

TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA ANÁLISIS TOXICOLÓGICO Y ADN Y CADENA DE CUSTODIA.ⁱ

INTRODUCCIÓN.

La investigación toxicológica se define como el conjunto de procesos analíticos cuyo objetivo es el aislamiento, identificación y determinación cuantitativa de los tóxicos con el fin de permitir el diagnóstico de intoxicación y esclarecimiento de los hechos.ⁱⁱ

Para ello es fundamental la apropiada toma de la muestra, su preservación y envío de las mismas para sustentar un resultado analítico óptimo y su consiguiente interpretación.

En el Gabinete Interdisciplinario la mayoría de las muestras biológicas que se preservan es para determinación de presencia de alcohol o de sustancias psicoactivas, ante la sospecha de que la víctima de un delito sufriera sumisión química. Esta última se define como la administración de “ drogas o fármacos que facilitan el asalto sexual”, ⁱⁱⁱ lo que ocasiona cierta incapacidad o inconsciencia que facilita la acción criminal.

Por lo antes mencionado es de vital importancia estandarizar la toma de muestra, modo de conservación, y preservación de la cadena de custodia de las mismas para garantizar que la muestra no se altere, sustituya o cambie entre el momento en que ésta se recoge hasta su análisis final.

MUESTRAS DE INTERÉS JUDICIAL.

Las muestras biológicas que se remiten para análisis toxicológico forense son de sangre, orina, contenido vaginal, rectal y/o boca.

Sangre:

El análisis de sangre es el que permite extrapolar los valores correspondiente al momento en que se recogieron las muestras, las cuales deben ser extraídas dentro de las 48 hs de ocurrido el accidente/incidente.

Para ello se desinfectará la piel con agua jabonosa, agua oxigenada o solución de lugol que no altera la muestra en la determinación de alcoholemia. Aconsejándose tomar entre 5-10 ml de sangre(5 ml mínimo lo ideal 10 ml) y separarlo de ser posible en 2 tubos que estén anticoagulados (se aconseja fluoruro de sodio como conservante), con cierre hermético, nuevos, evitando que quede espacio vacío en el recipiente, lo que produciría pérdidas importantes no sólo de etanol sino de otros tóxicos volátiles.

La conservación de la muestra se hará a 4°C.(ver tabla adjunta de tiempo de viabilidad de la muestra según el tóxico a investigar).

Orina:

Es una muestra biológica que permite realizar screening en el caso de desconocer el origen de la intoxicación, ya que la mayoría de las drogas o medicamentos se eliminan del cuerpo en forma inalterada o bien sus metabolitos por vía renal.

El volumen a recoger será de 50 ml, en un frasco nuevo, con cierre hermético, de tapa a rosca y sellado con cinta adhesiva, siendo la temperatura de preservación de -20°C, o bien a 4°C debiendo

analizarse entre las 24-48hs de su obtención si se preserva a esta última temperatura.

Contenido Vaginal, rectal y/o bucal:

Se realiza hisopado de región vaginal y/o anal, y si los antecedentes orientan a la necesidad de realizar hisopado bucal también se cumplimenta.

Se realiza extendido sobre portaobjeto de la secreción obtenida y en la muestra de secreción vaginal se reserva de la región externa e interna respectivamente.

Estas muestras biológicas se derivan para estudio de presencia de semen. Asimismo durante la toma de las mismas se reservan por separado las que se determinará ADN.

Las muestras para ADN se reservan a temperatura ambiente siendo su tiempo de viabilidad sin límites, con la salvedad de considerar que si no ha sido secada adecuadamente puede contaminarse.

Estas muestras en la actualidad (para determinación de semen) se preservan a temperaturas menores a -12°C siendo viables aproximadamente por el lapso de 4 días.

Pelo:

Para análisis de drogas en pelo se cortará un mechón de la zona occipital cercana al cuero cabelludo (importante para estimar el tiempo de consumo), del grosor de un lápiz. Se fijará con cinta adhesiva en papel indicando zona de raíz y el extremo.

Para la determinación de ADN el pelo debe poseer su raíz, no siendo útil la técnica arriba mencionada de extracción.

ETIQUETADO Y EMBALAJE:

Cada muestra debe estar adecuadamente rotulada, consignándose:

1. Nombre y Apellido de la persona que se extrajo la muestra.
DNI.
2. Fecha y hora que se tomo la muestra.
3. Dependencia judicial que solicitó el examen.
4. N° de la causa.
5. Tipo de muestra.
6. Responsable de la toma de muestra.

Toma de la muestra: Se debe prevenir la contaminación.

Manipulación de la muestra: se aconseja la utilización de bolsas de papel, las de plástico retienen humedad y facilita la degradación de las muestras biológicas.

Entre la toma de la muestra y su almacenamiento debe existir escaso tiempo.

CADENA DE CUSTODIA^{iv}

La cadena de custodia es "el procedimiento que asegura que la muestra que se procesa en el laboratorio no sea alterada, sustituida, cambiada o manipulada entre el momento en que ésta se recoge hasta el momento que finaliza el análisis", lo que es responsabilidad de la dependencia judicial que solicita la evaluación de la víctima."

Dado que desde el inicio hasta el final del entero proceso la muestra puede ser manipulada por varias personas, la participación de las mismas debe quedar debidamente documentada, de manera tal que si hay una intervención judicial no se desplome la evidencia.(ver planilla cadena de custodia)

CADENA DE CUSTODIA

GUÍA PARA EL TRANSPORTE DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA ANÁLISIS TOXICOLÓGICOS

El objetivo de esta guía son:

- Preservar la integridad de la muestra
- Contemplar los factores que puedan afectarla, poniendo en riesgo la certeza del resultado
- Garantizar el cumplimiento de las condiciones de bioseguridad para el traslado de este tipo de material

Acondicionamiento de las muestras para el transporte:

Deberán respetarse las siguientes condiciones:

1 - Recipiente primario: es el que contiene el material a transportar. Puede ser de polipropileno o poliestireno cerrado herméticamente a fin de evitar pérdidas. En el caso de ser de vidrio deberán tomarse todos los recaudos que prevengan la rotura. Todos los componentes del contenedor que estén en contacto con la muestra deberán estar libres de sustancias que puedan interferir con el test de laboratorio y su resultado.

1 - Recipiente secundario: es el que contiene el o los recipientes primarios. Debe ser de un material irrompible, con tapa con cierre hermético y de volumen adecuado que permita retirar el recipiente primario. Debe contener un material absorbente: papel, algodón o paño capaz de absorber el fluido contenido en el recipiente primario en el caso de que éste se dañe.

Varios recipientes primarios pueden disponerse en recipientes secundarios. En este caso se deberá cumplir:

a - Que el volumen total de los recipientes primarios no exceda los 50 ml.

b - Establecer un sistema de separación de los recipientes primarios de manera de impedir choque entre ellos.

c - Disponer los recipientes primarios de manera tal que se permita colocar material absorbente capaz de absorber fluidos contenidos en los recipientes primarios.

d - En el exterior del recipiente secundario se deberá colocar la información que se detalla en rótulos.

Temperatura de envío de las muestras:

La muestra deberá transportarse refrigerada entre 4 y 8 °C. Para ello se utilizará un recipiente terciario que corresponde al recipiente de transporte exterior. Debe ser de un material que resista el peso

y el daño relacionado con la manipulación, el embarque y transporte.

Consideraciones especiales para el transporte de muestra en cadena de frío:

Los transportes respetando la cadena de frío, requieren de acondicionamiento especial con material, apto para mantener la temperatura, usualmente el utilizado es el llamado hielo seco o dióxido de carbono.

Los contenedores terciarios de poliestireno de grosor adecuado son los apropiados pues permiten la liberación del gas de dióxido de carbono y evitan la concentración de presión que podría romper el paquete.

El hielo seco debe ser colocado entre el recipiente secundario y el terciario.

La cantidad depende de la capacidad de aislamiento del contenedor de traslado y del tiempo que la muestra recorrerá en su traslado. El exceso de espacio aéreo o de material de envoltura, dentro del contenedor de traslado puede causar que el hielo seco se disipe rápidamente.

Etiquetado y rotulación:

Todos los rótulos y etiquetas deben efectuarse con elementos de escritura indelebles para evitar que se borren por efecto de la humedad o rotura de los contenidos.

Todos los datos de identificación del material deben constar en el envase secundario.

La información que debe contener la ficha es la siguiente:

- Descripción del material.
- Responsable: Institución en la cual se obtuvo la muestra. Dirección completa.

- Lugar de destino (describir Instituciones y Responsables).
- Cantidad de material en el interior.
- Fecha de salida.
- Cadena de frío.

TOMA Y REMISIÓN DE MUESTRAS PARA ESTUDIOS DE ADN^V

Las muestras deben ser enviadas al PRICAI-FUNDACIÓN FAVALORO, adecuadamente rotuladas y especificándose el tipo de análisis y puntos de pericia a realizara realizar.

EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE:

Las mismas se pueden extraer de dos formas:

- sangre absorbida sobre papel de filtro. La cantidad necesaria a depositar es de 3-4 gotas de sangre. Dejar secar la sangre en el papel al aire libre por lo menos 1 h. sin exponer a la luz solar.
- Sangre anticoagulada en tubo o jeringa. Extraer 1-5 cc de sangre en jeringa anticoagulada.

MANCHAS BIOLÓGICAS

Manchas frescas: si las mismas aún se encuentran en estado líquido las mismas se pueden absorber en papel Whatman o similar. Como toda muestra húmeda debe secar a temperatura ambiente por lo menos 1 hs. sin exponer a la luz solar. En el caso que se preserve la prenda con la mancha se procede de igual manera. Luego del secado se preservan las mismas en bolsas de papel lo que permite evitar la degradación de las muestras.

Manchas secas: si se encuentran en una prenda se recorta la misma, se preservan por separado en sobres de papel individuales, cerrando y rotulando cada uno con la identificación de cada muestra.

PELOS:

Si deben recolectar con una pinza, colocarlos en una bolsa de plástico, rotularlo con tinta indeleble y conservarlas en freezer -20°C.

De no ser posible esta conservación colocar la muestra en la heladera o el congelador de la misma y remitir al laboratorio a la brevedad.

HISOPADOS VAGINALES/ANALES:

Deben ser tomados con hisopos estériles, los cuales se colocan en tubos con tapa y rotulados con tinta indeleble, **reservados en freezer -20°C.**

Dada la contaminación presente en ano y vulva o vagina los hisopos no deben permanecer a temperatura ambiente por más de 5 hs.

Envío de las muestras al laboratorio:

Si las muestras deben ser remitidas bajo las mismas condiciones con las que se preservan (refrigeradas, congeladas o a temperatura ambiente)

Análisis de muestras biológicas
Formulario para la cadena de custodia

Análisis

requerido:.....

.....

Solicitado por:

.....

.....

Nº de EXPTE/ IPF/ PEDIDO

.....

Datos del paciente:

Apellido:.....

Nombres:.....

Firma del paciente*.....

Declaración del testigo de la toma de muestra: **Esta muestra ha sido recogida y sellada en mi presencia** y la etiqueta fijada en el recipiente contiene la firma del paciente y/o familiar y/o tercero.

Firma del testigo/familiar/adulto

responsable.*

*Cuando la circunstancia amerite

Datos de la muestra en origen:

Fecha de recolección:..... Hora de recolección:.....

Fecha de envío:.....

Tipo de muestra:

Envío de la muestra:

Apellido y nombre del profesional que remite

.....

Firma:.....

Apellido y nombre del

transportista:..... F i r m a del

transportista:.....

Condiciones de envío: Temperatura: Ambiente Refrigerada

Freezada

Observaciones:.....

.....

.....

.....

Recepción de la muestra en el Laboratorio: Fecha:.....

Hora:.....

Firma y aclaración del receptor de la muestra:.....Nº de protocolo:.....

La muestra fue abierta por:.....

Fecha:..... Hora:.....

Firma del que abrió la muestra:.....

La muestra está en buenas condiciones? Sí No

Lugar de resguardo de la muestra:.....

.....
Observaciones:.....

.....
.....
.....

GUÍA PARA OBTENCIÓN, PRESERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS EN PACIENTES EN QUIENES SE SOSPECHA INTOXICACIÓN AGUDA^{vi}

DETERMINACIÓN	MUESTRA recolección y transporte	ESTABILIDAD	OBSERVACIONES
Anticonvulsivantes -Fenobarbital -Fenitoína -Carbamacepinas -Acido Valproico	Suero o plasma Heparinizado. Vol. Mínimo: 5 ml. Enviar refrigerado (4°C)	Heladera(4°C): 5 días.	
Antidepresivos Tricíclicos	Suero o plasma heparinizado Vol. Mínimo: 5 ml. Enviar refrigerado (4°C)	Heladera (4° C): 5 días.	
Benzodiazepinas	Suero o plasma heparinizado. Vol. 5 ml Orina: única mención cercana al momento del consumo. Vol. Mínimo: 50 ml. Enviar refrigerada (4°C)	Heladera (4° C) 5 días.	
Cannabis	Orina : única micción cercana al momento del consumo.	Heladera (4°): 14 días. Freezer: 4-6 meses.	Recipiente plástico limpio, con cierre hermético.

	Vol. Mínimo: 50 ml. Enviar refrigerada (4°C)		
Cocaína	Orina: única micción cercana al momento del consumo. Vol. mínimo: 50 ml.. Enviar refrigerada (4° C).	Heladera(4°C): 5 días. Freezer: 30 días.	Recipiente pl+astico limpio, con cierre hermético.
Drogas de abuso - Cocaína - Anfetaminas - Opiáceos - Marihuana - Barbitúricos - Benzodiacepinas	Orina: única micción cercana al momento del consumo. Vol. Mínimo: 50 ml. Enviar Refrigerada (4°C)	Heladera (4°C): 5 días.	Recipiente plástico limpio, con cierre hermético.
Etanol (alcohol)	Sangre heparinizada (otros anticoagulantes FNa) en tubo con cierre hermético sin dejar cámara de aire. Sangre heparinizada en jeringa plástica sin aguja y con tapón plástico.	Heladera (4°C): 5 días.	Extraer la muestra desinfectando con sol. Jabonoso, agua oxigenada, yodo povidona. NO USAR ALCOHOL. Es conveniente enviar la muestra inmediatamente al laboratorio.

	Vol. Mínimo : 4 ml.		
Psicofármacos -Antidepresivos tricíclicos. - Fenotiazinas -Butirofenonas -Difenzacepinas -Anfetaminas -Anticonvulsivantes -Opiáceos -Barbitúricos -Benzodiacepinas	Orina: Única micción cercana al momento del consumo. Vol. Mínimo 150 ml. Enviar refrigerada(4°C)	Recipiente plástico hermético.	

REFERENCIAS:

ⁱ Dra. Lydia Caunedo. Médica forense Gabinete Interdisciplinario Poder Judicial de Neuquén.

ⁱⁱ Pla Martinez, Hernández Jerez, Investigación Toxicológica . Medicina Legal y Toxicología. Gilbert Calabuig 6ta Edición.

ⁱⁱⁱ López-Rivadulla, M y col. Sumisión química: antecedentes, situación actual y perspectivas, protocolos de actuación multicéntrica. Servicio de Toxicología Forense, Instituto de Medicina Legal. Universidad de Santiago de Compostela.

^{iv} Anexo II. referencia la resolución N° 54/1998 del Ministerio de Salud de la Nación.

^v PRICAI. FUNDACIÓN FAVALORO instructivo para tomas y conservación de muestras para estudio de ADN.

^{vi} Ministerio de salud de la Nación. Presidencia de la Nación. Resolución 650/2002. Guía de toma de muestras, conservación y transporte para análisis toxicológicos.