



Servicio Nacional
de Medicina Legal
y Ciencias Forenses

INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE SALICILATOS: AAS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Octubre, 2017



CONTROLES

ELABORACIÓN DEL INSTRUCTIVO.

Fase	Nombre / cargo	Firma	Fecha
Elaborado o Modificado por:	Bqc. Catalina Carrillo		29/03/2017
	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	Primer versión del Instructivo para la determinación cuantitativa de Salicilatos/AAS mediante Espectrofotometría UV-VIS.	29/03/2017



ÍNDICE DE CONTENIDO

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

ÍNDICE DE TABLAS.

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



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 CUANTITATIVA DE SALICILATO:AAS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.
Código del instructivo:	SNMLCF-ML-TOXICOLOGÍA-04
Descripción:	<p>PROPÓSITO:</p> <p>Estandarizar la determinación cuantitativa de salicilatos: AAS mediante Espectrofotometría UV -VIS.</p> <p>ALCANCE:</p> <p>Se aplica en muestras biológicas (sangre, suero sanguíneo, y orina) y sustancias sospechosas de causar intoxicación (medicamentos) en casos forenses.</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.

- **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.

- **AAS** : Ácido Acetil Salicilico
- **SNMLCF** : Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses
- **UV-VIS** : Ultravioleta - Visible

3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.

3.1. FUNDAMENTO TEÓRICO.

Los salicilatos son fármacos con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas como resultado de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), que posibilita la síntesis de prostaglandinas y, mediadores de la inflamación. Constituyen un grupo de compuestos derivados del ácido salicílico: aspirina ® o ácido acetilsalicílico (el fármaco más importante del grupo).

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 salicilatos: AAS 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;
- Centrifuga;
- Balanza Analítica; y,
- Espectrofotómetro UV-VIS.



3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO:

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

3.2.3. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE REFERENCIA:

3.2.3.1. REACTIVOS:

- Reactivo de Trinder's;
- Cloruro mercurico;
- HCl 1 N;
- $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; y,
- Agua destilada.

3.2.3.2. ESTÁNDARES/PATRÓN:

- Solución de referencia de AAS de 10.0 mg/100ml;

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

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 estipulaciones:

- Colocar 1 ml. de plasma, suero sanguíneo o sangre en un tubo de ensayo.
- Añadir 5 ml. de reactivo de Trinder's.
- Agitar por 2 minutos.
- Centrifugar por 5 minutos y extraer el líquido sobrenadante
- Realizar el mismo procedimiento con un estándar de ácido acetil salicílico de 10 mg/100 ml.
- Leer en el espectrofotómetro a 540 nm, usar como blanco reactivo de Trinder's.

3.5. MÉTODO DE CÁLCULO: se deberá aplicar la siguiente ecuación:

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

En donde:

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 SALICILATOS EN
MUESTRAS BIOLÓGICAS.

NIVEL	MUESTRA	VALOR
TERAPEÚTICO	SUERO/PLASMA	2 -10 mg/100 ml
TÓXICO	SUERO/PLASMA	15 - 30 mg/100 ml
LETAL/POSTMORTEM	SANGRE/ORINA	50 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.

- Jickells, S. y. (2008). Clarke's Analytical Forensic Toxicology. Londres: Pharmaceutical Press.
- Repetto, M. y. (2016). Experto Internacional en Toxicología. Glosario de Términos usados en Toxicología. Sevilla, España: CD-ROM.2016.
- Repetto, M., & Repetto, M. (2015). Tabla de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos humanos como referencia para el diagnóstico toxicológico (versión 2015). Sevilla, España.
- Rojas, E. (2011). Metodología de la Investigación. Investigación Cuantitativa. Obtenido de <http://metodologiaeconomia2011.blogspot.com/2011/05/investigacion-cuantitativa.html>

6. ANEXOS.

6.1. Preparación de Reactivo de Trinder's: para la preparación de este reactivo se deberán considerar el siguiente procedimiento:

- Pesar 4 g de Cloruro mercuríco.
- Agregar 85.0 ml de una solución de HCl 1N.
- Mezclar y añadir 4 g de Fe (NO₃)₃.9H₂O.
- Llevar hasta aforo de 100ml 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