



## “LA IMPORTANCIA DE LA IMPLEMENTACIÓN DE PRACTICAS EN LA ASIGNATURA DE TOXICOLOGIA”

María Sonia Hernández Duarte; [soniduarte@hotmail.com](mailto:soniduarte@hotmail.com)

Jorge Humberto Zúñiga Contreras; [johuzuco@hotmail.com](mailto:johuzuco@hotmail.com)

Miguel Ramírez Ochoa; [miguel\\_raom@yahoo.com.mx](mailto:miguel_raom@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

Durante muchos años, la Toxicología, fue la ciencia de los tóxicos e intoxicaciones, considerada como una rama de la ciencia forense y la criminología. Según Repetto, (1995) la Toxicología figura como ciencia independiente con el código 3214, dentro del grupo 32 de la Ciencias Médicas en el catálogo de Nomenclatura Internacional para los campos de la Ciencia y la Tecnología de la UNESCO.

Hoy en día, está claro que el estudio de aplicación de la toxicología tiene tres áreas fundamentales: descriptiva, analítica, experimental; con sus distintas ramas: clínica, forense, ambiental, ecotoxicología, laboral, regulatoria, alimentaria, inmunotoxicología, toxicogenética.

La Toxicología Clínica incluye la prevención, diagnóstico y el manejo de las intoxicaciones. Los servicios de toxicología analítica proveen soportes para esta área de la Toxicología. Esta información emanada de la Toxicología analítica es variada y depende de la complejidad de los laboratorios. En muchos países en vías de desarrollo tales servicios no están disponibles, ya que no cuentan con un equipo de salud completo. Es por eso, que algunos laboratorios de análisis clínicos han desarrollado perfiles mínimos para ayudar a la urgencia toxicológica.

Tales pruebas podrían realizarse en laboratorios básicos que están habilitados en la mayoría de los hospitales. Estos no hace referencia a procedimientos complejos como cromatografía gas-líquido (GC), cromatografía líquida de alta performance o resolución (HPLC), espectrofotometría de absorción atómica, espectrometría de masas, etc. Entrenando al personal del laboratorio se podrían llevar a cabo estos procedimientos y proporcionar un servicio de análisis toxicológicos.



## **PALABRAS CLAVES.**

Equipos Analíticos, Repetividad, Toxicidad, Cuantificar, Evaluar.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

Un laboratorio toxicológico proporciona resultados epidemiológicos, de diagnóstico, terapéuticos, etc., en el ámbito clínico, laboral, legal, deportivo, etc., donde los posibles errores analíticos pueden influir enormemente en la libertad y derechos civiles del individuo y en la salud. Por ello, las mediciones analíticas deben realizarse de forma tal que satisfagan un requerimiento acordado como ser un sistema de calidad que produzca resultados de alta calidad. También es necesario contar con un control de calidad que diseñe las actividades para proporcionar dichos resultados y por último una garantía de calidad que asegure que las actuaciones del control de calidad se ejecuten correctamente. A lo largo de los años los docentes de Toxicología hemos apelado a recomendar a nuestros alumnos y colegas de laboratorios, diferente bibliografía, muy valiosa, pero que tratan solo algunos aspectos de la analítica toxicológica dirigidos a resolver problemáticas que involucran en forma particular a plaguicidas, o drogas de abuso, o específicamente intoxicaciones medicamentosas, animales ponzoñosos y plantas de ornato (es el fundamento de esta investigación) o aquellas relacionadas a problemas ambientales, abordando únicamente el tratamiento y determinación de compuestos tóxicos volátiles, productos de combustión y/o partículas, polvos, humos y vapores, u otras problemáticas particulares.

Una de las problemáticas que se presentan con los alumnos es la falta de prácticas de campo sobre esta asignatura ya que los mismos son preparados teóricamente pero dista mucho de tener conocimiento práctico sobre los procedimientos analíticos de la toxicología.

## **OBJETIVO**

Presentar un conjunto de técnicas simples sencillas que se llevan a cabo en laboratorios de rutina.



Aprender diferentes métodos para la identificación de analitos en diferentes muchas biológicas.  
Desarrollar habilidades cognitivas que sirvan en el ámbito laboral.  
Demostrar la importancia y necesidad de la elaboración de las prácticas del laboratorio.  
Separar el agente toxico en cantidad y pureza suficientes para permitir su caracterización y cuantificación.

### **JUSTIFICACIÓN.**

La necesidad de formar profesionistas integrales en el área química, bióloga y farmacéutica, dio la pauta para implementar practicas en la asignatura de Toxicología que coadyuven al fortalecimiento de la teoría adquirida y aprendida a lo largo de cursar la curricula completa; y cuando se menciona formar es para delimitar el conocimiento, pues lo que se pretende no solo es informar sino formar profesionistas que al salir de la aulas puedan ejercer de manera total dicha profesión. El mundo globalizado exige profesionistas preparados que puedan enfrentar con determinación los retos que se les presentaran, por lo tanto deben conocer como determinar los analitos en muestras biológicas, extracción y la cuantificación de ellos por los diferentes equipos analíticos que se encuentren en el laboratorio, las propiedades fisicoquímicas de los agentes tóxicos para poder identificarlos y dar un resultado verídico, ético y profesional, es por esto que se justifica que los conocimientos que han adquirido se complementen con el binomio teoría-praxis para lograr un profesionista integral.

### **FUNDAMENTACION TEORICA**

El procedimiento analítico incluye, usualmente, dos pasos: un análisis preliminar que permita identificar las muestras negativas, que no contienen ninguna sustancia o metabolito, o detectar las drogas u otros tóxicos que pudieran estar presentes en la muestra; el segundo paso sería la confirmación de la identidad de las sustancias presentes en las muestras positivas.

Antes de emitir el informe, todos los datos analíticos deben ser revisados por una persona con capacidad científica y con experiencia en los métodos analíticos empleados. La revisión debe incluir, al menos, documentación sobre la cadena de custodia, validez de los datos analíticos cualitativo y cuantitativos (cromatogramas de la muestra, de patrones y de un blanco) y datos



del control de calidad. Por último se emitirá un informe escrito que presente los resultados del análisis y toda la información relevante de forma clara, exacta y sin ambigüedades (International Standards Organization, 1982).

La importancia y trascendencia de los análisis toxicológicos ha motivado que algunos organismos internacionales establezcan normativas para garantizar la calidad y fiabilidad de los resultados. Entre ellos se encuentran el National Institute of Drugs of Abuse (NIDA, 1988), la Society of Forensic Toxicologists y la American Academy of Forensic Sciences (SOFT/AAFS, 1997), la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1993), la International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT, 1994) y la Society of Hair Testing (SHT, 1997).

Los avances en la instrumentación analítica permiten aumentar la sensibilidad en las determinaciones de las sustancias que se desean investigar, lográndose cuantificar cantidades del orden de los femtogramos. Si bien ello es altamente deseable para el analista toxicológico, pueden presentarse en algunos casos el riesgo de informar resultados falsos positivos especialmente en los análisis de drogas de abuso. Debido a ello, deben establecer valores de corte o cut-off, también llamados umbrales positivos. Estos valores de corte son las concentraciones de los analitos por encima de las cuales se considera como seguro un resultado positivo. Estos valores tendrían que estar consensuados entre todos los laboratorios y deberían ser diferentes según se aplicaran en toxicología clínica, forense, laboral, ambiental, etc.

Dentro de las prácticas se utilizan diagramas de flujo conocidos como procedimientos de las extracciones de las muestras biológicas.

## **METODOLOGIA**

La metodología utilizada fue la propia que maneja la toxicología en diversos laboratorios tales como; La cuantificación emplea métodos específicos y sustancias de referencia certificadas, así como estándares internos. Estos últimos son sustancias que deben poseer características físicas y químicas lo más similares posibles al analitos. Por este motivo, en los análisis por GC/MS (CROMATOGRAFO DE MASAS) son ideales las sustancias deuteradas de los analitos en estudio como estándares internos.



Estos compuestos se deben añadir al principio del procesado de la muestra y siempre antes de someterla a una extracción con el objeto de evaluar la recuperación del método. Los marcadores que se añaden después de la extracción se conocen como patrones externos.

La elección de un método analítico se realiza en función del menor número de errores aleatorios o sistemáticos que pueda generar y debe ser vigilado por el programa de Garantía de Calidad. Previamente debe realizarse una revisión bibliográfica y se deben considerar los instrumentos disponibles y la duración de los análisis. Posteriormente hay que comprobar parámetros tales como:

**Linealidad:** consiste en verificar que, en el patrón de calibración utilizado, la relación entre la respuesta, definida por el área o altura de los picos cromatográficos y la concentración, es lineal en el intervalo de concentraciones presentes en las muestras analizadas.

**Sensibilidad:** un método es sensible cuando cambios pequeños de concentraciones originan cambios significativos en la respuesta analítica. El límite de detección se define como la señal más baja del analito, expresada en concentración, que se puede diferenciar de un blanco analizado en las mismas condiciones. El límite de cuantificación es la concentración más baja que se puede determinar con seguridad y precisión aceptables y debe ser, al menos, dos veces el valor del límite de detección.

**Recuperación:** Se determina en una muestra a la que se le agrega patrones de concentración conocida del analitos en cuestión y procesada con igual método analítico que el empleado en las muestras de concentración desconocida. Esta concentración obtenida se la relaciona con la obtenida a partir de un patrón puro que no ha sido sometido a ningún tratamiento.

**Precisión:** es una medida del error variable y se define como la concordancia entre medidas repetidas de la misma muestra. Existen dos tipos: intraensayo e interensayo, también conocida como reproducibilidad.

**Seguridad o exactitud:** es la medida del error sistemático y se define como la concordancia entre el valor medio medido y el valor de referencia aceptado.

Siempre que no se utilice un método oficial de análisis, como los de la AOAC (Analytical Official Analysis Chemical), es conveniente validar el método usado. La validación es un proceso por el cual se evalúan las características de un método y se comprueba que las mismas cumplen una serie de requisitos preestablecidos. Es una parte muy importante del



programa de garantía de calidad y permite asegurar que los resultados analíticos tienen la exactitud adecuada para su aplicación.

La metodología usada en esta materia es la denominada investigación de campo (La investigación científica es el proceso de análisis y comprensión de una de una realidad y los problemas que en ella hay. Para que una investigación sea considerada rigurosa debe emplear el método científico. El más habitual y comúnmente utilizado es el método hipotético deductivo.

El método utilizado es lo que otorga validez y fiabilidad a la investigación. La investigación tiene diversidad de enfoques: teórica, práctica, aplicada, etc. Y una de las investigaciones más originales es la investigación de campo. Consiste en analizar una situación en el lugar real donde se desarrollan los hechos investigados (Tamayo 2004) ES

Se les dio la información precisa a los alumnos sobre la practica.

1. Determinación del veneno del arácnido
2. Especificar la metodología usada
3. Resultados de la práctica

## RESULTADOS.

Los trabajaron la practica desarrollando los puntos que conllevan; morfología del arácnido, la dosis toxica, la composición del veneno, la toxicodinamia (ADME), sintomatología, antídotos, tratamiento, medidas preventivas. Se hicieron diversos trabajos sobre plantas de ornato, arácnidos, serpientes, animales marinos, abeja, avispa, abejorro. Para efecto de esta investigación se presenta un ejemplo un alumno que realizo sobre la viuda negra.



### Introducción

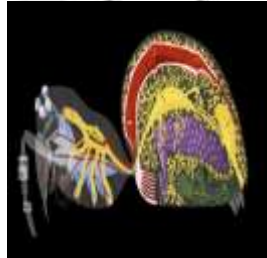
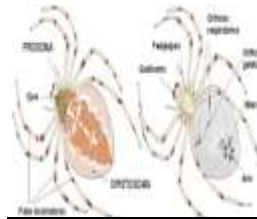
En nuestro país, existen más de 1700 especies de arañas. Entre las tres más agresivas está *Latrodectus mactans* mejor conocida como viuda negra, casampulga, araña capulina, araña del lino, del reloj de la muerte.

El nombre proviene de la costumbre de las hembras de comerse al macho después del apareamiento.

Distribuida a través de casi todo el mundo.

Habitan en zonas oscuras y húmedas, al aire libre, a nivel del suelo, en zonas llanas pueden vivir en el pasto ó algunos cultivos.

### Morfología



### Composición del veneno

Contiene varias toxinas de proteínas, llamadas latrotoxinas, que se dirigen selectivamente contra cualquiera de vertebrados, insectos y crustáceos.

Una de estas toxinas es un latrotoxina y se dirige selectivamente contra los vertebrados, es ineficaz en insectos y crustáceos.

Un-LTX tiene una alta afinidad por los receptores que son específicos para las células neuronales y endocrinas de los vertebrados.

La LD50 en g/Kg de peso corporal:

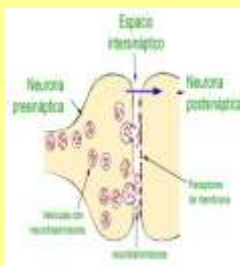
ratones = 20-40.	polluelo = 2.1
rana = 145 mg/kg	ratón = 0,9
mirlo = 5,9	mosca = 0,6
canario = 4,7	paloma = 0,4
cucaracha = 2,7	cobaya = 0,1

### Toxicodinamia

Latrotoxina alfa interactúa con los receptores en la membrana neuronal. Una vez que el tetrámero se inserta en la membrana celular, pueden ocurrir dos mecanismos de las acciones.

En primer lugar puede conducir a la formación de poros.

En segundo lugar se une a los receptores presinápticos (neurexin 1alfa y latrophilin). Esta unión provoca la liberación de neurotransmisores de los sitios pre-sinápticos y da como resultado la estimulación excesiva de la placa motora, lo que causa espasmos musculares, sudoración local, piloerección, y presión arterial elevada.



### Sintomatología

- Tarda 1 h en presentar síntomas.
- Rara vez causa problemas graves de salud.
- En casos graves, puede causar latrodoctismo (presión arterial elevada, dolor muscular generalizado, calambres abdominales, sudoración y taquicardia).
- En dura humanos de 3-6 días.
- Pacientes no tratados han mostrado signos durante 7 días, debilidad muscular, dolor y malestar pueden persistir por semanas.
- 75% de los pacientes intoxicados experimentan efectos locales y no desarrollan envenenamiento sistémico.
- Un pinchazo o sensación de ardor se puede sentir al ser picados por arañas viuda. El dolor puede extenderse a los ganglios linfáticos locales o generalizado.
- En el 25% de los incidentes, además experimentan calambres musculares, espasmos, parálisis, náuseas, vómitos, dolor de cabeza, fiebre, malestar general, la hipertensión y temblores.

GRADO DE INTOXICACION	CUADRO CLINICO
GRADO I O LEVE	Dolor en sitio lesión, en. Minf. Astenia, adinamia, diaforesis, Sialorrea, hiperreflexia.
GRADO II O MODERADA	Cuadro anterior, acentuado Disnea, lagrimeo, cefalea, espasmo Contractura, o rigidez muscular, Pripapismo.
GRADO III O SEVERA	Cuadro anterior acentuado, miosis Midriasis, trismus, Trastornos de ritmo Cardíaco, broncoespasmo.

### Tratamiento

- Depende de la severidad de la intoxicación.
- La mayoría de los pacientes se curan.
- Primeros auxilios no útil.
- Presión y calentamiento de la herida pueden empeorarla.
- Cuando el incidente es demasiado dolorosa, antídoto es administrado.
- Médicos recomiendan uso de medicina para el dolor antes del antídoto.
- Estos medicamentos son analgésicos opioides, benzodiazepinas, gluconato de calcio, antiespasmódicos y relajantes.
- Hay casos en los que se producen latrodoctismo sistémica, que pueden afectar al paciente durante meses.

NO USAR DESINFECTANTES QUE COLOREEN LA ZONA AFECTADA  
NO EMPLEAR TORNIQUETES DE LA EXTREMIDAD AFECTADA.  
NO HACER CORTES O SUCCIONAR SOBRE EL AREA MORDIDA.



### Antídoto

- Dosis variable según grado de lesión, edad del paciente pero principalmente dependiendo de la sintomatología.
- Reservado principalmente a pacientes con sintomatología presente desde leve-moderada ó severa, alteraciones respiratorias y sintomatología que no revierta a manejo con calcio, relajantes musculares y analgésicos.
- Ideal IV directa y diluida. De nos ser posible la vía IM es una alternativa no óptima.
- En niños tiende a ser mayor debido a la concentración mas elevada del veneno por Kg.

### Medidas Preventivas

- Limpiar adecuadamente el hogar
- Realizar en forma periódica en su casa y alrededores el control de insectos.
- Revisar su ropa y calzados antes de colocárselos. Evitar andar descalzo.
- Separar camas y cunas de la pared. Las patas de las cunas colocarlas dentro de recipientes de vidrio.
- Colocar tela mosquitera.
- Mantener limpios patios y jardines.
- Tapar grietas.
- Al realizar tareas rurales usar vestimenta de manga larga, botas, pantalón de tela gruesa. Usar guantes.

Referencias

- <http://www.monografias.com/trabajos16/aracnidos-veneno/aracnidos-veneno.shtml#Cfvzz2YL0s6A4k>
- <http://laaalfamiliar.com/caja-de-cerebro/conocimiento-2446.html>
- <http://www.ms.salud.gov.ar/web2/docencia/index.php?cargar=articulo&id=243>
- <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=News&file=article&sid=4514>



## CONCLUSIONES

En el transcurso de la asignatura los alumnos se vio el interés por conocer cómo podrían identificar, separar algunos tóxicos, así mismo, como la elaboración de carteles.

El objetivo de la implementación de las prácticas se cumplió en su totalidad, donde los alumnos tuvieron disponibilidad, creatividad, habilidades no solo conceptuales sino cognitivas, que provocaron un crecimiento intelectual de autoestima y de identificación con su carrera.

Donde concluyeron que esta asignatura es tan amplia que se puede utilizar, tanto en el humano como en otras áreas (Aire, suelo, agua, ect.,).

## BIBLIOGRAFÍA.

Autores.

Bañuls M.V. (1970) et al. Cromatografía de Gases I. Ed. Alhambra.

Basic Gas Chromatography series Techniques in Analytical Chemistry, Ed. Wiley and Sons, 1998.

Buonomo (2000) et al. Introducción a la Cromatografía Gaseosa. Asociación Química Argentina. División Cromatografía..

Clarke's Isolation and identification of drugs (in pharmaceuticals, body fluids and post mortem material). 2nd Ed. The Pharmaceutical Society of Great Britain. London, 1986.

E. Ardrey Robert John Wiley & Sons, (2003) Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An Introduction.

Flanagan, R.J. (1995) et al., Basic Analytical Toxicology. Ed.(WHO). Geneva.

Frejaville, J.P. et al. (1979) Toxicología Clínica y Analítica. 1ra ed. Ed. JIMS. Barcelona

Snyder y Kirkland (1979) Introduction to Modern Liquid Chromatography, , Ed. Wiley and Sons,.

Tamayo y Tamayo, Mario (2004). El Proceso de Investigación Científica. 4ta. Edición, Limusa México.

Guías

Guía de Trabajos Prácticos de Toxicología y Química Legal. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. 2002

Guía de Trabajos Prácticos de Toxicología y Química Legal. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. 2000.