



Servicio Nacional
de Medicina Legal
y Ciencias Forenses

**INSTRUCTIVO PARA LA
DETERMINACIÓN CUALITATIVA
DE COCAÍNA Y SUS
METABOLITOS POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES –
MASAS EN MUESTRAS
BIOLÓGICAS COMO MÉTODO
CONFIRMATORIO.**

Octubre, 2017



CONTROLES

ELABORACIÓN DEL INSTRUCTIVO.

Fase	Nombre / cargo	Firma	Fecha
Elaborado o Modificado por:	Bqc. Catalina Carrillo		22/03/2017
	Mgs Luz Cadavid		
	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 DEL INSTRUCTIVO.

Nombre / Cargo	Firma	Fecha
Lcda. María Elisa Lara COORDINADORA TÉCNICA DE SERVICIOS DE MEDICINA LEGAL		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 cuantitativa de Salicilatos/AAS mediante por Espectrofotometría UV	22/03/2017

ÍNDICE DE CONTENIDO

INFORMACIÓN BÁSICA.....	4
GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.....	5
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	5
ABREVIATURAS.....	6
PROCEDIMIENTO.....	6
NORMAS DE SEGURIDAD.....	9
BIBLIOGRAFÍA.....	9
ANEXOS.....	10

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.

ILUSTRACIÓN 1.....	10
ILUSTRACIÓN 2.....	11
ILUSTRACIÓN 3.....	11
ILUSTRACIÓN 4.....	12
ILUSTRACIÓN 5.....	12
ILUSTRACIÓN 6.....	13
ILUSTRACIÓN 7.....	13
ILUSTRACIÓN 8.....	14
ILUSTRACIÓN 9.....	14
ILUSTRACIÓN 10.....	15
ILUSTRACIÓN 11.....	15
ILUSTRACIÓN 12.....	16
ILUSTRACIÓN 13.....	16



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 CUALITATIVA DE COCAÍNA Y SUS METABOLITOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES – MASAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS COMO MÉTODO CONFIRMATORIO.
Código del instructivo:	SNMLCF-ML-TOXICOLOGÍA-06
Descripción:	<p>PROPÓSITO:</p> <p>Estandarizar la determinación cualitativa de cocaína y sus metabolitos en muestras biológicas, mediante cromatografía de gases-masas, como método confirmatorio.</p> <p>ALCANCE:</p> <p>Se aplica en muestras biológicas (sangre, suero sanguíneo y orina) y muestras no biológicas (bebidas, residuos sólidos, etc.), relacionados con el hecho de interés criminalístico.</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.

Acápites: Manual de Química y Toxicología Forense.

Lineamientos:

➤ 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.

2. GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

2.1. GLOSARIO DE TÉRMINOS.

➤ **Cocaína:** principio activo que se encuentra en las hojas de la coca (*Eriothoxylon coca*) arbusto que crece en zonas tropicales. El clorhidrato

Código: SNMLCF-ML-TOXICOLOGIA-06	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE COCAÍNA Y SUS METABOLITOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES – MASAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS COMO MÉTODO CONFIRMATORIO.	Versión: 1.0
		Página 6 de 11

de cocaína se absorbe en un porcentaje elevado, hasta un 50% a través de las mucosas nasales, oral y genital, puede administrarse también por vía parenteral. Los efectos aparecen a los 15 a 20 min; actúa estimulando el Sistema Nervioso Central, produce estimulación general, disminución de la fatiga y sueño, euforia.

- **Derivatizar:** "transformación de un compuesto químico en uno de estructura química similar, pero con propiedades químicas diferentes". (TESAURO, BIBLIOTECA AGRICOLA NACIONAL DE LOS ESTADOS UNIDOS, 2013)
- **Muestra biológica:** "espécimen 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)

2.2. ABREVIATURAS.

- BSFTA : N, O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide
- CG-MS : Cromatografía de gases masas
- COC : Cocaína
- SNMLCF : Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses
- THC : Tetrahydro Cannabinol

3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.)

3.1. FUNDAMENTO TEÓRICO.

La cocaína es un estimulador que se obtiene de la planta de coca. Es un estimulador del sistema nervioso y supresor del hambre, era usado en medicina como anestésico. A nivel del sistema nervioso central actúa específicamente como un inhibidor de la receptación de la serotonina-norepinefrina-dopamina, aumentando el efecto de estos neurotransmisores, causando diferentes acciones a nivel sistémico. (Benavidez Luis, 2011)

Una vez absorbida la cocaína pasa rápidamente a la sangre y se distribuye por todo el organismo, teniendo especial afinidad por el cerebro. También atraviesa la barrera hematoencefálica y la barrera feto placentaria debido a su alta liposolubilidad. La biotransformación del principio activo se inicia rápidamente en la sangre debido al pH del medio acuoso, el cual es potenciado por la presencia de colinesterasas y posteriormente se completa en el hígado donde es hidrolizada por colinesterasas produciendo sus dos metabolitos principales la benzoilecgonina (BEG) y la ecgoninametilester (EME), 15-30 minutos después de la administración aparece la benzoilecgonina (BEG), el principal metabolito del cual se pensaba que era farmacológicamente inactivo. La BEG puede detectarse en plasma hasta 24 horas después de su administración. (TÉLLEZ JAIRO, 2005)

Es por esta razón que se han desarrollado técnicas como la Cromatografía gases-masas para su identificación.



La cromatografía de gases (GC) es útil para los compuestos que son volátiles en su estado natural o que puedan convertirse con facilidad en una forma volátil. La GC ha sido un método ampliamente utilizado desde hace décadas gracias a su elevada resolución, bajos límites de detección precisión y corto tiempo de análisis. Su aplicación incluye varias moléculas orgánicas, incluyendo muchas drogas. (Henry, 2005)

La Cromatografía de gases masas-espectroscopia de masas (GC-MS) ha demostrado ser ese método de referencia debido a su sensibilidad y a sus técnicas: la cromatografía de gases y la espectroscopia de masas. En la primera, los compuestos se calientan directamente para que pasen al estado gaseoso o se derivan para hacerlos más lábiles y facilitar su paso al estado gaseoso por calentamiento. (Henry, 2005)

En la Segunda "el detector de masas, permite obtener un espectro de masas que muestra la relación masa/carga de la molécula, sus fragmentos y su abundancia relativa. La ionización de la molécula puede llevarse a cabo mediante impacto electrónico, ionización química negativa o positiva e ionización por campo eléctrico". (Benavidez Luis, 2011)

3.2. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y CONDICIONES AMBIENTALES.

3.2.1. EQUIPOS:

- Cromatógrafo de Gases – Masas;
- Baño María; y,
- Cabina de Extracción.

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO:

- Pipetas automáticas;
- Vasos de precipitación;
- Puntas de 100ul; y,
- Viales

3.2.3. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE REFERENCIA:

3.2.3.1. REACTIVOS:

- Cloroformo grado P.A;
- Metanol grado P.A; y,
- Derivatizante BSFTA.

3.2.3.2. ESTÁNDARES:

- Estándar de Cocaína;

Código: SNMLCF-ML-TOXICOLOGIA-06	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE COCAÍNA Y SUS METABOLITOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES – MASAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS COMO MÉTODO CONFIRMATORIO.	Versión: 1.0 Página 8 de 11
----------------------------------	---	--------------------------------

- Estándar de Benzoilecgonina; y,
- Estándar de Ecgonina.

3.2.4. MATERIALES VARIOS:

- Guantes desechables
- 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.

Realizar el procedimiento de extracción según lo describe el instructivo denominado **"DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES O DROGAS ALCALINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS**, apartado 3.4.2.1., posteriormente:

3.4.1. FASE 1: DERIVATIZACIÓN.

- Adicionar al residuo que se obtuvo de la extracción 80ul de Derivatizante BSFTA.
- Colocar esta mezcla en un vial y llevar a baño maría por 20 minutos a 80°C.

3.4.2. FASE 2: ANÁLISIS INSTRUMENTAL.

- Realizar un lavado de la columna del CG-MS con metanol grado P.A esto previo al análisis de la muestra.
- Colocar cloroformo en los viales para lavado de la aguja de inyección.
- Llevar los viales al equipo de CG-MS e inyectar la muestra con el método específico para el análisis de cocaína y sus metabolitos (COC-THC).

***Nota Técnica:** las condiciones generales del equipo para el desarrollo del ensayo, así como las ilustraciones orientativas inherentes a los espectros por sustancias podrán ser observadas en el campo de anexos.*



3.5. MÉTODO DE CÁLCULO:

N/A.

3.6. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

- Realizar la verificación del espectro que se obtiene del análisis de la muestra.
- Buscar minuciosamente los picos de cocaína y sus metabolitos según se observa en los anexos.

4. NORMAS DE SEGURIDAD.

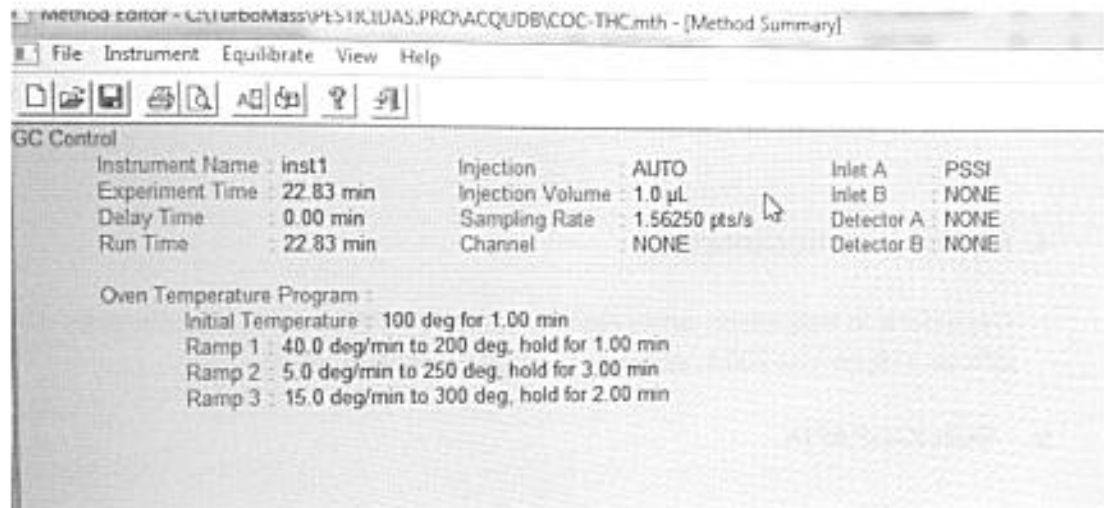
Considere lo estipulado en la Resolución N°073-FGE-2014. Suplemento del Registro Oficial 318,25-VIII-2014, acápite: Manual de Bioseguridad.

5. BIBLIOGRAFÍA.

- Benavidez Luis. (2011). ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA POR GC-MS PARA LA DETERMINACIÓN DE COCAÍNA, BENZOILECGONONA, ACIDO 11-NOR-DELTA-9-TETRAHIDROCANNABINOL. PEREIRA: TRABAJO DE GRADO.
- Henry, J. B. (2005). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Madrid: Marbán Libros, S. L.
- Jickells, S. y. (2008). Clarke's Analytical Forensic Toxicology. Londres: Pharmaceutical Press.
- TÉLLEZ JAIRO, C. M. (2005). EFECTOS TOXICOLÓGICOS Y NEUROPSIQUIÁTRICOS PRODUCIDOS POR CONSUMO DE COCAÍNA . 14.
- TESAURO, BIBLIOTECA AGRICOLA NACIONAL DE LOS ESTADOS UNIDOS, (2013). Recuperado el 5 de abril de 2017, de https://boletinagrario.com/ap-6_derivativacion,2088.html
- Vargas, B. (2001). CÁTEDRA DE TOXICOLOGÍA CLÍNICA Y TOXICOLOGÍA II. Quito.

6. ANEXOS.

ILUSTRACIÓN 1 CONDICIONES DEL CROMATÓGRAFO DE GASES.



method editor - C:\turboMass\PESTRILIAS.PROVACQUDB\COC-THC.mth - [Method Summary]

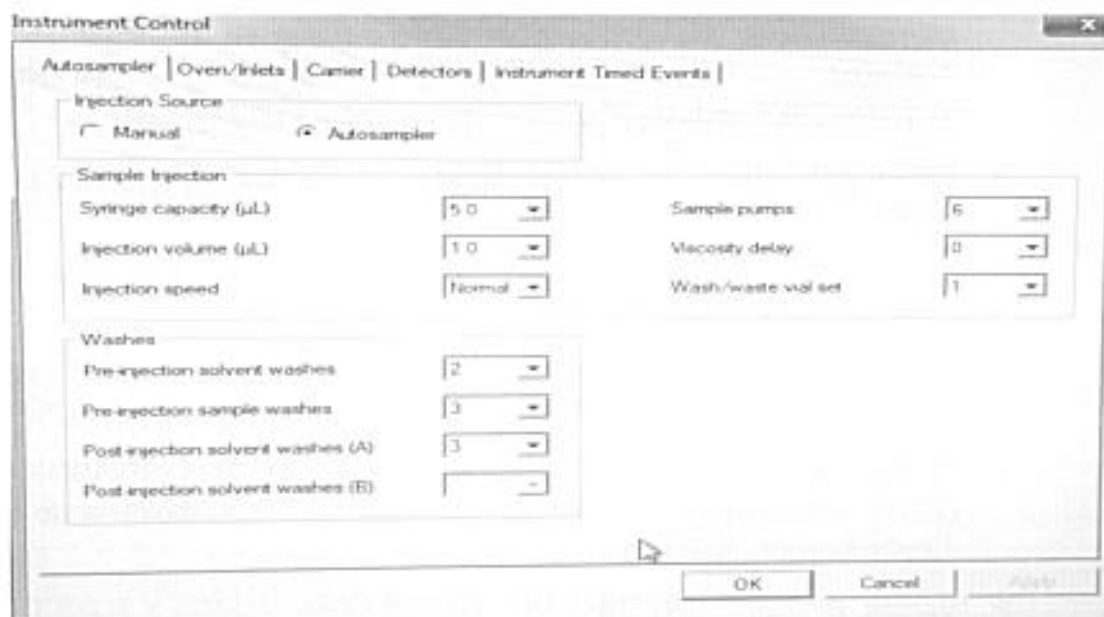
File Instrument Equilibrate View Help

GC Control

Instrument Name : inst1	Injection : AUTO	Inlet A : PSSI
Experiment Time : 22.83 min	Injection Volume : 1.0 µL	Inlet B : NONE
Delay Time : 0.00 min	Sampling Rate : 1.56250 pts/s	Detector A : NONE
Run Time : 22.83 min	Channel : NONE	Detector B : NONE

Oven Temperature Program :

- Initial Temperature : 100 deg for 1.00 min
- Ramp 1 : 40.0 deg/min to 200 deg, hold for 1.00 min
- Ramp 2 : 5.0 deg/min to 250 deg, hold for 3.00 min
- Ramp 3 : 15.0 deg/min to 300 deg, hold for 2.00 min



Instrument Control

Autosampler | Over/Inlets | Carrier | Detectors | Instrument Timed Events

Manual
 Autosampler

Sample Injection

Syringe capacity (µL)	5.0	Sample pumps	6
Injection volume (µL)	1.0	Viscosity delay	0
Injection speed	Normal	Wash/waste vial set	1

Washes

Pre-injection solvent washes	2
Pre-injection sample washes	3
Post-injection solvent washes (A)	3
Post-injection solvent washes (B)	-

OK Cancel Abort

ILUSTRACIÓN 2 CONDICIONES DEL AUTOSAMPLER DEL CG-MS

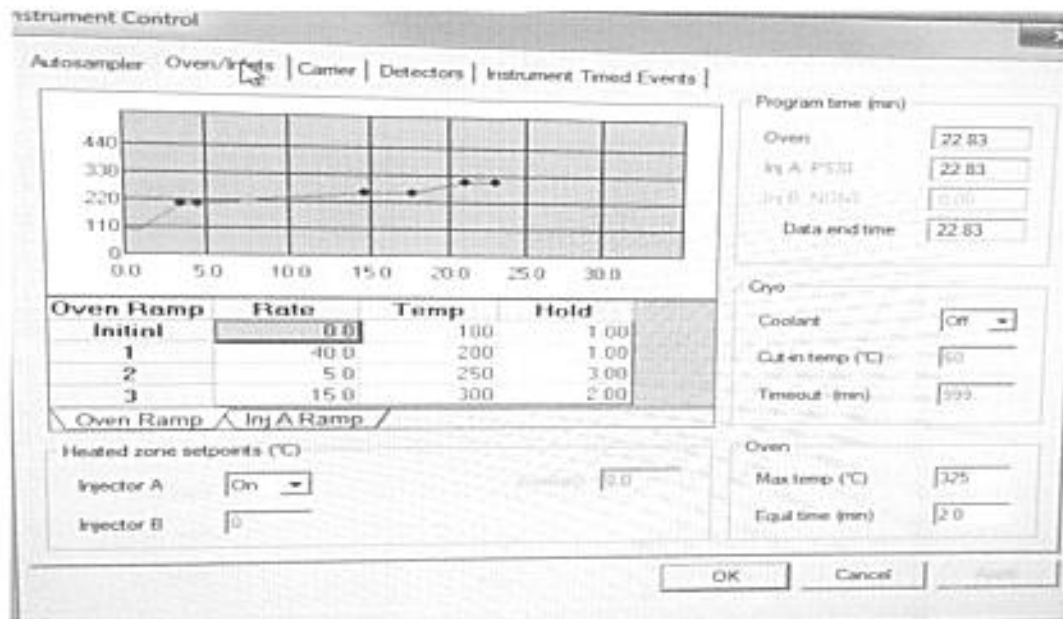


ILUSTRACIÓN 3 CONDICIONES DEL HORNO (RAMPA DE TEMPERATURAS) DEL CG-MS

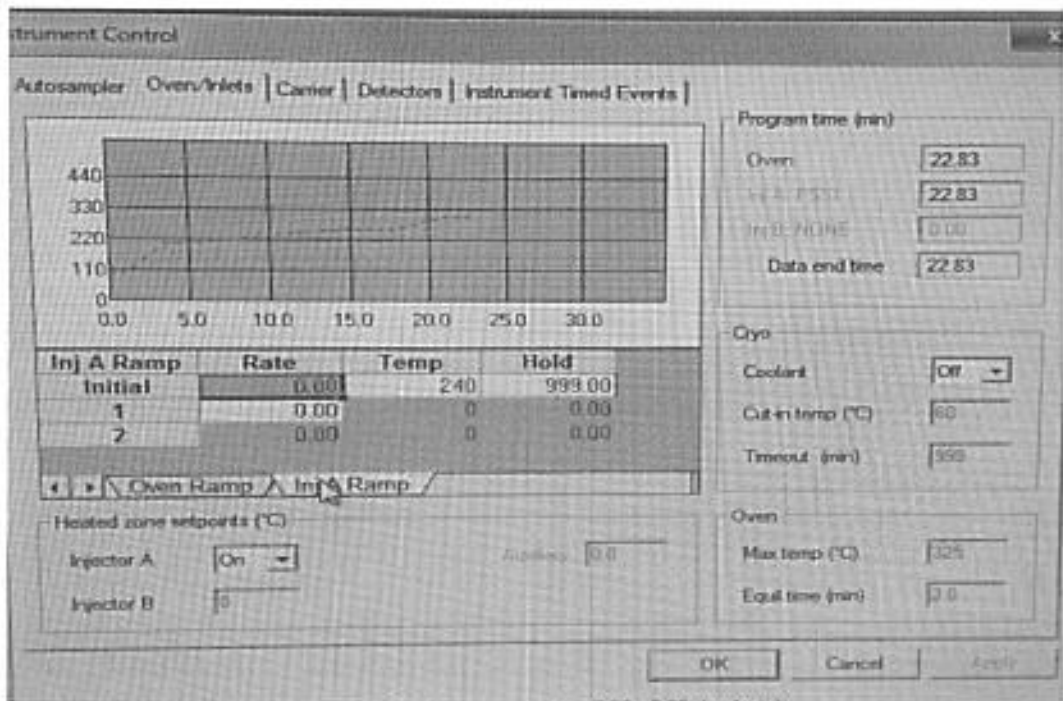




ILUSTRACIÓN 4 CONDICIONES DEL HORNO (RAMPA DE TEMPERATURAS) DEL CG-MS

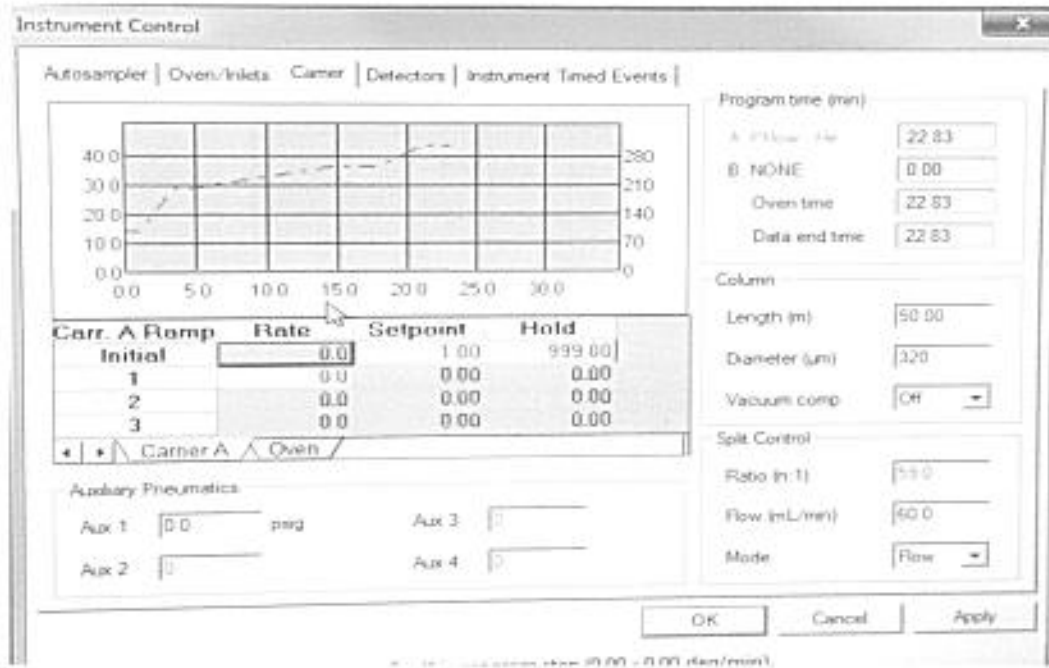


ILUSTRACIÓN 5 CONDICIONES DEL CARRIER (RAMPA DE TEMPERATURAS) DEL CG-MS

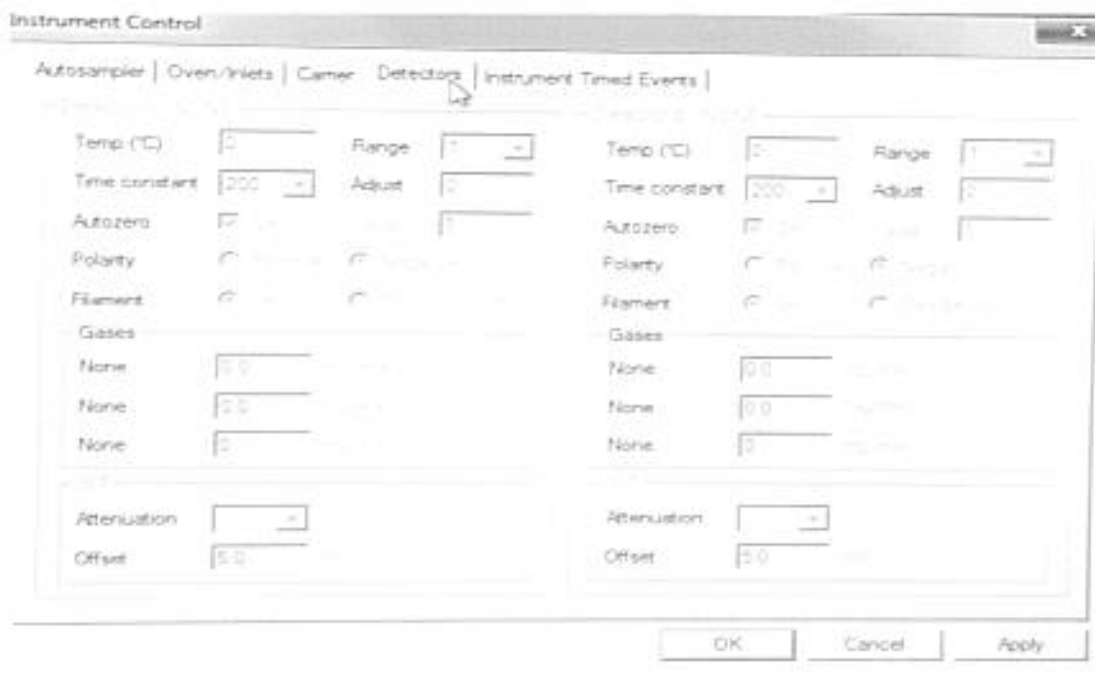




ILUSTRACIÓN 6 CONDICIONES DEL DETECTOR DEL CG-MS

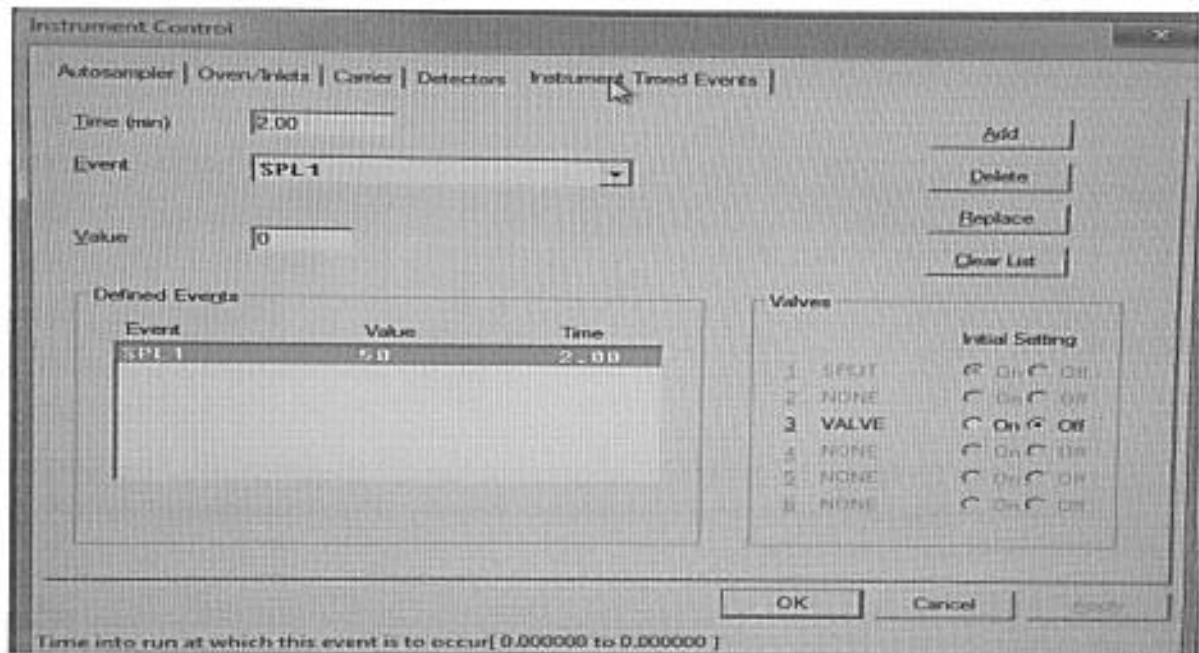


ILUSTRACIÓN 7 CONDICIONES GENERALES DEL MS.





ILUSTRACIÓN 8 ESPECTRO DE COCAÍNA EN UNA MUESTRA BIOLÓGICA

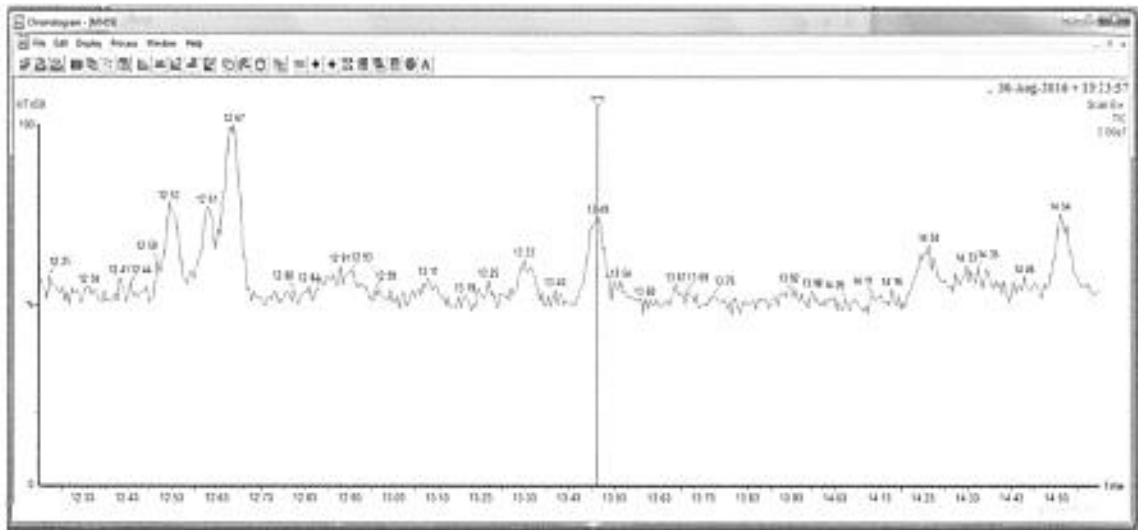


ILUSTRACIÓN 9 ESPECTRO DE COCAÍNA EN UN ESTÁNDAR

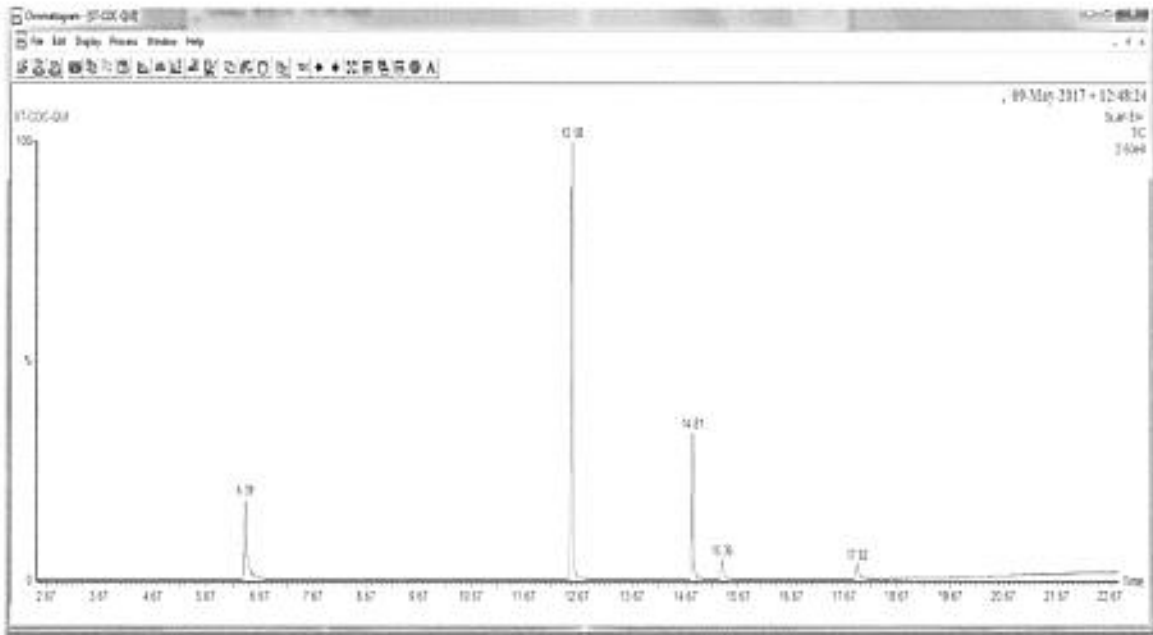


ILUSTRACIÓN 10 MASAS DE COCAÍNA EN UNA MUESTRA BIOLÓGICA.

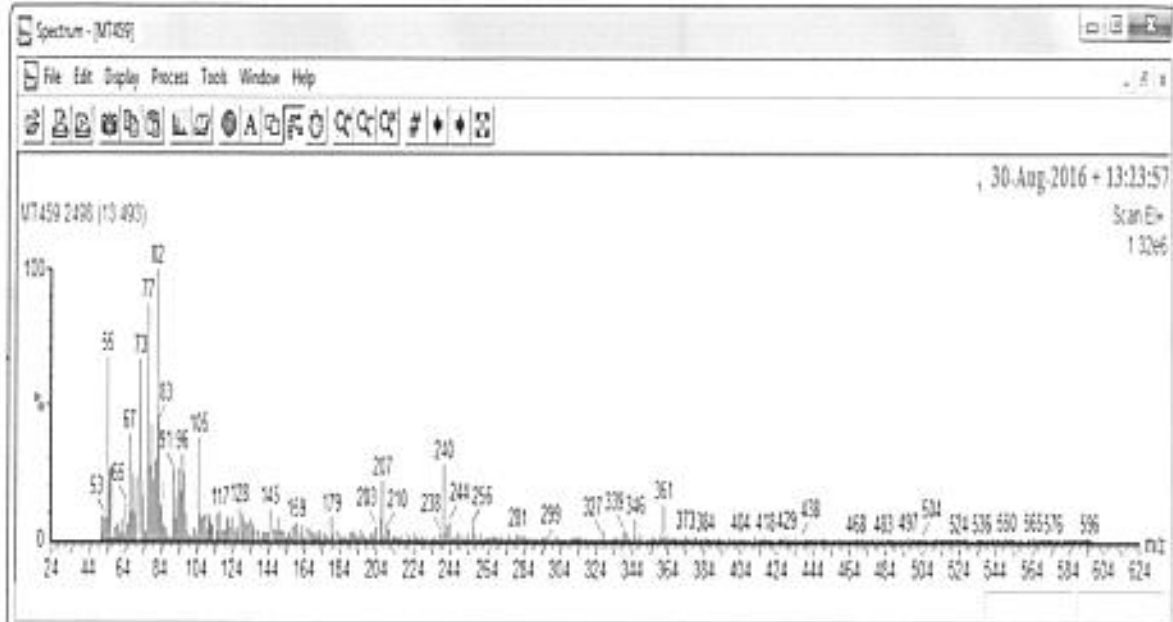


ILUSTRACIÓN 11 MASAS DE COCAÍNA EN UN ESTÁNDAR

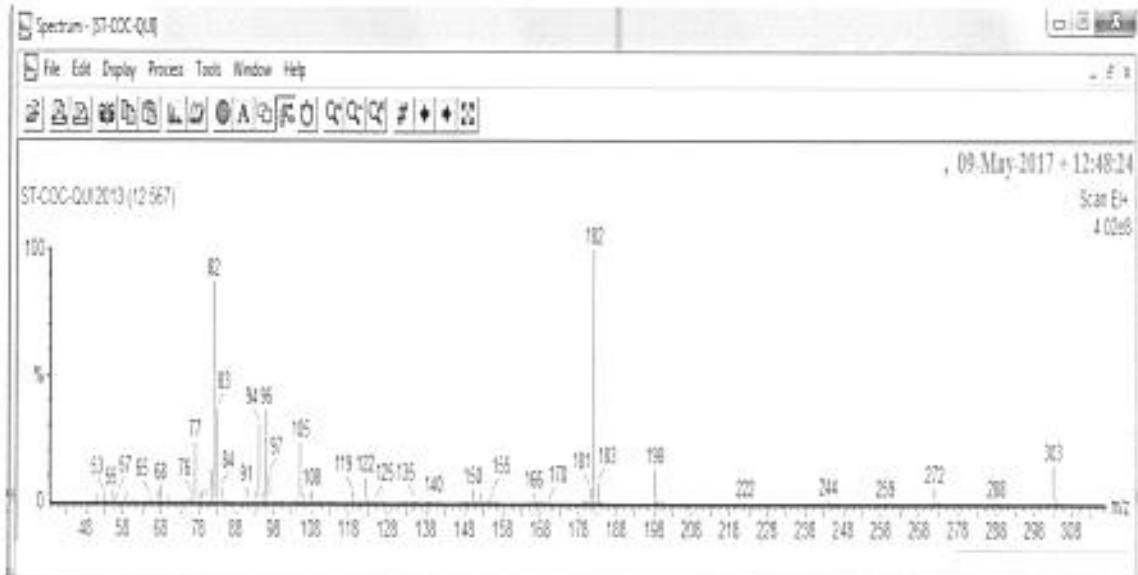




ILUSTRACIÓN 12 IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA EN MUESTRA BIOLÓGICA

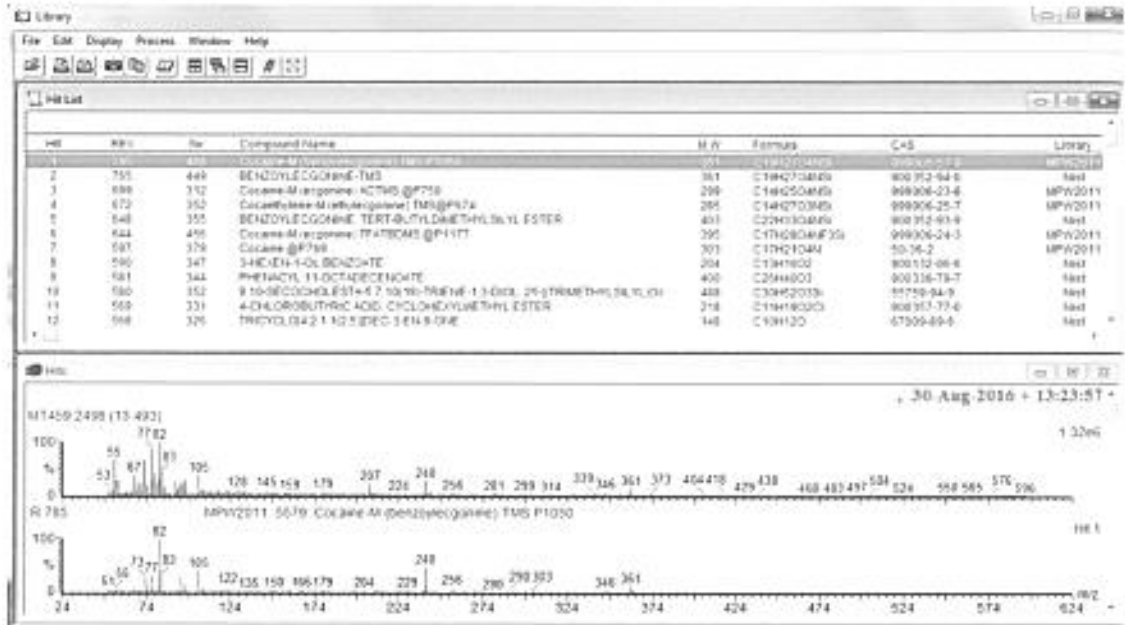
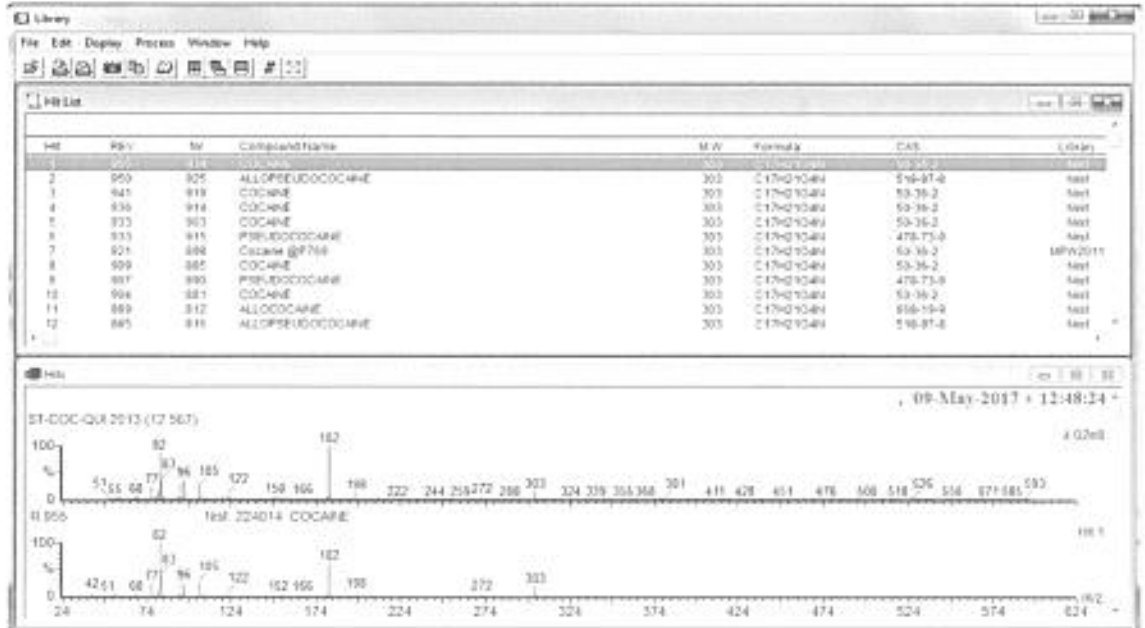


ILUSTRACIÓN 13 IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA EN UN ESTÁNDAR





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

