10-12)



- Añadir 20 ml de cloroformo en un recipiente extractor (embudo de separación o (erlenmeyer)
- Agitar (en forma manual o con agitador magnético) y dejar en contacto con el solvente hasta el día siguiente
- Separar la fase clorofórmica, filtrando por sulfato de sodio anhidro.
- Evaporar.
- Sembrar en la placa cromatografica la muestra, conjuntamente con estándares correspondientes.

3.4.3. DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO Y REVELADO:

- Colocar en la cuba cromatográfica con el eluente y correr con un frente de 10 cm.
- Sacar de la cámara y dejar secar la placa a temperatura ambiente.
- Observar bajo la luz UV.
- Revelar con el reactivo correspondiente y dejar secar.
- En el caso de Misoprostol, colocar la placa en la estufa a 50°C.

Nota Técnica: para el revelado de la placa cromatográfica se debe rociar el reactivo correspondiente con la bomba de presión sobre la placa a una distancia aproximada de 15 cm, de arriba hacia abajo y máximo dos veces.

3.5. MÉTODO DE CÁLCULO:

N/A.

3.6. RESULTADOS Y ANÁLISIS:

la determinación de resultados será estipulada en función de la siguiente tabla:

TABLA 1
COLORACIÓN DE MISOPROSTOL Y LEVONORGESTREL POR
CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.

MEDICAMENTO	REVELADOR	COLORACIÓN
Misoprostol	H ₂ SO ₄ /Etanol (1:1)	Negro en la base de la siembra
Levonorgestrel	Dragendorff	Anaranjado

(Galichet, 2004)



4. NORMAS DE SEGURIDAD.

Considere lo estipulado en la Resolución N°073-FGE-2014. Suplemento del Registro Oficial 318,25-VIII-2014, acápite: Manual de Bioseguridad.

5. BIBLIOGRAFÍA.

- Fiorenza, G. y. (2007). Manual de Procedimientos Analíticos Toxicológicos para Laboratorios de Baja Complejidad. manual. Buenos Aires, Argentina.
- Galichet, L. (2004). Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceuticals, body fluid and postmortem material. Great Britain: Pharmaceutical Press.
- Goodman, A. y. (1996). Las bases farmacológicas de la terapéutica. México: McGraw-Hill-Interamericana.
- Jickells, S. y. (2008). Clarke's Analytical Forensic Toxicology. Londres: Pharmaceutical Press.
- Rodríguez, E. (2002). El levonorgestrel y su mecanismo de acción. Ars Médica, revista de estudios médicos humanísticos, 1-12.
- Skoog, D. y. (1992). Principios de Análisis Instrumental. Madrid: McGraw Hill

6. ANEXOS.

6.1. Preparación del reactivo DRAGENDORFF.

Preparación de Solución A:

Mezclar conjuntamente 2 g. de Subnitrito de Bismuto, 25 ml de ácido acético y completar con agua destilada hasta 100 ml.

Preparación de Solución B:

Disolver 40 g. de Ioduro de Potasio en 100 ml de agua destilada.

Preparación del reactivo DRAGENDORFF:

Mezclar 10 ml de Solución A+ 10 ml de Solución B+ 20 ml de ácido acético y completar hasta 100 ml con agua destilada.



TRAZABILIDAD DEL DOCUMENTO, COPIAS Y COMPULSAS.

No. de Versión	No. de Copias Distribuidas	Nombre de la persona que recibe	Firma	Fecha	Firma del SGC - Devolución

