

## TOXICOLOGÍA ANALÍTICA Y FORENSE

Alphonse Poklis

## TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

## IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN TOXICOLOGÍA FORENSE

## INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA DE UNA MUERTE POR INTOXICACIÓN

## INTOXICACIÓN CRIMINAL DE UNA PERSONA VIVA

## PRUEBAS FORENSES DE DROGAS EN ORINA

## PRUEBAS DE LA CAPACIDAD DE LAS PERSONAS

## TESTIMONIO ANTE LOS TRIBUNALES

## IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN TOXICOLOGÍA CLÍNICA

## IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN LA MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA

## IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN LA MONITORIZACIÓN BIOLÓGICA

## RESUMEN

## ASPECTOS CLAVE

- La toxicología analítica se sirve de los instrumentos de la química analítica para hacer un estudio cuantitativo y cualitativo de las sustancias químicas que pueden tener efectos nocivos sobre los seres vivos.
- La toxicología forense es la aplicación de la toxicología con fines legales; la función más frecuente consiste en identificar cualquier sustancia que haya podido causar una lesión o la muerte de una persona, o daños contra la propiedad.
- La investigación toxicológica de una muerte por intoxicación abarca: 1) obtener un historial médico lo más detallado posible y recoger las muestras idóneas; 2) llevar a cabo los análisis toxicológicos pertinentes a partir de las muestras disponibles, y 3) interpretar los resultados de los análisis.
- Como perito, el toxicólogo puede aportar un testimonio objetivo y una opinión. El testimonio objetivo suele constar de una descripción de los métodos de análisis y de sus resultados. Cuando en su declaración interpreta los resultados analíticos, el toxicólogo está expresando una «opinión».

## TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

La toxicología analítica utiliza los instrumentos de la química analítica para hacer un estudio cuantitativo y cualitativo de las sustancias químicas presentes en los seres vivos. La toxicología forense es la aplicación de la toxicología con fines legales; la función más frecuen-

te consiste en identificar cualquier sustancia que haya podido causar una lesión o la muerte de una persona, o daños contra la propiedad.

La metodología sistemática y la experiencia práctica aportada por generaciones de toxicólogos forenses se combinan con las sofisticadas herramientas de la química analítica con el fin de obtener la informa-

ción necesaria para comprender mejor todos los peligros de las sustancias tóxicas.

En 1873, Chapuis describió en su obra *Elements de Toxicologie* un sistema para clasificar los compuestos tóxicos en diversas categorías: gases, sustancias volátiles, agentes corrosivos, metales, aniones y no metales, sustancias orgánicas no volátiles y misceláneas. Esta clasificación descriptiva guarda una estrecha relación con el método empleado para separar un tóxico de la matriz en la que está integrado. En dicha matriz, la sustancia investigada puede estar en solución simple o estar unida a proteínas y a otros constituyentes de la célula; antes de llevar a cabo el análisis, es necesario aislar al agente. Cada tipo de material se aísla mediante un método analítico diferente.

## IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN TOXICOLOGÍA FORENSE

Las obligaciones de un toxicólogo forense al investigar un cadáver consisten en analizar cualitativa y cuantitativamente las drogas o tóxicos presentes en las muestras biológicas recogidas en la autopsia, e interpretar los resultados de los análisis con respecto a los efectos fisiológicos y conductuales de las sustancias químicas detectadas en el fallecido en el momento de la muerte.

La causa de la muerte la establecen el médico legista o el médico forense, pero para llegar a una conclusión correcta suele ser necesario aunar los esfuerzos del forense y el toxicólogo. En los casos de intoxicación, la causa de la muerte no puede demostrarse sin discusión si no se practica un análisis toxicológico que confirme la presencia del compuesto tóxico en los tejidos y líquidos corporales de la persona fallecida. Además, un toxicólogo puede facilitar pruebas valiosas sobre las circunstancias que rodearon a la muerte. Estos casos suelen consistir en demostrar la presencia de concentraciones tóxicas de etanol en las víctimas de accidentes de automóvil o laborales, o de concentraciones tóxicas de monóxido de carbono en las víctimas de incendios para determinar si la muerte se produjo antes del incendio o como consecuencia del mismo.

## INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA DE UNA MUERTE POR INTOXICACIÓN

La investigación toxicológica de una muerte por intoxicación se divide en tres etapas: 1) obtener un historial médico lo más detallado posible y recoger las muestras idóneas; 2) llevar a cabo los análisis toxicológicos pertinentes a partir de las muestras disponibles, y 3) interpretar los resultados de los análisis. Se puede encontrar la respuesta a determinadas preguntas, como la vía

de administración, la dosis suministrada y si la concentración del tóxico presente era suficiente como para ocasionar la muerte o como para alterar las actuaciones del fallecido lo bastante como para provocar su muerte.

## INTOXICACIÓN CRIMINAL DE UNA PERSONA VIVA

Durante los últimos decenios, los toxicólogos forenses se han involucrado cada vez más en el análisis de las muestras obtenidas en las víctimas de una intoxicación criminal. En líneas generales, esta proliferación de pruebas se ha debido a dos tipos de casos: 1) la administración de fármacos para incapacitar a las víctimas de secuestros, robos o agresiones sexuales, y 2) la intoxicación como forma de maltrato infantil.

Aunque el alcohol sigue siendo el factor dominante en las presuntas agresiones sexuales, es frecuente la participación del consumo de drogas comunes y de otros fármacos psicoactivos (Cuadro 31-1). Merecen una mención especial los numerosos fármacos que con fines médicos se administran como inductores potentes antes de una anestesia general. Muchos de estos fármacos, como las benzodiazepinas y las fenotiazinas, se consiguen de manera ilegal o se adquieren legalmente en el extranjero. Cuando se administran de manera clandestina provocan sedación, incapacitan a la víctima y causan amnesia de los acontecimientos ocurridos mientras la víctima estaba drogada, pero sin ocasionar una depresión grave del sistema nervioso central. Estas circunstancias plantean un gran reto para los toxicólogos, pues normalmente el fármaco ya ha desaparecido del cuerpo de la víctima para cuando ésta puede formular la denuncia.

La intoxicación como forma de maltrato infantil consiste en la administración intencionada de una sustancia tóxica o nociva a un niño. Las sustancias más utilizadas para intoxicar deliberadamente a los niños son el jarabe de ipecacuana, el cloruro sódico, los laxantes, los diuréticos, los antidepresivos, los hipnóticos y sedantes y los narcóticos. La intención varía desde conseguir que un lactante deje de llorar hasta castigar a un niño mayor obligándole a ingerir el tóxico. Para detectar estas sustancias a veces es necesario utilizar métodos sofisticados como la cromatografía de gases y la espectroscopia de masas.

## PRUEBAS FORENSES DE DROGAS EN ORINA

La preocupación por las posibles consecuencias nocivas de la toxicomanía, tanto para el individuo como para la sociedad, ha generalizado el uso de los análisis de orina para detectar la presencia de fármacos contro-

**Cuadro 31-1**  
**Distribución de las sustancias detectadas en las muestras de orina de 578 casos de presunta agresión sexual**

ORDEN	SUSTANCIA O GRUPO DE SUSTANCIAS	INCIDENCIA	PORCENTAJE DE CASOS*
1.	Ninguna	167	29
2.	Etanol	148	26
3.	Benzodiazepinas	70	12
4.	Marihuana	67	12
5.	Anfetaminas	41	7
6.	γ-Hidroxibutirato	24	4
7.	Opiáceos (morfina/codeína)	20	4
8.	Otras	13	3

\* Los porcentajes no suman 100% debido al redondeo.  
FUENTE: Datos de ElSohly MA et al: Analysis of flunitrazepam metabolites and other substances in alleged cases of sexual assault. Presentado en el 50th Anniversary Meeting of the American Academy of Forensic Sciences: San Francisco, CA, February 13, 1997.

lados o de drogas ilícitas. Las pruebas forenses de drogas en orina (PFDO) se diferencian de otros campos de la toxicología forense en que la orina es la única muestra analizada y en que sólo se investiga un número limitado de drogas. La primera prueba es un inmunoanálisis llevado a cabo en analizadores de gran rendimiento y alta velocidad. A continuación se confirma el resultado en los laboratorios acreditados para la realización de PFDO.

Muchas de las personas que se someten a pruebas de orina frecuentes idean métodos para enmascarar el consumo de sustancias bien a través de medios fisiológicos, como la ingestión de diuréticos, o bien intentando adulterar directamente la muestra con lejía, vinagre u otros productos que obstaculicen el inmunoanálisis inicial. La posible adulteración se comprueba de forma sistemática midiendo el pH, la creatinina y la densidad de la orina, y observando si la orina muestra un color u olor inusuales. Recientemente ha surgido un pequeño negocio consistente en vender diferentes productos que «engañan a los analizadores de drogas» obstaculizando el análisis inicial o el de confirmación. Por ello, los laboratorios de PFDO actualmente comprueban siempre no sólo las drogas sino también una amplia variedad de adulterantes químicos. En la mayoría de los casos, una prueba de adulteración positiva conlleva consecuencias tan graves como un análisis de drogas positivo.

**PRUEBAS DE LA CAPACIDAD DE LAS PERSONAS**

Entre las actividades de la toxicología forense también está la evaluación de la presencia de etanol y de otros fármacos y sustancias en la sangre, el aire espirado u

otras muestras, así como de sus consecuencias sobre la capacidad y el comportamiento humanos. La finalidad más frecuente de las pruebas de la capacidad de las personas es determinar si se han conducido vehículos bajo los efectos del alcohol o de drogas. El umbral de la concentración de alcohol en sangre, o alcoholemia, a partir del cual disminuye la capacidad para conducir es en muchas personas de tan sólo 0.04 g/dL, lo cual equivale a beber dos cervezas en una hora. En Estados Unidos, la definición legal de conducción bajo los efectos del alcohol abarca una alcoholemia de 0.08 ó 0.10 g/dL, dependiendo de las leyes de cada estado. Estas concentraciones se corresponden con una disminución de la capacidad para realizar técnicas de conducción complejas en la gran mayoría de las personas.

Durante el último decenio, la preocupación por los efectos nocivos de otras drogas distintas del etanol sobre la capacidad para conducir ha ido en aumento. La mayor parte de los accidentes relacionados con las drogas se debe al consumo de drogas ilegales o de fármacos controlados como la cocaína, las benzodiazepinas, la marihuana y la fenciclidina. Demostrar que el consumo de drogas ha repercutido en un accidente de circulación es una tarea difícil; todavía quedan por resolver los problemas legales y científicos relativos a la concentración de cada sustancia y el deterioro de la capacidad para conducir. No existen protocolos legales que permitan determinar si alguien ha conducido bajo el efecto de alguna droga.

**TESTIMONIO ANTE LOS TRIBUNALES**

A menudo se solicita al toxicólogo forense que testifique en un procedimiento jurídico. El toxicólogo es lo que se llama un «perito». Un perito puede aportar dos

tipos de declaraciones: un testimonio objetivo y una «opinión». El testimonio objetivo del toxicólogo suele consistir en una descripción de sus métodos de análisis y de sus resultados. Cuando un toxicólogo hace una interpretación de los resultados analíticos propios o ajenos, está expresando una opinión. A un perito se le pide que informe como experto al jurado. Es el jurado, y no el perito, el que determina la culpabilidad o la inocencia del acusado.

**IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN TOXICOLOGÍA CLÍNICA**

La toxicología analítica desempeña en el ámbito clínico un papel muy parecido al que cumple en la toxicología forense. Como herramienta para el diagnóstico y el tratamiento de las intoxicaciones, y para vigilar la eficacia del tratamiento, la toxicología analítica permite identificar el tipo de exposición tóxica y medir la cantidad de sustancia que se ha absorbido. Esta información, junto con la situación clínica del paciente, suele ayudar al médico a relacionar los signos y los síntomas observados con los efectos previstos del tóxico. Una regla básica en el tratamiento de las intoxicaciones es eliminar toda la sustancia que no se haya absorbido, limitar la absorción ulterior y acelerar la eliminación del tóxico. El laboratorio de toxicología clínica participa también en esta fase del tratamiento vigilando la cantidad de tóxico que permanece en la circulación o midiendo la excreción. En el Cuadro 31-2 se enumeran los tóxicos más frecuentemente identificados en las pruebas toxicológicas urgentes y los métodos rápidos empleados para detectar su presencia en el suero la orina o en ambos.

Las principales indicaciones de las pruebas toxicológicas urgentes son la determinación cuantitativa rápida

da de la concentración sérica de paracetamol, salicilatos, alcoholes y glicoles ante la sospecha de una sobredosis. El etanol es la sustancia que se encuentra con mayor frecuencia. Aunque la cantidad de intoxicaciones mortales por etanol es escasa, la alcoholemia tiene una gran importancia a la hora de evaluar la función neurológica y conductual. En los servicios de urgencias es frecuente tratar intoxicaciones por la ingestión deliberada o accidental de otros alcoholes o glicoles, como el metanol del anticongelante de los parabrisas o de los disolventes, el isopropanol del alcohol utilizado para frías y el etilenglicol de los anticongelantes.

En los últimos años se ha producido un aumento considerable de la utilización de los servicios analíticos de los laboratorios de toxicología. Normalmente, el laboratorio realiza pruebas no sólo para los servicios de urgencias sino también para una gran variedad de servicios médicos, ya que las drogas y los tóxicos pueden constituir una posibilidad diagnóstica.

**IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN LA MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA**

Antiguamente, los tratamientos farmacológicos prolongados se pautaban en gran medida de forma empírica. Si un fármaco se mostraba ineficaz, se aumentaba la dosis; si aparecían efectos secundarios, se disminuía la dosis o se modificaba el intervalo de administración. Los factores que influyen en la variabilidad individual de la respuesta al tratamiento son la velocidad y la magnitud de la absorción del fármaco, su distribución y fijación en los tejidos y líquidos corporales, la velocidad de su metabolismo y de su excreción, las enfermedades y la interacción con otros fármacos. Monitorizando la concentración plasmática o sérica a intervalos regulares se

**Cuadro 31-2**  
**Sustancias más frecuentemente detectadas y métodos de análisis en toxicología de urgencias**

ORDEN	SUSTANCIA O GRUPO DE SUSTANCIAS	MUESTRA	MÉTODO ANALÍTICO
1.	Drogas de abuso (anfetaminas, cocaína, opiáceos, fenciclidina)	Orina	Inmunoanálisis
2.	Etanol	Suero	CG
3.	Benzodiazepinas	Orina/ suero	Inmunoanálisis /CG/ EM
4.	Paracetamol, salicilatos	Suero	Inmunoanálisis o CLAR
5.	Antidepresivos tricíclicos	Suero	Inmunoanálisis o CLAR
6.	Ibuprofeno	Orina/ suero	CCF / CLAR
7.	Dextropropoxifeno	Orina	Inmunoanálisis
8.	Fluoxetina	Orina/ suero	CCF/ CLAR
9.	Barbitúricos (fenobarbital al 50%)	Orina/ suero	Inmunoanálisis /CG
10.	Difenhidramina	Orina	CCF

CLAVE: CG: cromatografía de gases; CG/ EM: cromatografía de gases/ espectrometría de masa; CLAR: cromatografía de líquidos a alta resolución; CCF: cromatografía de capa fina.

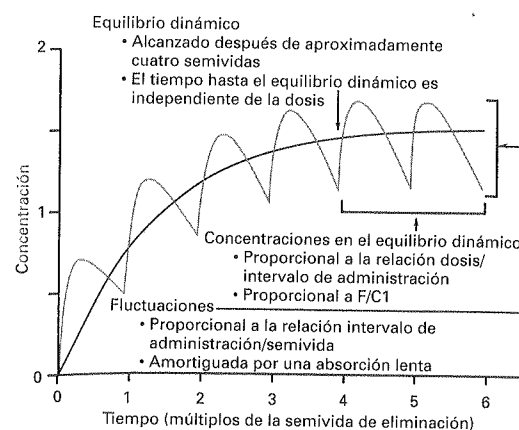
detectarán las desviaciones de la concentración promedio, lo que a su vez indicará que hay que identificar y corregir una o más de las variables mencionadas.

En un paciente determinado, cuando los diferentes factores son supuestamente constantes, la administración de una misma dosis de un fármaco a intervalos regulares conducirá finalmente a una situación de equilibrio dinámico (Fig. 31-1). Monitorizando la concentración en equilibrio se asegura la existencia de una concentración eficaz. En el Cuadro 31-3 se citan las situaciones en las que es adecuado hacer una monitorización terapéutica.

Existen numerosas técnicas analíticas diferentes que se pueden emplear en función de las características de cada fármaco. Prácticamente todos los instrumentos de los que dispone el analista se utilizan en las aplicaciones específicas de la toxicología analítica. En el Cuadro 31-4 se exponen los fármacos que se suelen controlar durante el tratamiento, sus concentraciones terapéuticas habituales, los «valores de pánico» (concentraciones séricas asociadas a posibles efectos tóxicos graves) y los métodos de análisis empleados para las determinaciones en suero.

### IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS EN LA MONITORIZACIÓN BIOLÓGICA

Se ha hecho evidente que la monitorización directa del trabajador demuestra la exposición mejor que la simple monitorización del ambiente, ya que permite demostrar lo que realmente se ha absorbido. Ésta es la denominada monitorización biológica. Las exposiciones ambientales



**Figura 31-1. Relaciones farmacocinéticas fundamentales para la administración repetida de los fármacos.** La línea azul muestra el patrón de acumulación del fármaco durante su administración repetida con intervalos equivalentes a la semivida de eliminación, cuando la absorción del fármaco es 10 veces más rápida que la eliminación. A medida que aumenta la velocidad relativa de absorción, la concentración máxima durante el equilibrio dinámico se aproxima a 2, mientras que la mínima se aproxima a 1. La línea negra representa el patrón durante la administración de una dosis equivalente mediante una infusión intravenosa continua. Las curvas están basadas en el modelo monocompartimental. La concentración promedio (C<sub>ss</sub>) cuando se ha alcanzado el equilibrio dinámico durante la administración intermitente del fármaco es  $C_{ss} = F \times \text{dosis} / CL \times T$ , donde  $F$  = fracción biodisponible de la dosis y  $T$  = intervalo de administración (tiempo). Sustituyendo  $F \times \text{dosis} / T$  por la velocidad de infusión, la fórmula proporciona la concentración mantenida en el equilibrio dinámico durante la infusión intravenosa continua.

**Cuadro 31-3**  
Empleo correcto de la monitorización de fármacos en terapéutica

INDICACIÓN	EJEMPLOS
Optimizar la eficacia minimizando la toxicidad	
CPF* óptima para el efecto clínico	Aminoglucósidos
Valor sérico máximo profiláctico, sistemático	Antiarrítmicos
Escasa respuesta del paciente	
Sospecha de intoxicación	
Resolver los factores de complicación	
Características del paciente	Edad, tabaquismo, incumplimiento terapéutico
Enfermedad	Insuficiencia renal, hepatopatía
Interacciones farmacológicas	Inducción o inhibición del metabolismo del fármaco
Cambio súbito en el estado fisiológico	La mejoría de la función cardíaca por el tratamiento con lidocaína aumenta la eliminación
Diseñar el régimen posológico	
Individualizar la posología futura (CPF única)	Posología idónea ideal para los aminoglucósidos
Caracterizar la farmacocinética (varias CPF)	Lidocaína en equilibrio dinámico
Controlar la CPF	Litio, medicolegal
Constatar el tratamiento	

\* CPF = concentración plasmática del fármaco

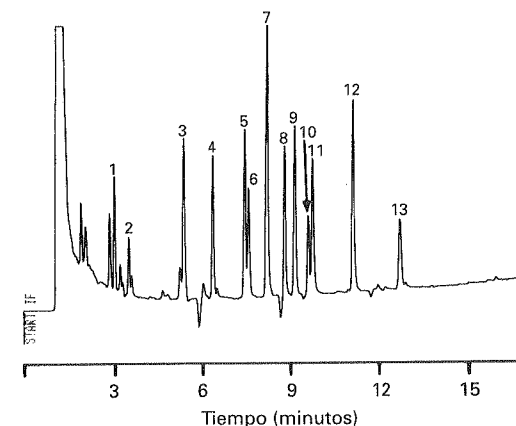
**Cuadro 31-4**  
Fármacos con los que habitualmente se indica monitorización terapéutica

FÁRMACO	INTERVALO SÉRICO EFICAZ (mg/L)	VALOR DE PÁNICO = > mg/L	MÉTODO DE ANÁLISIS
Antiarrítmicos			
Digoxina	0.0005-0.002	0.0024	Inmunoanálisis
Procainamida	4-10	12	Inmunoanálisis
NAPA	5-30	40	Inmunoanálisis
Anticonvulsivos			
Carbamazepina	4-12	15	Inmunoanálisis
Gabapentina	2-15	20	CG
Lamotrigina	0.5-8	10	CLAR
Fenobarbital	15-30	50	Inmunoanálisis
Fenitoína	10-20	40	Inmunoanálisis
Topiramato	2-10	Indeterminado	CG
Ácido valproico	50-100	200	CG
Antidepresivos			
Amitriptilina	0.08-0.250	0.5	CLAR
Desipramina	0.125-0.30	0.4	CLAR
Nortriptilina	0.08-0.250	0.5	CLAR
Antimicrobianos			
Tobramicina	0.5-1.5 (mínima)	2	Inmunoanálisis
	5-10 (máxima)	12	
Vancomicina	5-10 (mínima)	90	Inmunoanálisis
	30-40 (máxima)		
Imunosupresores			
Ciclosporina	0.1 (mínima, sangre)		CLAR
Apnea neonatal			
Cafeína	8-20	50	CLAR

CLAVE: CG = cromatografía de gases; CLAR = cromatografía de líquidos de alta resolución.

suelen ser a una mezcla de compuestos o a sustancias que se transforman en metabolitos importantes desde el punto de vista fisiológico. Así pues, los métodos de análisis deben ser capaces de distinguir una familia de sustancias químicas y sus principales metabolitos (Fig. 31-2). Además, tienen que ser lo suficientemente sensibles y específicos como para medir concentraciones minúsculas de los compuestos en matrices biológicas complejas.

Existen otros métodos más indirectos que medir la sustancia química o sus metabolitos en los líquidos corporales, en el pelo o en el aire espirado de un empleado. Las sustancias que reaccionan con las macromoléculas forman aductos de larga duración. Dichos aductos pueden determinarse periódicamente y servir para calcular la exposición a determinadas sustancias durante períodos prolongados. Por ejemplo, se ha investigado en obreros la presencia de aductos de óxido de etileno y ADN o hemoglobina. Otra técnica de gran utilidad para la monitorización biológica consiste en medir las alteraciones provocadas por los xenobióticos sobre los metabolitos normales. Aunque la detección de la alteración de la excreción urinaria de estos metabolitos posiblemente no indique una exposición a sustancias concretas, esta técnica se puede usar de forma genérica para señalar una exposición potencialmente nociva.



**Figura 31-2. Separación por cromatografía de gas capilar de pesticidas con hidrocarburos clorados añadidos al suero humano en concentraciones entre 1 y 4 ng/mL.** Pico número 1, lindano-a; 2, lindano-c; 3, heptacloro; 4, estándar interno; 5, epóxido de heptacloro; 6, oxiclordano; 7, clordano-c; 8, clordano-a; 9, *trans*-nonacloro; 10, dieldrin; 11, *p,p*-DDE; 12, *p,p*-DDD; 13 *p,p*-DDT. (Separación basada en el método de Said JJ, Poklis A: Determination of chlorinated hydrocarbon pesticides by solid phase extraction capillary GC with electron capture detection. *J Anal Toxicol* 14:301-304, 1990).

El reconocimiento precoz de un problema toxicológico permite proteger al trabajador antes de que se produzcan consecuencias irreversibles.

### RESUMEN

Las técnicas de análisis puestas en marcha por los toxicólogos forenses han ido ganando en complejidad y fiabilidad. Los toxicólogos forenses continúan buscando la identificación inequívoca de las

sustancias tóxicas para que los resultados puedan resistir las exigencias legales. Los problemas de las toxicomanías, de las drogas de diseño, de la gran potencia de los fármacos y de la preocupación generalizada por la contaminación y por la seguridad y la salud de los trabajadores representan un desafío para las capacidades de los analistas. Al ir superando estos retos, los toxicólogos analistas mantienen un lugar importante en la expansión de la toxicología como especialidad.

### BIBLIOGRAFÍA

Brandenberger H, Maes RAA: *Analytical Toxicology for Clinical, Forensic, and Pharmaceutical Chemists*. New York: De Gruyter, 1997.

Flanagan RJ: *Basic Analytical Toxicology*. Geneva: World Health Organization, 1995.

LeBeau M, Andollo W, Hearn WL, et al: Recommendations

for toxicological investigation of drug-facilitated sexual assaults. *J Forensic Sci* 44:227-230, 1999.

Shaw LM: *The Clinical Toxicology Laboratory: Contemporary Practice of Poisoning Evaluation*. Washington, DC: AACC Press, 2001