



Servicio Nacional  
de Medicina Legal  
y Ciencias Forenses

**INSTRUCTIVO PARA LA  
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA  
DE  
ACETAMINOFÉN/PARACETAMOL  
EN MUESTRAS BIOLÓGICAS  
MEDIANTE  
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS**

*Octubre, 2017*



### CONTROLES

#### ELABORACIÓN DEL INSTRUCTIVO.

Fase	Nombre / cargo	Firma	Fecha
Elaborado o Modificado por:	Bqc. Catalina Carrillo		28/06/2017
	Mgs Luz Cadavid		
	Bq. Silvia Yumiseba		
<b>PERITOS DE LA GESTIÓN TOXICOLOGÍA FORENSE</b>			

#### 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		28/09/2017
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 acetaminofen/paracetamol en muestras biológicas mediante espectrofotometría UV-VIS.	28/06/2017



## ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INFORMACIÓN BÁSICA.....	4
2. GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.....	5
3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.....	6
5. BIBLIOGRAFÍA.....	9
6. ANEXOS.....	9

## ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 1.....	8
--------------	---



## 1. INFORMACIÓN BÁSICA

<b>Macroproceso:</b>	PERICIAS TÉCNICO CIENTÍFICAS
<b>Proceso:</b>	PERICIAS TÉCNICO CIENTÍFICAS MEDICINA LEGAL
<b>Subproceso:</b>	GESTIÓN PERICIAL TOXICOLOGÍA FORENSE
<b>Nombre del instructivo:</b>	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ACETAMINOFÉN/ PARACETAMOL EN MUESTRAS BIOLÓGICAS, MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.
<b>Código del instructivo:</b>	SNMLCF-ML-TOXICOLOGÍA-08
<b>Descripción:</b>	<p><b>PROPÓSITO:</b></p> <p>Estandarizar la determinación cuantitativa de acetaminofén/paracetamol en muestras biológicas, mediante Espectrofotometría UV-VIS.</p> <p><b>ALCANCE:</b></p> <p>Se aplica en muestras biológicas (sangre, suero sanguíneo y orina) y sustancias sospechosas de causar intoxicación (medicamentos) en casos forenses.</p>
<b>Responsable:</b>	Jefe de la gestión pericial y peritos acreditados de la Gestión de Toxicología Forense del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.
<b>Marco Legal:</b>	<p>1. CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Art. 195.</b> La Fiscalía General del Estado.</li><li>➤ <b>Art. 233.</b> Deberes de servidores públicos.</li></ul> <p>2. CÓDIGO ORGÁNICO INTEGRAL PENAL.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Art. 292.</b> Alteración de evidencias y elementos de prueba.</li><li>➤ <b>Art.448.</b> Organización y Dirección.</li><li>➤ <b>Art. 449.</b> Atribuciones. Numerales 8 y 9.</li><li>➤ <b>Art. 456.</b> Cadena de Custodia.</li><li>➤ <b>Art. 458.</b> Preservación de la escena del hecho o indicios</li><li>➤ <b>Art. 459.</b> Actuaciones y Técnicas Especiales de Investigación. Numeral</li></ul>



**Lineamientos:**

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.
- 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.

- **Determinación cuantitativa:** Permite examinar los datos de manera científica, o más específicamente en forma numérica, generalmente con ayuda de herramientas del campo de la estadística. Para que exista metodología *cuantitativa* se requiere que entre los elementos del problema de investigación exista una relación cuya naturaleza sea



representable por algún modelo numérico ya sea lineal, exponencial o similar. (Rojas, 2011)

- **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)
- **Sustancia sospechosa:** "sustancia relacionada causante de la intoxicación y puede ser: medicamentos, sólidos, líquidos, etc." (Repetto, 2016)

## 2.2. ABREVIATURAS.

- SNC : Sistema Nervioso Central.
- SNMLCF: Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.
- UV-VIS : Ultravioleta – Visible.

## 3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.

### 3.1. FUNDAMENTO TEÓRICO.

Analgésico y antipirético inhibe, la síntesis de prostaglandinas en el SNC y bloquea la generación del impulso doloroso a nivel periférico. Actúa sobre el centro hipotalámico regulador de la temperatura. Químicamente pertenece al grupo de derivados del paracetamol - aminofenol. En comparación con otros analgésicos, en dosis terapéuticas no interfiere con la coagulación ni produce gastritis. (Vargas, 2001)

En algunas ocasiones es usado con fines autolíticos, llegando a niveles tóxicos los cuales pueden llegar a causar la muerte de una persona.

Para la determinación cuantitativa de acetaminofén/paracetamol se emplea la Espectrofotometría UV-VIS la misma que está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm.) por una molécula. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectrofotometría UV-VIS se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula. Las bandas que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones vibracionales y electrónicas (Skoog, 1992)

### 3.2. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y CONDICIONES AMBIENTALES.

#### 3.2.1. EQUIPOS:

- Vórtex;

- Plancha térmica;
- Centrifuga;
- Balanza Analítica; y,
- Espectrofotómetro UV-VIS.

### 3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO:

- Tubos de ensayo tapa rosca;
- Pipetas: serológicas y pasteur;
- Vasos de precipitación;
- Espátula;
- Balones volumétricos; y,
- Gradilla.

### 3.2.3. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE REFERENCIA:

#### 3.2.3.1. REACTIVOS:

- Éter etílico;
- Sulfato de amonio;
- Solución stock de acetaminofén: 10 mg/100 ml;
- Solución de referencia de acetaminofén: 1.0 mg/100 ml;
- Etanol absoluto; y,
- Agua destilada.

#### 3.2.3.2. ESTÁNDARES/PATRÓN:

N/A

### 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:

#### 3.4.1. TÉCNICA:

- Colocar 1 ml. de muestra (sangre o suero sanguíneo) en un tubo tapa rosca y en otro 1 ml. de solución de referencia.
- Añadir sulfato de amonio sólido 0,5 gramos.
- Extraer con 10 ml. de éter etílico por agitación por un min. en el Vórtex.
- Centrifugar por 5 min.
- Separar la capa orgánica a un recipiente limpio (vaso de precipitación de 80 ml).
- Evaporar a sequedad en la plancha térmica.
- Re disolver el residuo en 4 ml. de etanol.
- Determinar la absorbancia en el espectrofotómetro UV a 250 nm.
- Comparar la absorbancia de la muestra con la solución de referencia de acetaminofén.

### 3.5. MÉTODO DE CÁLCULO:

$$Cs = \frac{As}{Ar} \times Cr$$

En dónde:

- Cs: Concentración de muestra
- As: Absorbancia de muestra
- Ar: Absorbancia de estándar
- Cr: Concentración de estándar

**3.6. RESULTADOS Y ANÁLISIS:** la determinación de resultados será estipulada en función de la siguiente tabla:

**TABLA 1**  
**INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE VALORES DE ACETAMINOFÉN-PARACETAMOL EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.**

NIVEL	MUESTRA	VALOR
Terapéutico	Suero/plasma	0.25 -2.5 mg/100 ml
Tóxico	Suero/plasma	10 - 15 mg/100 ml
Letal/post mortem	Sangre/orina	20 - 30 mg/100 ml

(Repetto & Repetto, 2015)

#### 4. NORMAS DE SEGURIDAD.

Considere lo estipulado en la Resolución N°073-FGE-2014, Suplemento del Registro Oficial 31825-VIII-2014, acápite: Manual de Bioseguridad.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA.

- Repetto, M. y. (2016). Experto Internacional en Toxicología. *Glosario de Términos usados en Toxicología*. Sevilla, España: CD-ROM.2016.
- Rojas, E. (2011). *Metodología de la Investigación. Investigación Cuantitativa*. Obtenido de <http://metodologiaeconomia2011.blogspot.com/2011/05/investigacion-cuantitativa.html>
- Skoog, D. Y. (1992). *Principios de Análisis Instrumental* . Madrid: Mc Graw Hill. Vargas, B. (2001). Cátedra de toxicología clínica y toxicología II. Quito.

#### 6. ANEXOS.

##### 6.1. Preparación de solución STOCK DE ACETAMINOFÉN: 10mg/100ml.

- Pesar 10 mg de Acetaminofén/Paracetamol.
- Disolver en etanol.
- Aforar a 100 ml con etanol.

##### 6.2. Preparación de solución de REFERENCIA DE ACETAMINOFÉN: 1.0 mg/100ml.

- Diluir 10 ml de la solución stock a 100ml. con etanol absoluto.



**TRAZABILIDAD DEL DOCUMENTO, COPIAS Y COMPULSAS.**

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