

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Desarrollo de un procedimiento para conservar la concentración de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en función al tiempo. Ayacucho 2016.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR LA:

Bach. LEGUÍA OMONTE, KELY ABIGAIL

AYACUCHO – PERÚ

2017

A mi familia, por su apoyo invaluable y por ser el mejor estímulo de superación en mi vida, los llevo siempre presentes en mi mente y mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Con gratitud y reconocimiento a mi *alma máter*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme educado en su seno y dado las herramientas necesarias para mi desempeño profesional.

A la Facultad Ciencias de la Salud, y en especial a los docentes de la Escuela de Profesional de Farmacia y Bioquímica por la excelente formación recibida.

A la Oficina de Criminalística de la Región Policial de Ayacucho, y al Departamento de Dosaje Etílico, Blgo PNP Fredy Rolando Aguado Cuadros y Blgo. PNP Jorge Luis Huarancca Aguilar por el apoyo y facilidades brindadas.

A mi asesor, Dr. QF. Edwin Carlos Enciso Roca, por la asesoría brindada en la realización del presente trabajo.

Al Dr. Q.F. Enrique Aguilar Felices, por las sugerencias y apoyo brindado.

A la Blga. PNP Miluska Olarte Arteaga, por el apoyo constante y oportuno.

A mi familia y amigos por su apoyo permanente que hizo posible la realización del presente trabajo.

A Dios por su inmenso amor y por todas sus bendiciones

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Alcohol etílico	5
2.2.1. Fuentes de intoxicación alcohólica	6
2.2.2. Cuadro clínico	7
2.2.3. Toxicocinética del alcohol etílico	8
2.2.4. Mecanismo de acción del alcohol etílico	10
2.2.5. Intoxicación aguda	11
2.2.6. Intoxicación crónica	11
2.3. Alcholemia	12
2.4. Dosaje etílico	12
2.5. Anticoagulante	12
2.5.1. Oxalato de potasio	13
2.6. Conservante	13
2.6.1. Fluoruro de sodio	13
2.7. Importancia médico-legal de la embriaguez	13
2.8. Espectrofotometría	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución de la investigación	17
3.2. Población	17
3.3. Criterios de inclusión	17
3.4. Criterios de exclusión	17
3.5. Muestra	17
3.6. Muestra biológica	18
3.7. Diseño metodológico	18
3.6.1. Protocolo de recogida de datos	18
3.6.2. Proceso de inducción de alcholemia	18

3.6.3. Toma de muestras biológicas	18
3.6.4. Procesamiento de la muestra	19
3.6.4.1 Principio del método	19
3.6.4.2 Curva de calibración	19
3.6.4.3 Procedimiento para el análisis de la muestra:	20
3.6.4.4 Pasos a seguir para la obtención de la concentración de alcohol en gramos por litro (g/L).	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
IX. ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Cuadro clínico del etanol.	7
Tabla 2 Efectos del alcohol sobre la conducta	7
Tabla 3 Alcoholemia - Ley 27753 del 07 de junio del 2002. Concentración de la elaboración de la curva patrón de alcohol etílico.	15

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.	
Figura 1	Metabolismo del alcohol.	10
Figura 2	Variación del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en muestras de sangre obtenidas de personas con alcoholemia según los tratamientos a las 24 horas. Ayacucho 2016	22
Figura 3	Variación del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en muestras de sangre obtenidas de personas con alcoholemia según los tratamientos a las 48 horas. Ayacucho 2016	23
Figura 4	Variación del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en muestras de sangre obtenidas de personas con alcoholemia según los tratamientos a las 72 horas. Ayacucho 2016	24
Figura 5	Tendencia del porcentaje de reducción de la cantidad de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia según los tratamientos, a las 24, 48 y 72 horas. Ayacucho 2016.	25
Figura 6	Variación del porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y 4 °C, a las 24 horas. Ayacucho 2016	26
Figura 7	Variación del porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y 4 °C, a las 48 horas. Ayacucho 2016	27
Figura 8	Variación del porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y 4 °C, a las 72 horas. Ayacucho 2016	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.	
Anexo 1	Contenido de etanol en bebidas alcohólicas y otros productos	41
Anexo 2	Espectro electromagnético	42
Anexo 3	Instrumentos de recolección de datos	43
Anexo 4	Concentración de la elaboración de la curva patrón de alcohol etílico.	44
Anexo 5	Flujograma del proceso desde la toma de muestra hasta la obtención de los resultados.	45
Anexo 6	Flujograma de procesamiento de las muestras.	46
Anexo 7	Preparación de reactivo para dosaje etílico	47
Anexo 8	Resultados de la lectura realizada para la calibración en el espectrofotómetro UV del Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho 2016.	48
Anexo 9	Curva de calibración para dosaje etílico Ayacucho 2016.	49
Anexo 10	Concentración de alcohol etílico según el tratamiento I (sangre oxalatada) a diferentes temperaturas, de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho – 2016.	50
Anexo 11	Concentración de alcohol etílico, según el tratamiento II (fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente) a diferentes tiempos, de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho – 2016.	51
Anexo 12	Concentración de alcohol etílico, según el tratamiento III (fluoruro de sodio 1% a la temperatura de 4°C) a diferentes tiempos, de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho – 2016.	52
Anexo 13	Test de Shapiro-Wilks para determinar el tipo de distribución estadística de los datos expresados en porcentaje de reducción de contenido de alcohol en	

	muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con tres métodos (tratamientos). Ayacucho 2016.	53
Anexo 14	Test de Kruskal Wallis para comparar los porcentajes de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), a las 24 horas. Ayacucho 2016	54
Anexo 15	Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), a las 48 horas. Ayacucho 2016	55
Anexo 16	Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), a las 72 horas. Ayacucho 2016	56
Anexo 17	Test de Mann-Whitney para comparar el porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en dos métodos (tratamientos) a temperatura ambiente y refrigerada, a las 24, 48 y 72 horas. Ayacucho 2016	57
Anexo 18	Estadísticos descriptivos para la reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), en función al tiempo. Ayacucho 2016	58
Anexo 19	Recolección y obtención de la muestra biológica en el Área de Dosaje Etílico de la Región de Salud PNP Ayacucho 2016.	59
Anexo 20	Lectura para determinar el grado de alcoholemia en el Área de Dosaje Etílico de la Región de Salud PNP Ayacucho 2016.	60
Anexo 21	Consentimiento informado	61
Anexo 22	Matriz de consistencia.	62

RESUMEN

La determinación de alcohol etílico en sangre posee una gran importancia médica legal a la hora de establecer las responsabilidades correspondientes por parte de la autoridad judicial. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un procedimiento para conservar la concentración de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia en función del tiempo, dicho trabajo se desarrolló en el Área de Dosaje Etílico de la Región de Salud PNP Ayacucho durante los meses de Julio a Setiembre del 2016, para la determinación de la alcoholemia se utilizó el método de Schefftel modificado. Las muestras de sangre oxalada fueron obtenidas de 30 personas voluntarias a las que previamente se les suministró alcohol etílico, cuyos tratamientos de conservación fueron, I: sangre oxalada II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C. Se determinó el porcentaje de reducción de alcohol en sangre a 24, 48 y 72 horas. El porcentaje de reducción de alcoholemia en función al tiempo según los tratamientos fueron de I: 2,91%, 8,84% y 16,74%; II: 1,93%, 4,56% y 9,96%; III: 0,95%, 3,31% y 6,01%, siendo el procedimiento para conservar mejor el alcohol en sangre a las 72 h, fué el tratamiento III ($p < 0,05$). Concluyendo que el tratamiento que conserva mejor el contenido de alcohol en sangre es fluoruro de sodio a la temperatura de 4 °C.

Palabras clave: procedimiento de conservación, alcoholemia, conservante, temperatura.

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de alcohol y otras drogas es un comportamiento que data desde hace miles de años. En muchos países, el consumo de bebidas alcohólicas figura entre las causas principales de accidentes automovilísticos y lesiones sufridas en el hogar y dentro de la sociedad. Según un estudio realizado por CEDRO (2013), en el Perú predomina ampliamente el consumo de alcohol, tabaco y medicamentos tipo tranquilizantes. Tornándose así; en la actualidad un problema de grandes proporciones que traen como consecuencia accidentes de tránsito, muertes violentas y criminalidad debido a que las personas actúan bajo los efectos del alcohol etílico, por lo tanto, posee importancia sociológica, criminológica y médico legal.¹

Los avances tecnológicos para la determinación cuantitativa del etanol hace de su medición un procedimiento sencillo pero su confiabilidad queda supeditada al correcto manejo de las muestras; su toma, embalaje, transporte, conservación y procesamiento.

En la actualidad, está demostrado por estadísticas que el consumo de alcohol tiene repercusiones económicas, profesionales, familiares y de toda índole, también se sabe que dentro de los casos médico legales que están relacionados con una averiguación previa y de los cuales los más frecuentes son los hechos de tránsito, lesiones y homicidio, se está solicitando cada vez de manera más frecuente la determinación de la concentración de alcohol en sangre en estos sujetos, y es por esto que se ha vuelto un importante problema legal, porque depende de la interpretación de estos exámenes toxicológicos (dosaje etílico) la sentencia a estas personas que pudieran o no estar en estado de ebriedad en el

momento del hecho, sin tener un fundamento bioquímico basado en el metabolismo del alcohol y por tanto sin sustento científico ni jurídico.²

Es por esta razón que en este trabajo se pretende desarrollar un procedimiento para conservar el contenido de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia utilizando al oxalato de potasio al 2% como anticoagulante y al NaF al 1% como preservante y a una temperatura controlada, en función al tiempo. Siendo viable, ya que se contó con el apoyo del departamento de servicio de dosaje etílico de la sanidad de la PNP Ayacucho, y fue factible porque esta dependencia cuenta con los recursos humanos capacitados e infraestructura tecnológica para llevarlo a cabo.

Para tal fin se tomó la muestra de sangre de 30 personas voluntarias, a las mismas condiciones y tiempo, para poder determinar cuál de los tratamientos es mejor preservando el grado de alcoholemia. Las muestras se procesaron según la técnica de Schefftel modificado.

El presente trabajo persigue el objetivo general: Desarrollar un procedimiento para conservar la concentración de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en función del tiempo.

Además podemos considerar los siguientes objetivos específicos:

- Determinar el porcentaje de reducción de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, que serán sometidas a los diferentes tratamientos, a los tiempos de 24, 48 y 72 horas.
- Determinar que temperatura es la más adecuada para conservar el contenido de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en el grupo sometido al NaF al 1%.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

El etanol como ingrediente activo de las bebidas alcohólicas ha sido producido y consumido por los humanos durante miles de años, en forma de fermentados y destilados; dando lugar a una enorme variedad de productos alcohólicos que forman parte de la cultura y tradición de muchos pueblos.³

Según un informe publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), Europa es la región del mundo donde hay un mayor consumo de alcohol per cápita 10,9 litros de alcohol puro anuales y especialmente Europa del Este, que tiene los índices más altos del mundo. La segunda región donde el consumo de alcohol es más elevado es Latinoamérica, con 8,4 litros de alcohol puro per cápita por año, de los que 7,2 litros son efectivamente comprobados y 1,2 litros son calculados. El resto de regiones registran consumos de 6,8 litros per cápita en el Pacífico Occidental; 6 litros en África; 3,4 en el Sudeste Asiático; y 0,7 en el Mediterráneo Oriental.¹

En América Latina el ranking lo lidera Chile, donde existe un consumo anual per cápita de 9,6 litros de alcohol puro, donde existe un consumo anual per cápita de 9,6 litros de alcohol puro. El segundo puesto es para Argentina, con un total de 9,3 litros per cápita por año; el tercero para Venezuela, con 8,9 litros de alcohol puro per cápita; el cuarto para Paraguay (8,8 litros); el quinto para Brasil (8,7); ubicando así en el sexto puesto a Perú, con un total de 8,1 litros per cápita de alcohol puro por año.¹

Con respecto al tipo de alcohol consumido, en América Latina, lo que más se ingiere es cerveza (53%); seguida de un 32.6% de licores (vodka, whisky), y un 11.7% de vino.¹

En el Perú predomina ampliamente el consumo de alcohol, tabaco y medicamentos tipo tranquilizantes. Tornándose así; en la actualidad un problema de grandes proporciones que traen como consecuencia accidentes de tránsito, muertes violentas y criminalidad debido a que las personas actúan bajo los efectos del alcohol etílico, por lo tanto, posee importancia sociológica, criminológica y médico legal.²

Según estudios del INEI, En el país, 5,4% de las personas de 15 y más años de edad que consumió alcohol sufrió trastornos mentales y del comportamiento debido al consumo de alcohol; La prevalencia fue notablemente mayor en hombres (9,8%) con respecto a las mujeres (1,5%), y en el grupo 20 a 29 años de edad (9,3%) comparados con los de 50 a 59 años de edad (4,0%).⁴

Así mismo la prevalencia de trastornos por consumo de alcohol fue mayor en el área urbana (6,3%) y la región Costa (6,4%). Entre los residentes del área rural y la Sierra estos porcentajes se reducen a 2,6% y 3,7%, respectivamente.⁴

Según Ferrari, ⁵ La determinación de alcohol etílico en humores o tejidos humanos es una de las prácticas analíticas más frecuente en un laboratorio químico legal. Su determinación posee consecuencias legales importantísimas, tanto en individuos vivos (conductores de vehículos bajos los efectos del alcohol, accidentes laborales y lesiones graves) como en casos criminales: muertes violentas, suicidios, violaciones o abusos deshonestos.

Así; como también, menciona a los diversos aspectos relacionados a la toma de las muestras biológicas para análisis, su correcta preservación, consensuados por la comunidad científica internacional, Asimismo, los factores internos y exteriores a las muestras que pueden generar resultados conflictivos a la hora de interpretar los guarismos, tales como pérdidas y generación de alcohol en el organismo humano como también en los recipientes donde son resguardadas las muestras. Se acepta hoy que la presencia de bacterias, ciertos hongos y levaduras pueden generar etanol en determinadas condiciones. Por otro lado, la existencia de cámara de aire relevante o deficiente cierre de los recipientes determinan pérdidas considerables de este compuesto. Se señalan modelos recientes de predicción de pérdidas.⁵

Alvarado et al, ⁶ en su trabajo mencionan que la determinación de las concentraciones de alcohol debe ser siempre un análisis solicitado como parte de toda investigación policial y forense en casos de muerte violenta y en

aquellos casos de muerte no violenta en que se sospeche su relación con el consumo de alcohol y que la contaminación de la muestra por efectos meramente físicos como limpieza de la zona de la toma con alcohol, el lugar y la posición del cuerpo o hasta la producción de etanol por microorganismos, pueden llevarnos a resultados erróneos.

Serrano et al,⁷ mencionan en su estudio que tanto la sangre como el humor vítreo deben ser recogidos preferentemente con tubos de vidrio con agujas o jeringuillas estériles, en el caso de sangre es necesario adicionar un anticoagulante ya sea este oxalato o citrato de sodio y como inhibidor de enzimas que posteriormente llevaran a la putrefacción de la muestra se puede añadir fluoruro sódico, el cual puede actuar incluso como bactericida.

Según Calvo,⁸ en el trabajo de tesis que realizó sobre el “Estudio y evaluación de la estabilidad del alcohol etílico en muestras de sangre almacenadas en condiciones de temperatura de congelación”, El tiempo de almacenamiento de las muestras no influye en la estabilidad del alcohol etílico. Los tiempos transcurridos entre las diferentes actuaciones de la cadena de custodia y las variables refrigeración, precinto y volumen de la cámara de aire presente en los tubos que contienen las muestras de sangre, no interfieren sobre las diferencias en las mediciones del alcohol etílico.

Entre las variables que influyen en la variación del nivel de alcohol etílico en la población de personas vivos influye el estado de la muestra de sangre y su sistema de conservación en el tubo contenedor.⁸

Sin embargo Canales,⁹ en el estudio que realizó sobre la “Variación de la concentración de alcohol etílico en cadáveres en relación al tiempo” menciona que en los resultados obtenidos en las muestras de sangre que fueron comparados, observó que hubo variación de alcohol etílico en la sangre (alcoholemia) en relación al tiempo.

2.2. Alcohol etílico:

Con el término alcohol se designa vulgarmente al etanol o alcohol etílico, segundo de los alcoholes de la serie alifática o de cadena lineal. La palabra, sin embargo, procede del árabe, formada por el artículo “al” y “qochi” (lo útil, lo suave) con que se designa un polvo cosmético de antimonio y galena o negro de humo sado para pintarse los párpados.¹⁰

El alcohol etílico también conocido como etanol, alcohol vínico y alcohol de melazas, es un líquido incoloro y volátil de olor agradable, que puede ser obtenido por dos métodos principales: la fermentación de las azúcares y un método sintético a partir del etileno. ¹¹

El alcohol es una sustancia derivada de la fermentación de los carbohidratos vegetales. No es un producto normal del metabolismo humano, por tanto su ingesta en cantidades elevadas produce un desequilibrio metabólico, puesto que el organismo destina recursos para procesarlo y eliminarlo. Algunas de sus propiedades son: ¹²

1. Es altamente liposoluble, lo cual le permite atravesar las membranas celulares, y es altamente afín por el agua, por lo cual, llega a cualquier célula.
2. Por encima de determinadas concentraciones, es directamente tóxico. Además, sus metabolitos también lo son, por su elevada reactividad química.
3. Es un producto altamente energético: por cada gramo ingerido se generan 7,2 kcal. (Intoxicación por etanol). ¹²

2.2.1. Fuentes de intoxicación alcohólica

El alcohol diluído es utilizado en la elaboración de las bebidas o licores comerciales y la concentración para cada bebida suele expresarse en porcentaje de contenido alcohólico. El contenido de alcohol en las bebidas comerciales de mayor consumo en nuestro medio varía entre 8 - 50 por ciento, estas bebidas se dividen en tres grupos: ¹³

Bebidas débilmente alcohólicas: son aquellas en las que el porcentaje de alcohol varía entre 1% y 8%. Son el producto de la fermentación de jugos vegetales que contienen almidones o azúcares poco fermentables. Ejemplo: cerveza y sidra. ¹³

Bebidas medianamente alcohólicas: son aquellas en las que el grado de alcohol varía entre 10% y 20%. Proceden de la fermentación de los mostos de uva, cuyo elevado contenido en glucosa las hace fermentar fácilmente. Según la técnica de la vinificación, el tiempo de fermentación y envejecimiento, resultan tipos distintos de vinos, con graduación alcohólica diferente, desde los vinos ordinarios de mesa (10° a 12°) hasta la de los vinos generosos (jerez, oporto, vermouth, Málaga), que oscila de 15° a 20°. ¹³

Bebidas fuertemente alcohólicas: son aquellas en las que el grado de alcohol alcanza hasta 40% a 50%, para la obtención de estas bebidas se identifican dos fases, una primera de fermentación, seguida de una destilación de este producto, con lo que se enriquece considerablemente la concentración alcohólica. Se parte de jugos vegetales muy diversos, obteniéndose así: coñac, anís, ron, whisky, vodka, aguardientes, cremas, etc.¹³

El anexo 1 muestra el contenido en etanol de algunas bebidas alcohólicas y de otros productos.¹²

2.2.2. Cuadro clínico

El efecto neurotóxico del etanol en individuos no habituados se inicia con alcoholemias de 50 mg/dL.¹⁴

Tabla 1. Cuadro clínico del etanol.

Porcentaje de alcoholemia	Efecto
20 – 50 mg%	Disminuye el control motor fino
50 – 100 mg%	Altera el juicio
100 – 150 mg%	Dificultad para la marcha y el equilibrio
150 – 250 mg%	Letargia y dificultad para sentarse sin ayuda
Más de 300 mg%	Coma en bebedores novicios
Más de 400 mg%	Depresión respiratoria

Los efectos del alcohol sobre la conducta son bastante conocidos. En general están directamente relacionados con la concentración en sangre, con características del temperamento del usuario, el entorno en que se encuentra; y el nivel de progresión alcanzado en el desarrollo de la enfermedad adictiva, como se presenta en la tabla 2.⁷

Tabla 2. Efectos del alcohol sobre la conducta

Alcoholemia g/mL	Estado	Síntomas clínicos
<0,3	sobrio	Comportamiento normal
0,5	Intoxicación ligera	Disminución de atención Ligera incoordinación
0,3 – 1	euforia	Sociabilidad, hablador

		Autoconfianza Perdida de la eficiencia Enlentecimiento de las reacciones Ataxia
0,9 – 1,5	Excitación Embriaguez	Inestabilidad emocional Mayor disminución de las inhibiciones Cambios de comportamiento
1,5 – 2	Confusión Borrachera	Trastornos de memoria y comprensión Desorientación Incoordinación muscular Somnolencia
2 – 3	Estupor	Déficit motor Apatía, inercia, agresividad Vómitos Mayor incoordinación muscular Disminución de la conciencia Trastornos del habla
3	Intoxicación severa Coma	Inconciencia, anestesia Disminución de reflejos Dificultades cardíacas y respiratorias
>4	Posible muerte	Hipotermia Hipoglucemia Convulsiones Parálisis respiratoria
>5	Se considera muerte segura	

2.2.3. Toxicocinética del alcohol etílico

Absorción: El alcohol por vía oral se absorbe mayoritariamente en el tramo proximal del intestino delgado (más del 80%) y en menor cantidad en el estómago (hasta un 20%).¹⁵

Por vía dérmica también se puede absorber, aunque su absorción es limitada. La administración por vía endovenosa es utilizada en forma terapéutica en el tratamiento de la intoxicación por alcohol metílico o por etilenglicol.¹¹

La absorción se incrementa:

- Cuando aumenta la motilidad gastrointestinal: gastritis o ulcus, fármacos colinérgicos (pilocarpina, fisostigmina).
- Cuando aumenta la capacidad de absorción gástrica: gastritis crónica, ingestión de alimento o bebidas calientes, estrés, estados de ansiedad o fiebre.
- Cuando se acelera el vaciado gástrico: ingestión de bebidas carbonatadas, alcoholismo crónico, gastrectomías.

La absorción se reduce:

- Cuando disminuye la motilidad gástrica: náuseas, shock, fármacos anticolinérgicos (atropina).
- Cuando disminuye la capacidad gástrica de absorción: estados de pánico, agentes simpaticomiméticos (anfetaminas, fenilfluramina), con el ejercicio.¹⁶

Distribución:

El etanol es muy hidrosoluble, por lo que se puede encontrar en cualquiera de los tejidos o fluidos corporales. Mayor concentración cuanto mayor contenido en agua tenga el tejido o fluido.¹⁰

El alcohol es una molécula muy hidrosoluble y por ello se distribuye por todo el agua corporal, siendo las concentraciones similares a las de la sangre en la mayoría de los tejidos y órganos bien irrigados. Atraviesa las barreras hematoencefálica y placentaria y se excreta en la leche materna. Debido a su pobre liposolubilidad, no se difunde bien en la grasa. Tras administrar una misma dosis ajustada al peso, las concentraciones sanguíneas de alcohol son mayores en las mujeres que en los hombres. Parece deberse a varios factores. Por un lado, las mujeres tienen menor cantidad de alcohol deshidrogenasa en el estómago y, por otro, presentan mayor proporción de grasa subcutánea y menor volumen de sangre.¹⁵

Metabolismo: la mayor parte del alcohol ingerido sufre el proceso de biotransformación hepática, su degradación metabólica se produce esencialmente por oxidación hepática en un 90-98% y un 2-10% puede ser eliminado por vías accesorias como el riñón y el pulmón.:¹⁰

El 98 por ciento del etanol absorbido realiza su proceso de biotransformación en el hígado, con una velocidad de 10 ml/hora, utilizando para ello tres vías metabólicas: vía de la enzima alcohol deshidrogenasa, vía del sistema microsomal de oxidación (MEOS) y vía de las catalasas. El metabolismo del etanol tiene diferencias en los individuos, de acuerdo a sus características enzimáticas, ya que existen acetiladores rápidos y acetiladores lentos, lo que va a incidir directamente en su velocidad de biotransformación. Como ejemplos de acetiladores lentos están los alcohólicos crónicos, personas con hepatopatías de diversa etiología, niños lactantes y personas seniles. La vía de la enzima alcohol deshidrogenasa es la más utilizada en el individuo normal, mientras que la vía del sistema microsomal de oxidación posee una mayor actividad en el alcohólico crónico, esta segunda vía produce una depuración metabólica acelerada aumentando la concentración sanguínea de acetaldehído y acetato.¹¹

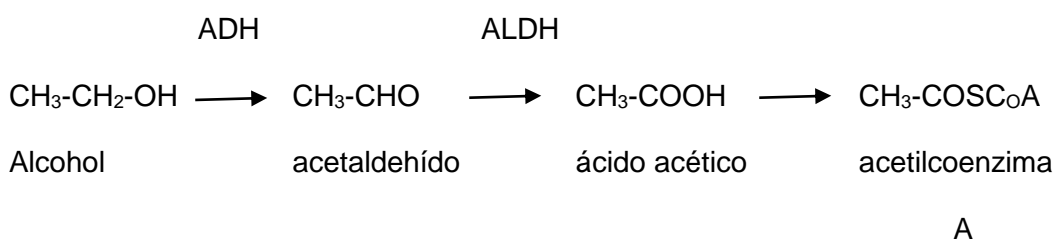


Figura 1. Metabolismo del alcohol.¹⁵

La velocidad de eliminación del etanol es aproximadamente 100 mg/kg/hora en un adulto medio de 70 kilos.¹¹

Excreción: Un 2-10% del alcohol se elimina sin metabolizar, en la orina, el sudor y la respiración. En el caso de la respiración, se aprovecha para determinar de forma indirecta y no invasiva la alcoholemia, al existir una relación directa entre la concentración en la sangre y la del aire espirado.¹⁵

2.2.4. Mecanismo de acción del alcohol etílico

El etanol utiliza varios mecanismos de acción que explican sus múltiples efectos en el organismo: Ejerce acción sobre el neurotransmisor GABA, aumentando la conductancia del ión cloro, mecanismo este responsable de la depresión primaria en la intoxicación aguda. La aparente estimulación psíquica inicial se produce por la actividad incoordinada de diversas partes del encéfalo y por la depresión de los mecanismos inhibidores del control por acción gabaérgica. Reacciona con otros neurotransmisores cerebrales como dopamina,

norepinefrina y serotonina, dando lugar a sustancias denominadas tetrahydroisoquinolinas y betacarbolinas. Disminuye el recambio de serotonina en el sistema nervioso central. Tanto el etanol como el acetaldehído producen disminución de las concentraciones de noradrenalina y serotonina en el sistema nervioso central (SNC) llevando a diferentes síndromes clínico neurológicos característicos del alcoholismo crónico. Actúa sobre los canales de membrana para cloro y para calcio. Altera la permeabilidad de la membrana neuronal, modificando el diámetro de canales iónicos para el cloro al aumentarlos, facilitando con ello la entrada de éste ión a la célula. Disminuye el diámetro para los canales de calcio, disminuyendo la entrada del ión calcio al interior de la célula. Estas modificaciones facilitan la repolarización celular y generan un efecto hiperpolarizante en la célula que trae una disminución de la actividad funcional del sistema nervioso. A nivel del nervio periférico disminuye los valores máximos de las conductancias de sodio y potasio. Las concentraciones para bloquear nervios periféricos son mayores que los que producen efectos centrales. Incrementa la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, con disminución de la oxidación de los primeros, generando unas hiperlipidemias que conlleva al desarrollo de hígado graso. Inhibe la utilización de ácidos grasos y la disponibilidad de precursores, lo cual estimula la síntesis hepática de triglicéridos, lo cual produce hígado graso, hallazgo característico en alcohólicos crónicos. Induce un estímulo de la lipogénesis, que desencadena un incremento del lactato y de los ácidos grasos.¹⁴

2.2.5. Intoxicación aguda

La intoxicación etílica aguda es un síndrome clínico producido por el consumo de bebidas alcohólicas de forma brusca y en cantidad superior a la tolerancia individual de la persona. Dependiendo de la cantidad ingerida de alcohol y de la tolerancia, el curso puede oscilar desde leve desinhibición, hasta coma, depresión respiratoria y muerte.¹⁶

El etanol es un depresor del SNC que da lugar a un cuadro clínico característico, con euforia, alteraciones de la conducta, verborrea, pérdida de las inhibiciones, ataxia, somnolencia y, finalmente, estupor y coma. Se producen, además, otros síntomas como rubor facial, dilatación pupilar, sudoración profusa y alteraciones gastrointestinales.¹⁰

2.2.6. Intoxicación crónica

El abuso crónico de alcohol etílico se traduce por una constelación de síntomas y signos que incluyen:

- Deficiencias nutricionales, especialmente en relación con el complejo vitamínico B (B₁).
- Sistema nervioso: neuropatías periféricas, síndrome de Wernicke-Korsakoff.
- Aparato digestivo: varices esofágicas, gastritis, úlceras, malabsorción intestinal, pancreatitis, esteatosis hepática, hepatitis, cirrosis, fracaso hepático con encefalopatía.
- Sistema endocrino: incremento de la secreción de cortisol, aldosterona e insulina.¹⁰

2.3. Alcholemia

La alcholemia es una función de la cantidad de alcohol absorbido por unidad de tiempo y su eliminación, y en ella influyen factores como el contenido estomacal previo o el tipo de bebida ingerida.¹⁷

La alcholemia representa el volumen de alcohol que hay en la sangre y se mide en gramos de alcohol por cada litro de sangre (g/L) o su equivalente en aire espirado.¹⁸

La valoración de la alcholemia puede verse alterada en sus resultados por diversos factores, como:

- Paso de etanol a acetaldehído: disminuye la tasa de alcholemia.
- Síntesis endógena de etanol (0,1 g/L)
- Diabetes: puede aportar hasta 0,35 g/L de alcholemia.
- Interferencias, según la técnica empleada, con otras sustancias reductoras.¹⁰

2.4. Dosaje etílico:

Examen que determina la cantidad de alcohol etílico en los usuarios y/o conductores participantes en accidentes de tránsito, así como en los que la autoridad competente lo solicite.¹⁹

2.5. Anticoagulante

Son aditivos que se eligen por sus propiedades para asegurar que la cantidad a medir cambie lo menos posible antes del proceso analítico, al inhibir la coagulación sanguínea. La anticoagulación sanguínea se consigue mediante la unión de iones de calcio, como el caso del EDTA y citrato o mediante la actividad antitrombina de la heparina o la hirudina.²⁰

Esta sustancia impide la formación de coágulos. El mecanismo por el que se evita la coagulación varía según el anticoagulante; por ejemplo, EDTA, citrato y oxalato se unen con el calcio, mientras la heparina impide la conversión de protrombina en trombina.²¹

2.5.1. Oxalato de potasio:

El anión oxalato del oxalato de potasio se combina con el ion calcio para formar el oxalato de calcio, muy insoluble. De este modo, cuando se agrega a la sangre extraída actúa como anticoagulante.²²

2.6. Conservante

Se entiende por conservante las sustancias que se añaden como ingredientes a los productos cosméticos y farmacéuticos principalmente para inhibir el desarrollo de microorganismos.²²

Los conservantes se utilizan en muchos cosméticos para extender la vida útil del producto, impidiendo el desenvolvimiento de bacterias, hongos, levaduras y mohos que pueden causar enfermedades o simplemente perturban el buen aspecto del producto.²³

2.6.1. Fluoruro de sodio:

El fluoruro de sodio actúa al inhibir la actividad de la enzima fosfoglucomutasa, para prevenir la síntesis de polisacáridos y a su vez para inhibir el crecimiento in vitro de *Candida albicans*, que fácilmente convierte la glucosa en etanol.⁹

2.7. Importancia médico-legal de la embriaguez

La embriaguez, o conjunto de fenómenos psíquicos y somáticos de la intoxicación aguda, posee una extraordinaria importancia sociológica, criminológica y médico-Legal. La trascendencia social del alcoholismo, en sus diversas manifestaciones, está demostrada por múltiples estadísticas que señalan sus repercusiones económicas, profesionales, familiares y de toda

índole. Sin embargo, intervienen intereses de amplios sectores nacionales que impiden; adoptar medidas prohibitivas de su consumo. El fracaso de la famosa ley seca americana es un buen ejemplo. Extendernos en este aspecto del alcoholismo sobrepasa ampliamente los límites de este estudio.

Por el contrario, no es posible silenciar la importancia criminógena y criminalística de la embriaguez, motivo de frecuentes actuaciones médico-legales, que dan lugar a variados y difíciles problemas periciales. Ante todo, globalmente considerado, el alcohol es un factor criminógeno general de primer orden. Está comprobado que los llamados «días criminales», es decir, aquellos en los que estadísticamente es más elevado el número de delitos, corresponden precisamente a los días de intemperancia en el consumo de bebidas alcohólicas.

El alcohol juega papel directo en la realización de crímenes y delitos. Numerosas estadísticas prueban las estrechas relaciones que existen entre la delincuencia y el estado de embriaguez. El consumo del alcohol ejerce una influencia cierta sobre la criminalidad. Se ha observado, en efecto, que el número mayor de atentados contra las personas y contra las costumbres se observa en los departamentos en que abundan más alcohólicos

El alcohol es, pues, un agente de provocación del crimen; enriquece el fichero judicial; es netamente antisocial. El retroceso de la criminalidad depende esencialmente del retroceso del alcoholismo.

Muertes, golpes y lesiones, violaciones y atentados a las costumbres, ultrajes y rebeliones, actos de destrucción o de violencia, tales son las infracciones cometidas bajo el imperio del alcohol.

Asimismo, los días de la semana en que se bebe mucho, domingo y día festivo, son precisamente en los que la criminalidad por golpes y heridas es más elevada. Las jornadas criminales corresponden a las jornadas de intemperancia. Inversamente, en los países de prohibición y sobre todo de restricción alcohólica, la delincuencia disminuye en apreciables proporciones.²⁴

Pero sin duda, la mayor importancia desde el punto de vista numérico, así como por la gravedad de sus consecuencias, corresponde al papel del alcohol en los llamados delitos de circulación o sucesos de tránsito. El gran número de estos y la responsabilidad que incumbe en su producción al alcoholismo, tanto del

conductor como de la víctima, ha obligado en todos los países a dictar medidas legislativas especiales, tendientes a su profilaxis y represión.²⁵

En el Perú, la legislación vigente señala los límites para los diferentes grados de alcoholemia de acuerdo a la Ley N° 27753 que modifica los Artículos 111º, 124º y 274º del Código Penal referidos al homicidio culposo, lesiones culposas y conducción en estado de ebriedad o drogadicción y el Art. 135º del Código Procesal Penal, sobre Mandato de Detención de la siguiente manera:

Tabla 3: Alcoholemia - Ley 27753 del 07 de junio del 2002.

1° Período: 0,25 a 0,5 g/L: sub-clínico. (Ley N° 29439)

No existe síntomas o signos clínicos, pero las pruebas psicométricas muestran una prolongación en los tiempos de respuesta al estímulo y la posibilidad de accidentes. No tiene relevancia administrativa ni penal.

2° Período: 0,5 a 1,5 g/L: ebriedad.

Euforia, verborragia y excitación, pero con disminución de la atención y pérdida de la eficiencia en actos más o menos complejos y dificultad en mantener la postura. Aquí está muy aumentada la posibilidad de accidentes de tránsito, por disminución de los reflejos y el campo visual.

3° Período: 1,5 a 2,5 g/L: ebriedad absoluta.

Excitación, confusión, agresividad, alteraciones de la percepción y pérdida de control.

4° Período: 2,5 a 3,5 g/L: grave alteración de la conciencia.

Estupor, coma, apatía, falta de respuesta a los estímulos, marcada descoordinación muscular, relajación de los esfínteres.

5° Período: niveles mayores de 3,5 g/L: coma.

Hay riesgo de muerte por el coma y el aparato respiratorio con afección neumológica, bradicardia con vaso dilatación periférica y afección intestinal.

Fuente: Diario Oficial El Peruano”²⁶

2.8. Espectrofotometría

La espectroscopia UV-Vis fue uno de los primeros métodos físicos que se aplicaron al análisis cuantitativo y a la determinación de estructuras moleculares. La técnica de espectroscopia UV-Vis es muy utilizada en el análisis cuantitativo,

aunque en análisis cualitativo, en la determinación de estructuras, es superada por otras técnicas, como espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear.²⁷

Esta técnica estudia la absorción por parte de la materia de las radiaciones comprendidas en las zonas UV y visible del espectro electromagnético. La absorción selectiva de radiación produce el espectro de absorción, que proporciona información fundamental para la determinación de las propiedades de la materia.²⁸

La región espectral correspondiente al ultravioleta y visible va desde el UV lejano con longitud de onda entre 10 y 200 nm (también denominada UV de vacío porque el O₂ absorbe en esta región justo por debajo de 200 nm), UV cercano entre 200 y 400 nm, y visible entre 400 y 800 nm, ver anexo 2 del espectro electromagnético.²⁷

Fundamento de la espectroscopía

El fundamento de la espectroscopía se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas.¹⁶

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución de la investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de la Sanidad de la Policía Nacional del Perú – Ayacucho, en el área de dosaje etílico durante los meses de julio a setiembre del 2016.

3.2. Población

Personas adultas que estudian en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH).

3.3. Criterios de inclusión

- Personas a las que se les indujo una bebida alcohólica (ron).
- Personas voluntarias entre los 18 a 35 años de edad.
- Personas entre los 50 a 70 kg de peso.
- Personas que no tengan alguna enfermedad crónica.
- Personas que no sean bebedores crónicos.

3.4. Criterios de exclusión:

- Personas a las que no se les indujo una bebida alcohólica (ron).
- Personas que no se encuentren los 18 a 35 años de edad.
- Personas que posean alguna enfermedad crónica.
- Personas que estén consumiendo medicamentos.

3.5. Muestra

Treinta (30) personas voluntarias que estudian en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH).

3.6. Muestra biológica

Sangre oxalatada.

3.7. Diseño metodológico

3.7.1. Protocolo de recogida de datos

Se elaboró una ficha de datos donde se recolectó la información general de cada uno de los sujetos voluntarios (Anexo 3).

3.7.2. Proceso de inducción de alcoholemia

El proceso de inducción de alcoholemia en personas voluntarias comenzó con la administración vía oral de un volumen de 100 mL de alcohol tipo ron, en el área de Dosaje Etílico de la Región de Salud de la Policía Nacional del Perú – Ayacucho.

3.7.3. Toma de muestras biológicas:

La recolección de la muestra se realizó transcurridos los 60 minutos de la administración vía oral de una bebida alcohólica (ron) a los sujetos voluntarios. Se tomaron muestras de sangre a 30 personas voluntarias, con la ayuda del personal sanitario de la Policía Nacional del Perú de Ayacucho, siguiendo las normas establecidas en el manual de procedimientos del departamento de Química Forense. Se obtuvo las muestras biológicas de la siguiente manera:

- Se aplicó un torniquete en el brazo a unos 5 cm por encima del sitio escogido; se palpó la vena distendida y se desinfectó la zona con una torunda empapada con agua destilada.
- Se alistó el sistema vacutainer, se aproximó la aguja a la vena con el bisel hacia arriba, en un ángulo de 30 a 45°. Apenas la aguja penetra en la luz venosa se colocó el tubo y se esperó a que este se llenara de sangre.
- Se retiró el torniquete y el tubo, se colocó sobre la aguja (aun introducida) una torunda con agua destilada, al mismo tiempo que se retiró la aguja se aplicó firmemente la torunda y se mantuvo presionado la vena.
- Luego se aplicó una cinta adhesiva estéril en el sitio de la punción.

Posteriormente dichas muestras fueron transferidas a los diferentes viales que fueron divididos en tres grupos o tratamientos, I: oxalato de potasio al 2% (anticoagulante); II: fluoruro de sodio al 1% (conservante) más oxalato potásio al

2% (anticoagulante) a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% más oxalato potásio al 2% refrigerada a 4°C.

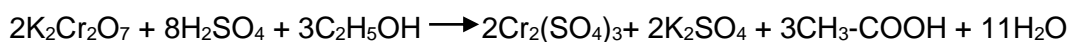
3.7.4. Procesamiento de la muestra

La determinación de la variación de los niveles de alcohol etílico en muestras de sangre, se realizó utilizando el método de "SCHEFFTEL MODIFICADO".

3.7.4.1. Principio del método

Se basa en la acción oxidante de la mezcla sulfocrómica sobre el alcohol etílico con formación de ácido acético y sulfato crómico cuyo color varia de amarillo al verde en forma proporcional a la concentración de alcohol etílico presente en la muestra, esta coloración es medida en el espectrofotómetro UV o en el fotocolorímetro a 420 nm de longitud de onda o con filtro azul respectivamente.

La relación química es:



3.7.4.2. Curva de calibración

Se preparó una solución stock de alcohol etílico (solución madre); se midió 12,8 mL de alcohol absoluto (etanol) de densidad 0,79 g/mL y se completó a 100 mL con agua destilada.

Se tiene que: 1 mL de esta solución contiene 100 mg. de alcohol.

La elaboración de la curva patrón de alcohol etílico se realizó de acuerdo a las siguientes concentraciones a partir de la solución madre. (Anexo 4)

La preparación de la muestra para el análisis de dosaje etílico se realizó en frascos de 50 mL, el cual se preparó de la siguiente manera:

- Se agregó 1 mL de la mezcla sulfocrómica
- Se agregó 200 µL de muestra a una tira doblada de papel de filtro adherida al tapón de jebe con un alfiler.

Luego cada uno de los frascos se selló herméticamente y se llevó a un recipiente para hervir, se agregó agua tibia para cubrir aproximadamente 2 cm de la superficie del recipiente. Se Tomó el tiempo desde que empezó a hervir (10 minutos), luego se sacó los frascos del recipiente y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

- Se agregó 8 mL de agua destilada a cada frasco, y se homogenizó la muestra.

Se calibró el espectrofotómetro UV a 420 nm de longitud de onda con agua destilada. Posteriormente se leyó el blanco y las muestras estándar.

3.7.4.3. Procedimiento para el análisis de la muestra:

Se colocó exactamente un mililitro (1 mL) de la mezcla sulfocrómica en un frasco de 50 mL. Usando un dispensador calibrado de 1 mL. Seguidamente con una pipeta automática se colocó exactamente 0.2 mL de sangre en la tira doblada con papel de filtro adherida al tapón de jebes con un alfiler.

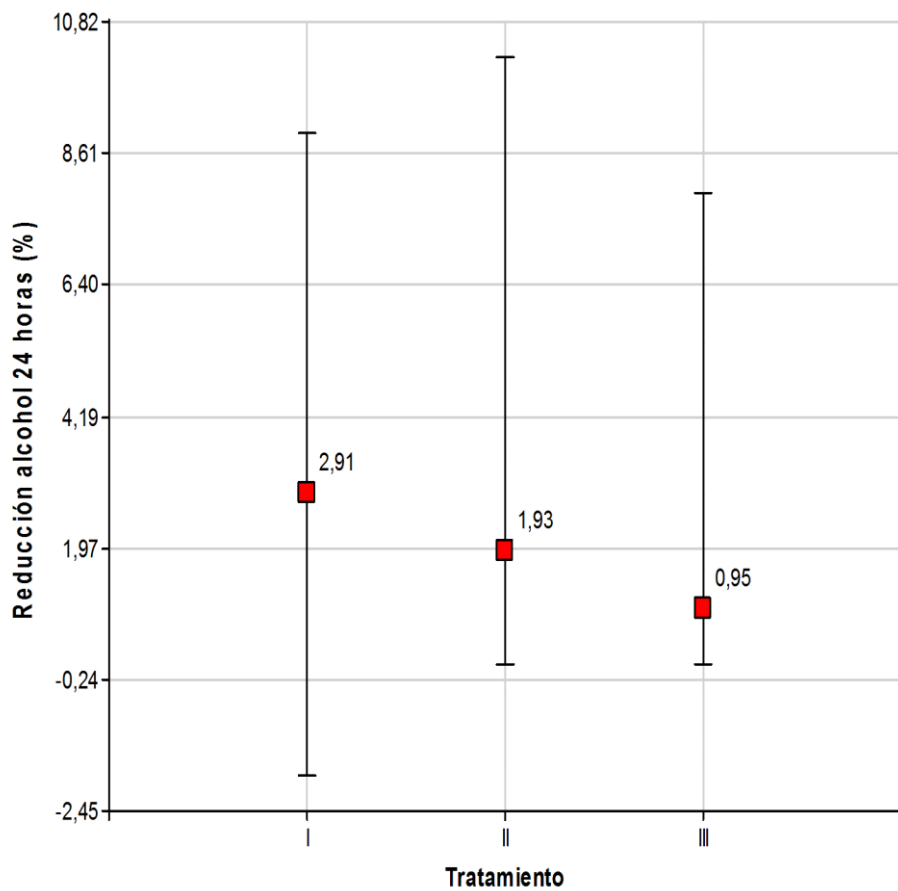
Luego cada uno de los frascos se selló herméticamente cuidando que la tira de papel filtro no toque las paredes del frasco ni el reactivo, y se llevó a un recipiente para hervir, se agregó agua tibia para cubrir aproximadamente 2 cm de la superficie del recipiente. Se tomó el tiempo desde que empezó a hervir (10 minutos), luego se sacó los frascos con muestra del recipiente y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Posteriormente, se completó con agua destilada el contenido de 8 mL; y se realizó la lectura de cada muestra a 420 nm de longitud de onda, en el espectrofotómetro UV.

3.7.4.4. Pasos a seguir para la obtención de la concentración de alcohol en gramos por litro (g/L).

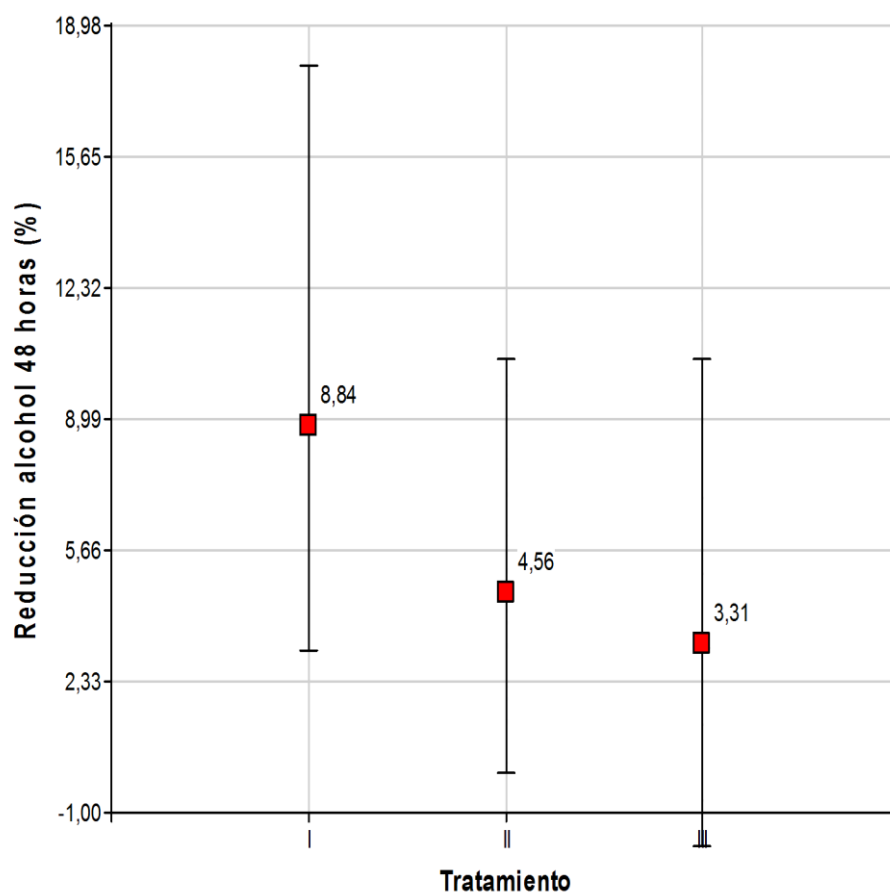
- Se obtuvo la densidad óptica (D.O) promedio del blanco (3 frascos).
- Se obtuvo la densidad óptica (D.O) promedio de cada estándar (3 frascos).
- Se restó la D.O. blanco – D.O. de cada promedio de estándar.
- Se dividió la concentración de cada estándar entre la diferencia del paso anterior; obteniéndose así los factores parciales de cada estándar.
- Se obtuvo el factor de trabajo, sumando los seis factores parciales y dividiéndolos entre seis (6).
- Para obtener la concentración del alcohol en gramos por litro (g/L) de las muestras problema, se restó la D.O. blanco – D.O. de la muestra problema y a este resultado se le multiplicó por el factor de trabajo, que fue obtenido en el paso anterior.

IV. RESULTADOS



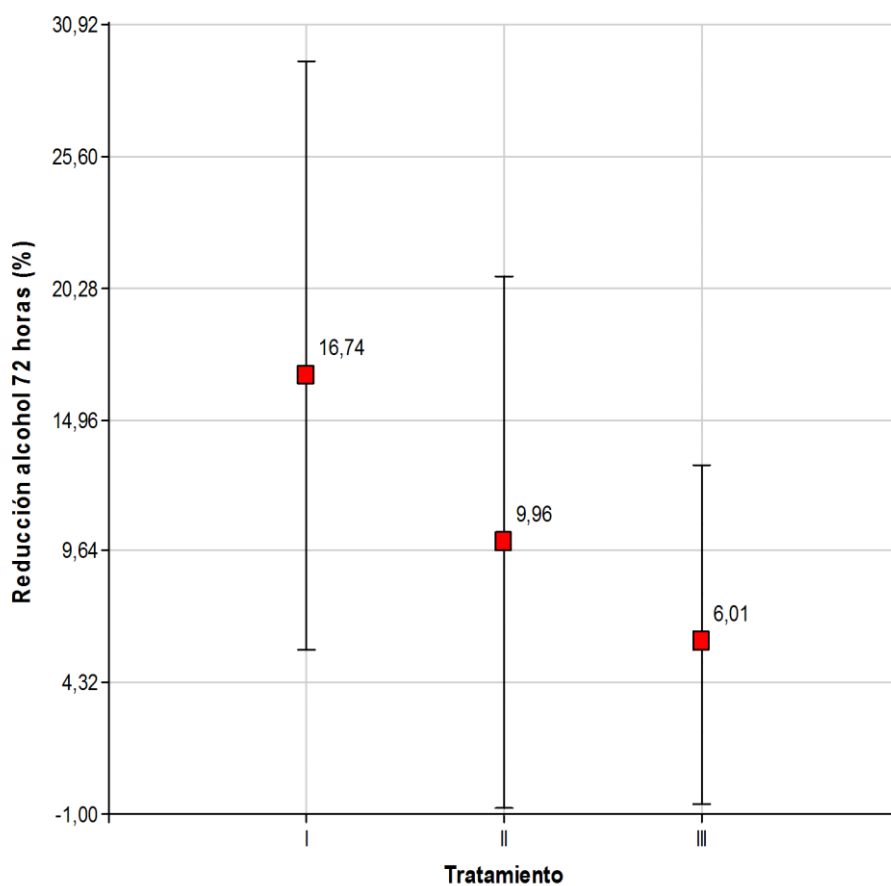
Tratamiento: I: sangre oxalatada; II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Figura 2. Variación del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en muestras de sangre obtenidas de personas con alcoholemia según los tratamientos a las 24 horas. Ayacucho 2016



Tratamiento: I: sangre oxalatada; II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Figura 3. Variación del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en muestras de sangre obtenidas de personas con alcoholemia según los tratamientos a las 48 horas. Ayacucho 2016



Tratamiento: I: sangre oxalatada; II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Figura 4. Variación del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en muestras de sangre obtenidas de personas con alcoholemia según los tratamientos a las 72 horas. Ayacucho 2016

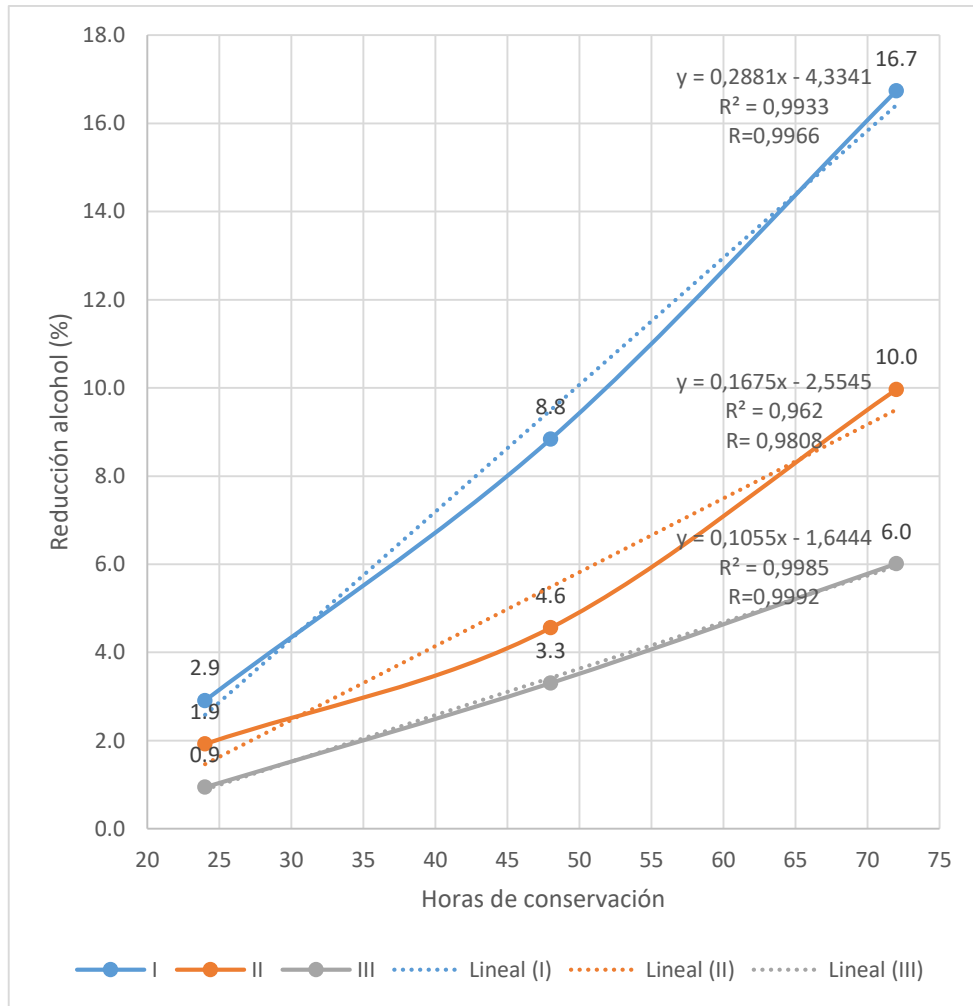
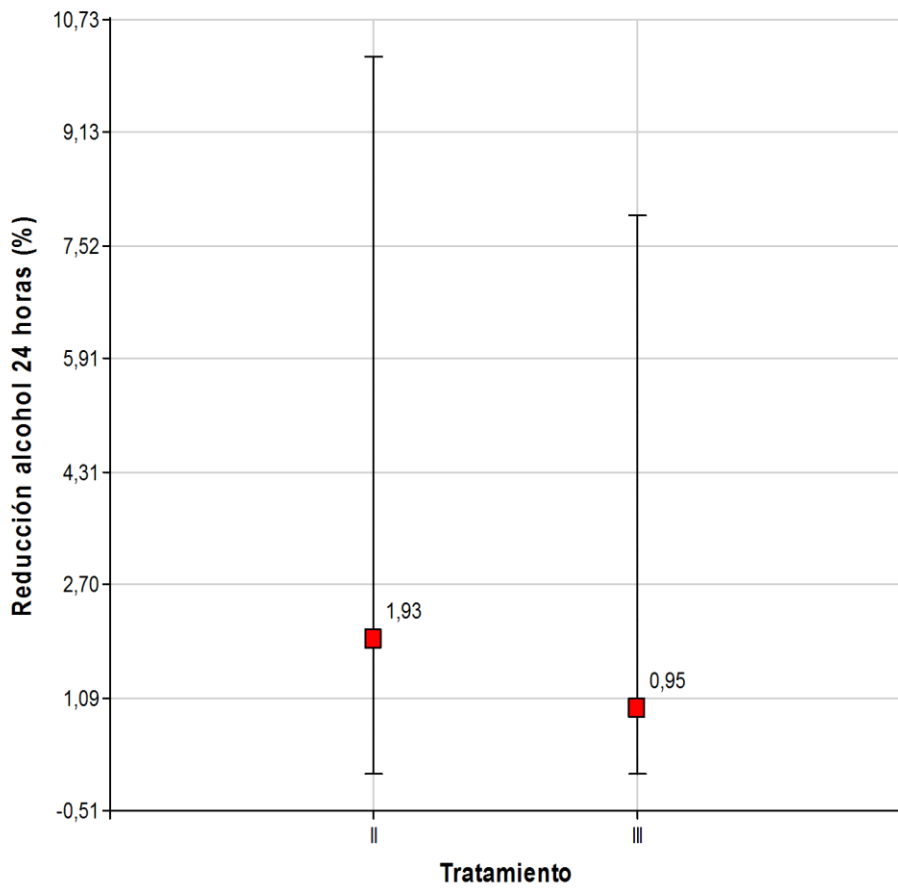
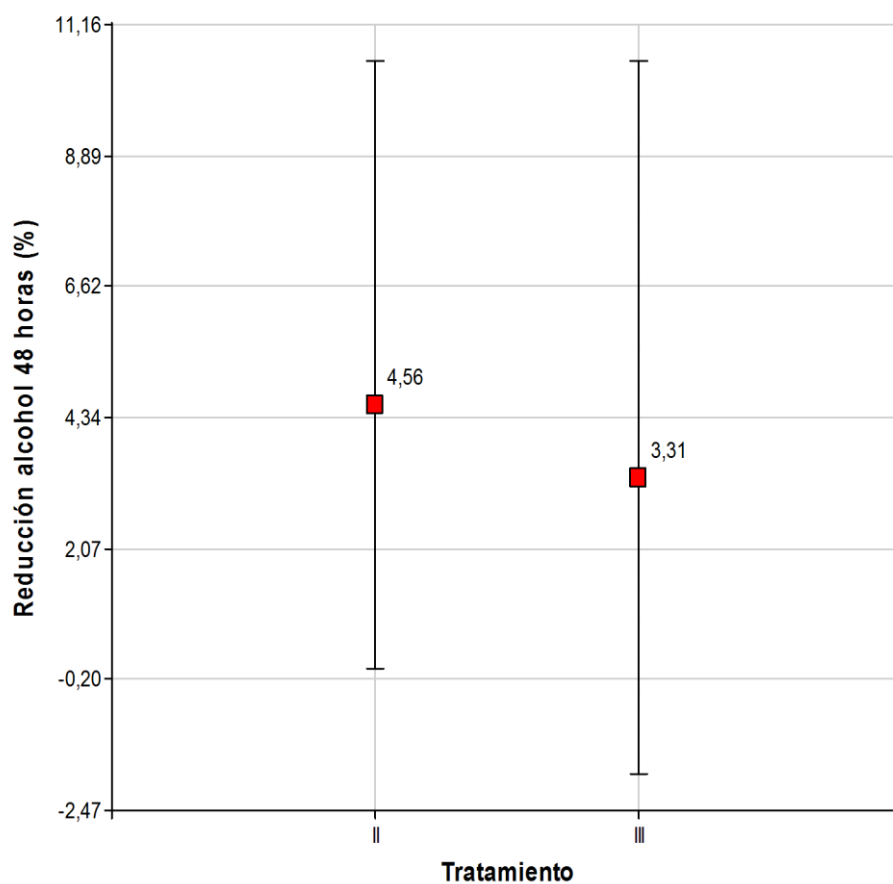


Figura 5. Tendencia del porcentaje de reducción de la cantidad de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia según los tratamientos, a las 24, 48 y 72 horas. Ayacucho 2016.



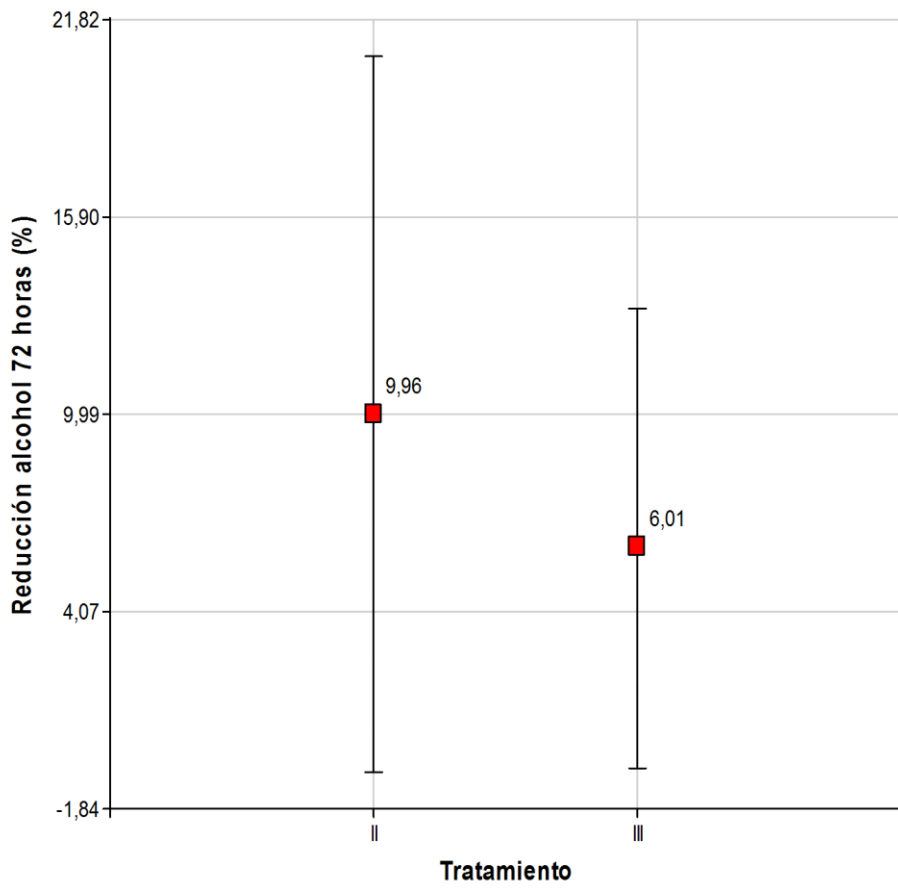
Tratamiento: II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Figura 6. Variación del porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y 4 °C, a las 24 horas. Ayacucho 2016



Tratamiento: II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Figura 7. Variación del porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y 4 °C, a las 48 horas. Ayacucho 2016



Tratamiento: II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Figura 8. Variación del porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y 4 °C, a las 72 horas. Ayacucho 2016

V. DISCUSIÓN

El resultado de la concentración de alcohol en la sangre (alcoholemia) actualmente es un problema muy complejo debido a que el alcohol etílico es un líquido volátil, por lo que se debe de tener una técnica adecuada para tomar la muestra, así como su manejo, conservación y análisis, así mismo también se debe tener presente la cinética que presenta este analito, pues como se ha visto su concentración en el organismo no es uniforme y varía de un organismo a otro. En el presente trabajo, los resultados obtenidos se dividieron en tres grupos: A todas las muestras se le agregó oxalato de sodio al 2% y se les dividió en tres grupos a dos de las cuales se les adicionó fluoruro de sodio al 1% y a un grupo de ellos se le mantuvo refrigerada a una temperatura de 4°C hasta completar el tiempo de análisis por el método de Schefftel modificado. En todos los casos debido a que se les administró la misma cantidad de alcohol etílico tipo ron Cartavio, así como también se tomaron en cuenta algunos aspectos como edad, peso, sexo y otros, se estableció trabajar con los promedios para del porcentaje de reducción del contenido de alcohol en las muestras de sangre. Cabe señalar que los porcentajes calculados fue en referencia a la cantidad de alcohol en el tiempo cero (inmediatamente extraído la muestra de sangre), Es necesario mencionar que se observan valores negativos, principalmente en los valores mínimos, dichos valores reflejan el incremento de la cantidad de alcohol en las muestras con respecto al dosaje inicial.

En la Figura 2 se muestra los porcentajes promedios, máximos y mínimo de la reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre a las 24 horas de conservación. Se observa que los mayores valores de reducción corresponden a los que fueron conservados con Oxalato de potasio al 2% (tratamiento I) con una

media de 2,91%, seguido de las muestras preservadas con Oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente (tratamiento II) que muestra un promedio de 1,93% y finalmente con el menor porcentaje de reducción se tiene a las muestras preservadas con Oxalato de potasio más fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C (tratamiento III). Al realizar la prueba de Kruskal Wallis se halló significancia estadística ($p < 0,05$) la que se muestra en el Anexo 14, es decir que por lo menos uno de los tres tratamientos es diferente en cuanto al porcentaje de reducción de la cantidad de alcohol en la sangre, al realizar la jerarquización de los tratamientos (Anexo 14) se observa que el tratamiento III es el que estadísticamente muestra el menor porcentaje de reducción de alcohol, mientras que los tratamientos II y I son los que presentan mayores porcentajes.

En la Figura 3 se muestra los porcentajes promedios, máximos y mínimo de la reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre a las 48 horas de conservación. Se observa que los mayores valores de reducción corresponden a los que fueron conservados con Oxalato de potasio al 2% (tratamiento I) con una media de 8,84%, seguido de las muestras preservadas con Oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente (tratamiento II) que muestra un promedio de 4,56% y finalmente con el menor porcentaje de reducción se tiene a las muestras preservadas con Oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C (tratamiento III). Al realizar la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 15) se halló significancia estadística ($p < 0,05$), es decir que por lo menos uno de los tres tratamientos es diferente en cuanto al porcentaje de reducción de la cantidad de alcohol en la sangre, al realizar la jerarquización de los tratamientos (Anexo 15) se observa que el tratamiento I y II son los que estadísticamente muestra los mayores porcentajes de reducción de alcohol, mientras que el tratamiento III es el que presenta menor porcentaje.

En la Figura 4 se muestra los porcentajes promedios, máximos y mínimo de la reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre a las 72 horas de conservación. Se observa que los mayores valores de reducción corresponden a los que fueron conservados con Oxalato de potasio al 2% (tratamiento I) con una media de 16,74%, seguido de las muestras preservadas con Oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente (tratamiento II) que muestra un promedio de 9,96% y finalmente con el menor porcentaje de reducción se tiene a las muestras preservadas con Oxalato de potasio al 2%

más fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C (tratamiento III) con un 6,01%. Al realizar la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 16) se halló significancia estadística ($p < 0,05$), es decir que por lo menos uno de los tres tratamientos es diferente en cuanto al porcentaje de reducción de la cantidad de alcohol en la sangre, al realizar la jerarquización de los tratamientos (Anexo 16) se observa que el tratamiento I es el que muestra los mayores porcentajes de reducción de alcohol, seguido del tratamiento II y finalmente del III que es el que muestra los menores porcentajes.

Determinando de esta manera que las muestras sometidas al tratamiento II y III (que tienen al NaF como preservante) conservan mejor el contenido de alcohol en sangre, según refieren algunos autores se debe agregar un preservante para evitar el incremento o disminución de la concentración de alcohol etílico por acción bacteriana, el análisis de la muestra debe ser en el menor tiempo posible de haber sido tomada la muestra, también indican que se debe agregar Fluoruro de Sodio en concentraciones que varíen de 1% a 5%, el cual actúa como preservante y anticoagulante en casos extremos.^{7,9,10,25}

En la Figura 5 se observa que la tendencia en los tres tratamientos es al incremento del porcentaje de reducción del alcohol en las muestras de sangre, siendo mayor en el tratamiento I y menor en el tratamiento III.

Observando de esta manera que los tres tratamientos realizados no tienen la misma capacidad de conservar la concentración de alcohol etílico en las muestras de sangre en relación al tiempo ya que se observa una menor reducción del grado de alcoholemia en las muestras que presentan un preservante. Coincidiendo con lo expresado por algunos autores que mencionan que a mayor tiempo transcurrido hay una mayor posibilidad de variación en la concentración de alcohol en sangre, lo cual se debe a factores intrínsecos como flora bacteriana, estados fisiológicos (infecciones, diabetes, última comida rica en carbohidratos, entre otros); o factores extrínsecos (contaminación por una manipulación inadecuada, mala técnica de toma de muestra, preservantes utilizados, almacenamiento a temperaturas altas, presencia de cámaras de aire en el vial de toma de muestra entre otros) por lo que consideran el uso de preservantes.^{8,10,25}

En la Figura 6 se muestra los porcentajes promedios, máximos y mínimos de la reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre a las 24 horas de

conservación en preservantes de oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente (tratamiento II) y oxalato de potasio 2% más fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C (tratamiento III). Se observa que los mayores valores de reducción corresponden a los que fueron conservados a temperatura ambiente los que muestran promedios de 1,93% y los que fueron refrigerados con un promedio de 0,95%. Al realizar la prueba de Mann Whitney (Anexo 17) se halló significancia estadística, donde el tratamiento que implica conservación a temperatura ambiente muestra los mayores porcentajes de reducción.

En la Figura 7 se muestra los porcentajes promedios, máximos y mínimos de la reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre a las 48 horas de conservación en preservantes de oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C. Se observa que los mayores valores de reducción corresponden a los que fueron conservados a temperatura ambiente los que muestran promedios de 4,56% y los que fueron refrigerados con un promedio de 3,31%. Al realizar la prueba de Mann Whitney (Anexo 17) se halló significancia estadística, donde el tratamiento que implica conservación a temperatura ambiente muestra los mayores porcentajes de reducción.

En la Figura 8 se muestra los porcentajes promedios, máximos y mínimos de la reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre a las 72 horas de conservación en preservantes de oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente y oxalato de potasio al 2% más fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C. Se observa que los mayores valores de reducción corresponden a los que fueron conservados a temperatura ambiente que muestran promedios de 9,96% y los que fueron refrigerados con un promedio de 6,01%. Al realizar la prueba de Mann Whitney (Anexo 17) se halló significancia estadística, donde el tratamiento que implica conservación a temperatura ambiente muestra los mayores porcentajes de reducción.

Determinando de esta manera que la temperatura adecuada para conservar el grado de alcoholemia en las muestras biológicas (sangre) es la de 4°C, ya que existe una mínima reducción de la cantidad de alcohol en las muestras de sangre. Concluyendo así que la temperatura de almacenamiento debe ser la menor posible, ello va a evitar la proliferación bacteriana.²⁹

VI. CONCLUSIONES

1. El procedimiento para conservar mejor el contenido de alcohol en sangre fue el tratamiento con fluoruro de sodio.
2. El porcentaje de reducción del contenido de alcohol en sangre a las 24, 48 y 72 horas fue para el tratamiento I: 2,91%, 8,84% y 16,74%; tratamiento II: 1,93%, 4,56% y 9,96%; tratamiento III: 0,95%, 3,31% y 6,01% respectivamente.
3. La temperatura más adecuada para conservar el contenido de alcohol etílico en sangre es 4 °C, respecto al grupo tratado con fluoruro de sodio al 1%.

VII. RECOMENDACIONES

Del presente trabajo de investigación podemos poner a consideración las siguientes recomendaciones:

1. La conservación de las muestras para la prueba de dosaje etílico debe de realizarse a una temperatura aproximada de 4 °C y no a la de temperatura ambiente ya que preserva mejor las muestras para dosaje etílico.
2. El transporte se deberá hacerse con hielo y en el tiempo más breve posible.
3. No debe existir cámaras de aire (oxígeno) en el recipiente de frasco entre la muestra y la tapa de este por peligro de aumento del etanol y por posible oxidación del mismo.
4. Manejar adecuadamente las muestras para que los datos no sean dispersos, se sugiere que los sujetos voluntarios sean del mismo sexo, que no sean bebedores habituales por un aspecto toxicocinético y también se debe de tomar ocho (8) repeticiones a cada unidad análisis como mínimo para descartar posibles dispersiones.
5. Para futuras investigaciones se recomienda usar un método con mayor sensibilidad como cromatografía de gases con detector de ionización a la llama (GC-FID) con la técnica de espacio de cabeza (Head Space), para evitar la dispersión de los datos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Global status report on alcohol and health 2014. Biblioteca de la OMS Catalogación en la Publicación de Datos; [Base de datos en Internet]; 2014 [acceso 17 de febrero de 2016]; Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf
2. Vassilaqui A. El problema de las drogas en el Perú. Centro de información y educación para la prevención del abuso de drogas. Perú [base de datos en Internet]; 2013 [acceso 12 de enero de 2016]; página: 23,24. Disponible en: file:///C:/Users/Pc_03/Downloads/EL%20PROBLEMA%20DE%20LAS%20ROGAS%20EN%20EL%20PERU%20-%202013.pdf
3. Vassilaqui A. El problema de las drogas en el Perú 2015. Centro de información y educación para la prevención del abuso de drogas. Perú; [base de datos en Internet]; 2015 [acceso 13 de enero de 2016]; página: 19 - 22. Disponible en : http://www.repositorio.cedro.org.pe/bitstream/CEDRO/201/3/El_problema_de_las_Drogas.%C3%BAltima%20ver.pdf
4. Instituto nacional de estadística e informática. Perú enfermedades no transmisibles y transmisibles 2014. INEI. Perú; [Base de datos en Internet]; 2015 [acceso 17 de febrero de 2016]; página: 17 - 57. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1212/Libro.pdf
5. Ferrari LA. Análisis toxicológico de etanol y su interpretación forense. Rev. Ciencia Forense Latinoamericana. Argentina; [base de datos en Internet]; 2008 [acceso 17 de enero de 2016]; página: 1-2. Disponible en: <http://www.perarg.com.ar/docs/asist-Let/documentos/2-1008%20Ferrari%20Alcoholemia.pdf>
6. Alvarado AT; Raudales I y Vega JP. Determinación de alcohol post mortem: aspectos a considerar para una mejor interpretación. Costa Rica. [Base de datos en Internet]; 2008 [acceso 13 de enero de 2016]; vol. 25 (2); página: 36 - 44. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v25n2/3737.pdf>
7. Serrano ME y Vélez ME. Comparación de valores de alcohol etílico en muestras de sangre y humor vítreo en cadáveres de la morgue del hospital Vicente Corral Moscoso. Universidad de Cuenca. Ecuador. [Base de datos en Internet]; 2011 [acceso 17 de enero de 2016]; página: 43-44. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2438/1/tq1078.pdf>
8. Calvo Mendoza A. Estudio y evaluación de la estabilidad del alcohol etílico en muestras de sangre almacenadas en condiciones de temperatura de congelación. Tesis doctoral. Universidad de Valencia. España. [Base de datos en Internet]; 2015 [acceso 17 de enero de 2016]; página: 151-152. Disponible en: <http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/51042/Estudio%20y%20evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20estabilidad%20del%20alcohol%20et%C3%ADlico%20en%20muestras%20de%20sangre%20almacenadas%20en%20condiciones%20de%20temperatura%20de%20congelaci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Canales Martínez CA; Variación de la concentración de alcohol etílico en cadáveres en relación al tiempo. Perú. Tesis para obtener el grado de Magister. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú [base de datos en Internet]; 2011 [acceso 12 de enero de 2016]; página: 31 - 33. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2597/1/Canales_mc.pdf

10. Repetto M. Toxicología avanzada. Madrid España: Editorial Días de Santos S.A; 1995.
11. Téllez J; Cote M. Alcohol Etílico: Un tóxico de alto riesgo para la salud humana socialmente aceptado. Revista Facultad Medicina Universidad Nacional Colombia, [base de datos en Internet]; 2006 [acceso 22 de enero de 2013]; Vol. 54 No. 1. Página: 33 – 34. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v54n1/v54n1a05.pdf>.
12. Mencías E; Mayero LM. Manual de toxicología básica. Madrid España: Editorial Días de Santos S.A; 2000.
13. Villanueva E. Estudio toxicológico y médico – legal del alcohol etílico. En: Gisbert JA et al., Medicina Legal y Toxicología. Barcelona: Editorial Elsevier Masson S.A.; 1998.
14. Centro de Información Toxicológica de Veracruz. Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por Alcohol Etílico o Etanol. México; [base de datos en Internet]; 2006 [acceso 30 de Noviembre de 2016]; página: 6. Disponible en: <http://web.ssaver.gob.mx/citver/files/2014/11/Intoxicaci%C3%B3n-por-Alcohol-Et%C3%ADlico-o-Etanol.pdf>
15. Informe de la Comisión Clínica del Plan Nacional sobre Drogas sobre “Alcohol”. Farmacología y metabolismo del alcohol. España; [base de datos en Internet]; 2004 [acceso 30 de enero de 2016]; página: 6 - 8. Disponible en: <http://www.pnsd.msc.es/Categoria2/publica/pdf/InformeAlcohol.pdf>
16. Roldan J, Frauca C, Dueñas A. intoxicación por alcoholes -ANALES Sis, Navarra España [base de datos en Internet]; 2003; [acceso 17 de marzo de 2016]; vol. 26 (Supl. 1): página: 129 - 139. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v26s1/siete.pdf>
17. Bataller R. Toxicología clínica. Valencia España: Editorial Romeu. S.L; 2004.
18. Ministerio del interior. El alcohol y la conducción. Madrid; España [base de datos en Internet]; 2008 [acceso 28 de febrero de 2016]; página: 10. Disponible en: http://www.dgt.es/PEVI/documentos/catalogo_recursos/didacticos/did_adultas/alcohol.pdf
19. MAPRO. Manual de procedimientos para dosaje etílico. Ayacucho-Perú. [Base de datos en Internet]; 2010 [acceso 12 de enero de 2016]; página: 11 - 36. Disponible en: <http://es.slideshare.net/javierchavez/manual-de-procedimientos-para-dosaje-etilico-2010-pnp>
20. Instituto Nacional de Salud. Manual para obtención y envío de muestras para análisis de eventos de interés en salud pública. Colombia [base de datos en Internet]; 2011 [acceso 02 de marzo de 2016]; página: 31. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/tramites-y-servicios/examenes-de-inter%C3%A9s-en-salud-publica/SiteAssets/Manual%20obtencion%20y%20envio%20de%20muestras%20de%20EISP.pdf>
21. Bernadette R. Hematología fundamentos y aplicaciones clínicas. Segunda ed. Ed. Medica panamericana. Buenos Aires argentina. 2004.
22. Remington farmacia. 20^a ed. Buenos Aires argentina: Editorial Medica panamericana; 2003.
23. Leranoz S. conservantes cosméticos. Dermofarmacia. [Base de datos en Internet]; 2002 [acceso 28 de febrero de 2016]; página: 75. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pidet_articulo=13034831&pidet_usuario=0&pidet_revista=4&fichero=4v21n07a13034831pdf001.pdf&ty=14&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es

24. Morales M. Diseño del proceso de recolección y conservación en frío de tejidos y fluidos de personas fallecidas en accidentes de tránsito vial, en la provincia de Santa Elena. Ecuador; [Base de datos en Internet]; 2009 [acceso 12 de enero de 2016]; página: 45 - 46. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1106/1/5%20TESIS%20MIGUEL%20modificado.pdf>
25. Villanueva E. Estudio toxicológico y médico – legal del alcohol etílico. En: Gisbert JA et al., Medicina Legal y Toxicología. Barcelona: Masson S.A.; 1998
26. Ferrero C. Ley N° 27753. El diario peruano. Perú; [Base de datos en Internet]; 2002 [acceso 23 de enero de 2016]; Disponible en: <http://docs.peru.justia.com/federales/leyes/27753-jun-7-2002.pdf>
27. González R. Fotodegradación de productos plásticos elaborados con polietileno lineal de baja densidad [base de datos en Internet]; 2008 [acceso 17 de febrero de 2016]; página: 33. Disponible en: <http://biblioteca.cio.mx/tesis/13072.pdf>
28. Owen T. Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna. Alemania; [Base de datos en Internet]; 2000 [acceso 12 de enero de 2016]; página: 2 - 4. Disponible en: <http://www.agilent.com/cs/library/primers/public/5980-1397ES.pdf>.
29. Winek T., Winek CL and Wahba WW. The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration. Forensic Sci Int 1996 Apr; 78(3): 179-18

IX. ANEXOS

Anexo 1: Contenido de etanol en bebidas alcohólicas y otros productos

TIPO DE PRODUCTO	ETANOL EN VOL. (%)	ETANOL EN GRAMOS
Alcohol de farmacia al 96%	96%	77 g/100 mL
Alcohol de farmacia al 70%	70%	56 g/100 mL
Aguardiente	42%	17 g/copa 50 mL
Whisky	40%	16 g/50 mL
Vodka	40%	16 g/50 mL
Ron	40%	16 g/50 mL
Orujo	40%	16 g/50 mL
Coñac	37% - 40%	15 – 16 g/50 mL
Ginebra	37% - 40%	15 – 16 g/50 mL
Anís	35%	14 g/50 mL
Vermut	16%	6 g/50 mL
Jerez	15%	6 g/50 mL
Vino	12%	10 g/100 mL
Cava	12%	10 g/100 mL
Cerveza	5 - 6%	8 – 10 g/330 mL

Anexo 2. Espectro electromagnético

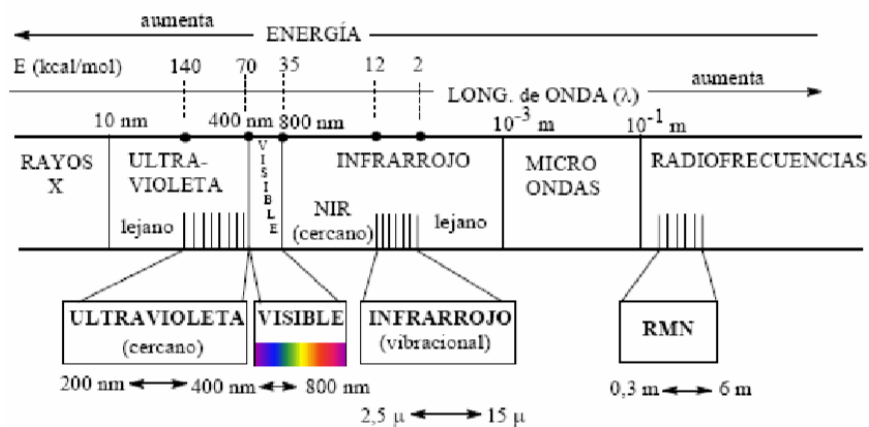


Figura 9. Espectro electromagnético. ²⁸

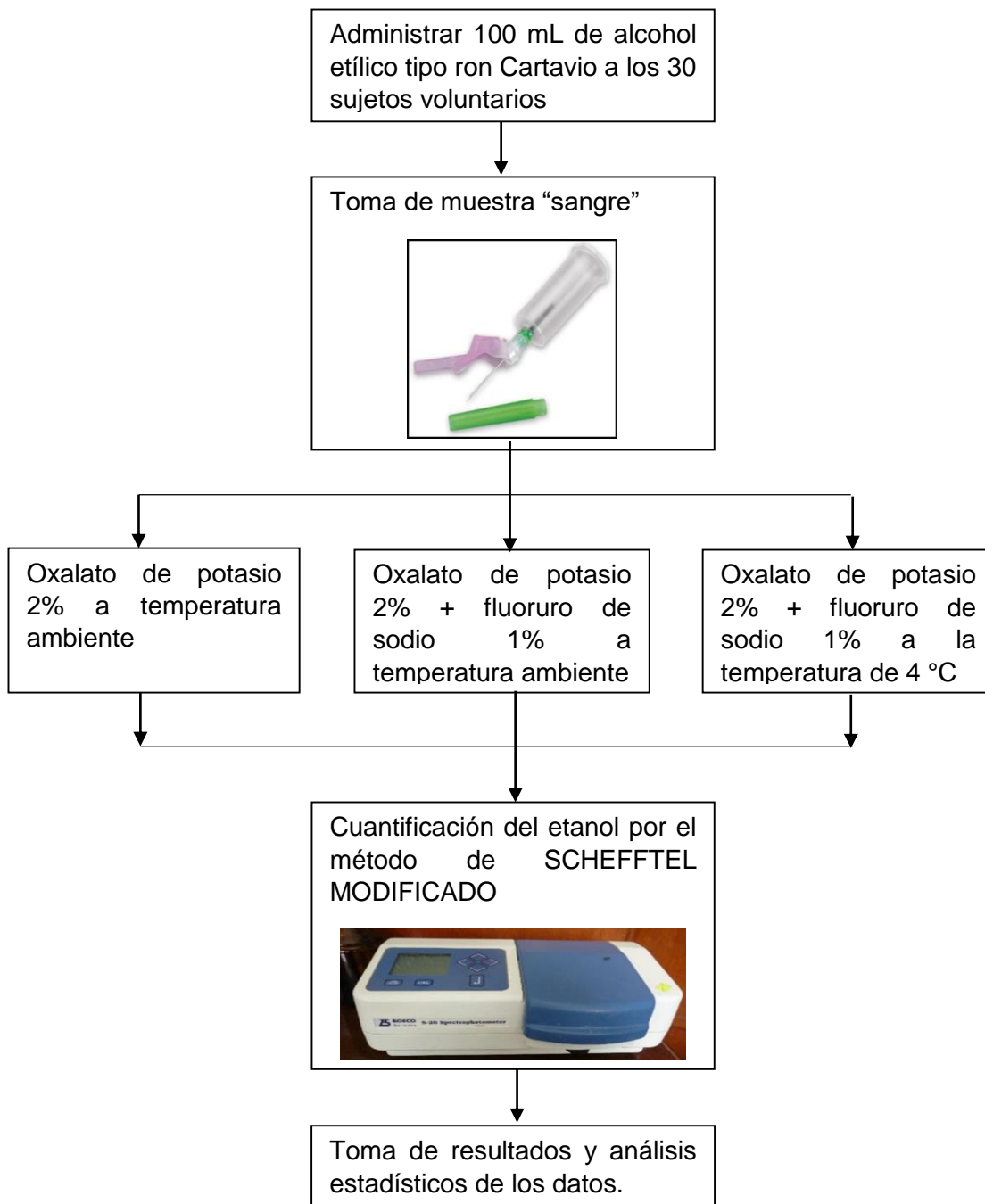
Anexo 3. Instrumentos de recolección de datos

Datos de filiación					
Muestra N°	:	_____			
Edad	:	_____			
Sexo	:	Masculino	<input type="checkbox"/>	Femenino	<input type="checkbox"/>
Peso	:	_____	kg		
¿Posee alguna enfermedad crónica?		Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
¿Está consumiendo algún medicamento?		Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>

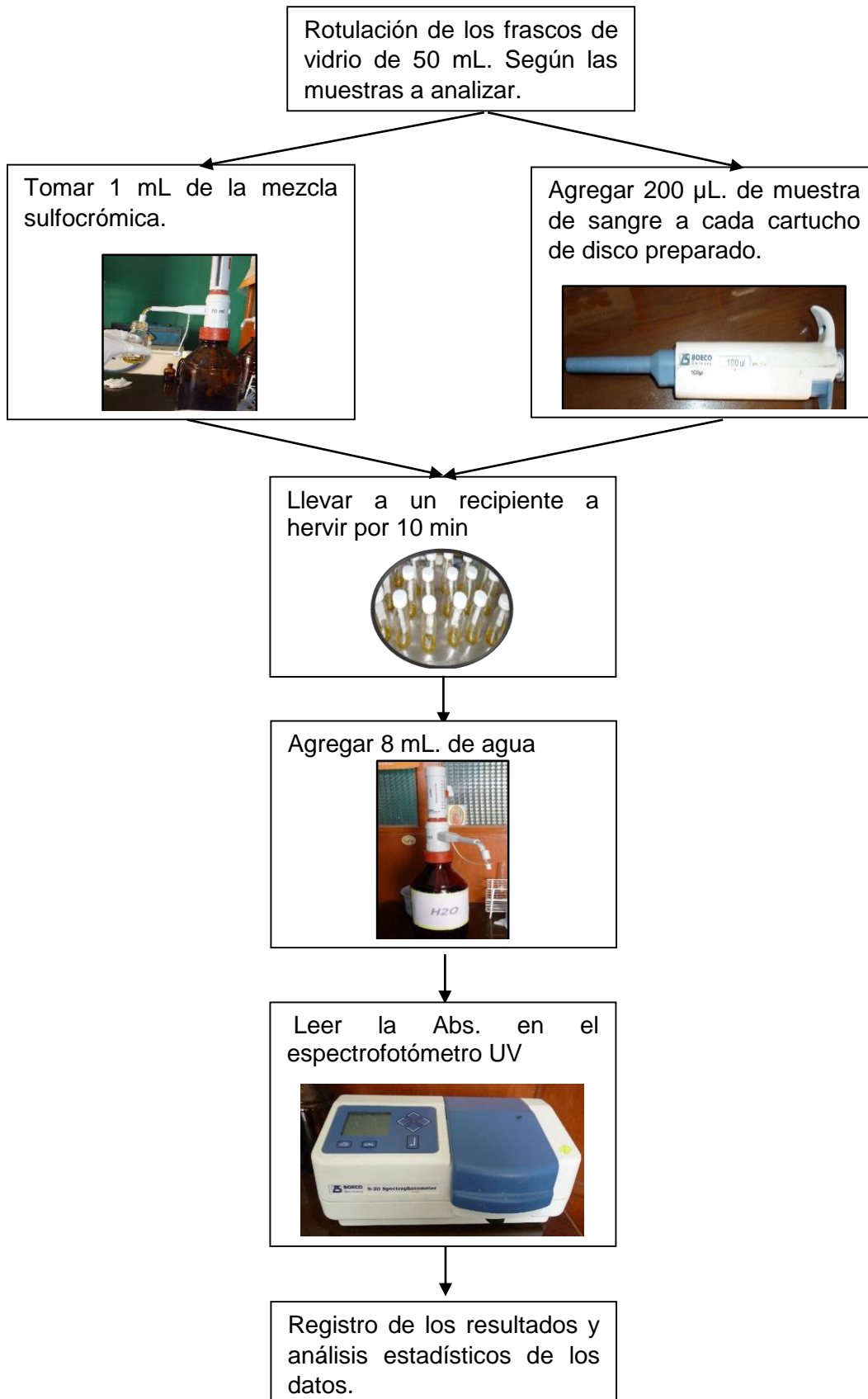
Anexo 4. Concentración de la elaboración de la curva patrón de alcohol etílico.

REACTIVOS	CONCENTRACION (g/mL)					
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
Solución madre	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
Agua destilada mL c.s.p.	100	100	100	100	100	100

Anexo 5. Flujograma del proceso desde la toma de muestra hasta la obtención de los resultados.



Anexo 6. Flujograma de procesamiento de las muestras.



Anexo 7. Preparación de reactivo para dosaje etílico

Reactivo 1

Bicromato de potasio	8,524 g.
Agua destilada c.s.p.	1000 mL.

Reactivo 2

Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄) Q.P.	1000 mL.
--	----------

Mezcla sulfocrómica

Verter lentamente el ácido sulfúrico a la solución de bicromato de potasio previamente sometida a enfriamiento por refrigeración. Por ser una reacción exotérmica.

Nota: guardar en un frasco oscuro.

Preparación de anticoagulante.

Oxalato de potasio: impide que el calcio actúe en la coagulación, precipitándola como sal insoluble (oxalatos). Se utiliza frecuentemente en la proporción de 0.01 mL de una solución al 2% por cada mL de sangre, colocándose en la estufa a 37 °C para evaporar toda el agua y que quede el polvo seco.

Preparación del preservante

Fluoruro de sodio: se utiliza frecuentemente en la proporción de 0,05 g de Fluoruro de Sodio al 1% por cada mL de sangre, colocándose en la estufa a 37 °C para evaporar toda el agua.

Anexo 8. Resultados de la lectura realizada para la calibración en el espectrofotómetro UV del Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho 2016.

	Concentración St (g/L)	Abs.	Prom. Abs	Abs BI - Abs St	Factor parcial
Blanco		0,573	0,568		
		0,572			
		0,560			
St1	0,5	0,539	0,539	0,029	17,241
		0,539			
		0,540			
St2	1	0,497	0,498	0,070	14,218
		0,498			
		0,499			
St3	1,5	0,458	0,457	0,111	13,514
		0,457			
		0,457			
St4	2	0,422	0,423	0,146	13,730
		0,422			
		0,424			
St5	2,5	0,379	0,375	0,193	12,931
		0,370			
		0,376			
St6	3	0,348	0,350	0,219	13,720
		0,345			
		0,356			

Factor parcial

$$fp = \frac{\text{concentración del st}}{\text{abs. del blanco} - \text{abs. del set}}$$

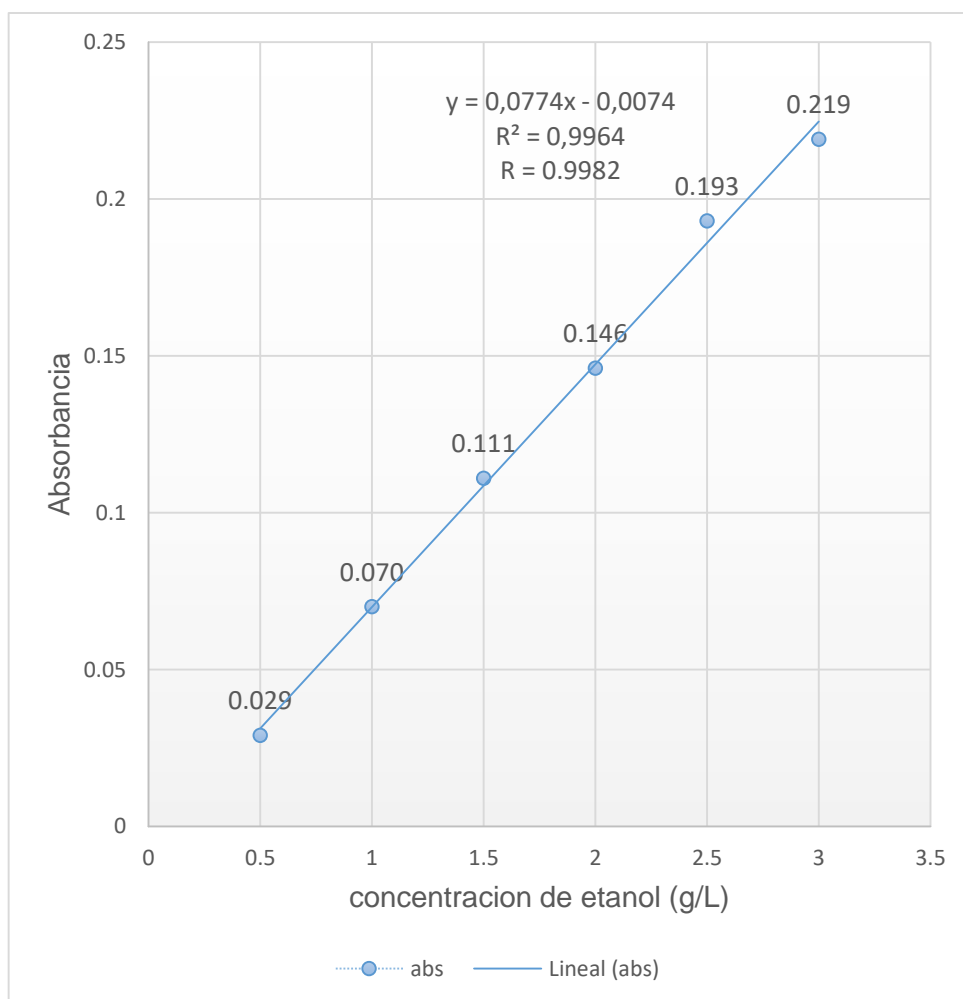
Factor de trabajo

$$ft = \frac{fpst1 + fpst2 + fpst3 + fpst4 + fpst5 + fpst6}{6}$$

$$ft = (17,241 + 14,218 + 13,514 + 13,730 + 12,931 + 13,720)/6$$

$$ft = 14,226$$

Anexo 9. Curva de calibración para dosaje etílico Ayacucho 2016.



Anexo 10. Concentración de alcohol etílico según el tratamiento I (sangre oxalatada) a diferentes temperaturas, de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho – 2016.

N° de mt	Tiempo (h)			
	Alcohol inicial (g/L)	Alcohol a las 24 horas (g/L)	Alcohol a las 48 horas (g/L)	Alcohol a las 72 horas (g/L)
1	0,270	0,275	0,261	0,218
2	0,427	0,408	0,384	0,384
3	0,299	0,285	0,266	0,223
4	1,503	1,475	1,442	1,418
5	0,384	0,360	0,327	0,308
6	0,351	0,346	0,327	0,299
7	0,820	0,806	0,778	0,735
8	0,422	0,417	0,394	0,360
9	0,607	0,597	0,588	0,531
10	0,313	0,285	0,266	0,232
11	0,370	0,360	0,337	0,285
12	0,441	0,446	0,413	0,365
13	0,346	0,346	0,313	0,266
14	0,541	0,498	0,465	0,418
15	0,465	0,446	0,422	0,394
16	0,450	0,446	0,375	0,375
17	0,408	0,394	0,373	0,337
18	0,289	0,275	0,237	0,204
19	0,522	0,512	0,465	0,422
20	0,550	0,531	0,517	0,488
21	0,754	0,754	0,707	0,673
22	0,835	0,792	0,797	0,763
23	0,597	0,593	0,564	0,522
24	0,550	0,545	0,517	0,498
25	0,351	0,346	0,313	0,270
26	0,450	0,422	0,417	0,384
27	0,266	0,251	0,237	0,204
28	0,631	0,616	0,583	0,550
29	0,360	0,346	0,313	0,289
30	0,394	0,384	0,375	0,341

Anexo 11. Concentración de alcohol etílico, según el tratamiento II (fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente) a diferentes tiempos, de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho – 2016.

N° de mt	Tiempo (h)			
	Alcohol inicial (g/L)	Alcohol a las 24 horas (g/L)	Alcohol a las 48 horas (g/L)	Alcohol a las 72 horas (g/L)
1	0,270	0,270	0,261	0,242
2	0,427	0,422	0,417	0,379
3	0,299	0,289	0,280	0,237
4	1,503	1,494	1,494	1,465
5	0,384	0,384	0,375	0,341
6	0,351	0,351	0,337	0,313
7	0,820	0,816	0,792	0,787
8	0,422	0,417	0,413	0,394
9	0,607	0,597	0,583	0,564
10	0,313	0,313	0,280	0,256
11	0,370	0,356	0,341	0,322
12	0,441	0,432	0,422	0,394
13	0,346	0,337	0,322	0,294
14	0,541	0,494	0,484	0,437
15	0,465	0,446	0,427	0,432
16	0,450	0,446	0,450	0,413
17	0,408	0,394	0,384	0,365
18	0,289	0,289	0,261	0,237
19	0,522	0,512	0,503	0,526
20	0,550	0,545	0,536	0,474
21	0,754	0,754	0,740	0,711
22	0,835	0,825	0,816	0,797
23	0,597	0,536	0,569	0,564
24	0,550	0,536	0,522	0,550
25	0,351	0,346	0,332	0,308
26	0,450	0,446	0,436	0,403
27	0,266	0,261	0,261	0,228
28	0,631	0,621	0,616	0,579
29	0,360	0,360	0,332	0,318
30	0,394	0,389	0,379	0,360

Anexo 12. Concentración de alcohol etílico, según el tratamiento III (fluoruro de sodio 1% a la temperatura de 4°C) a diferentes tiempos, de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Dosaje Etílico de la Oficina Criminalística de Región Policial Ayacucho – 2016.

N° de mt	Tiempo (h)			
	Alcohol inicial (g/L)	Alcohol a las 24 horas (g/L)	Alcohol a las 48 horas (g/L)	Alcohol a las 72 horas (g/L)
1	0,270	0,266	0,275	0,242
2	0,427	0,427	0,417	0,389
3	0,299	0,299	0,285	0,275
4	1,503	1,498	1,498	1,480
5	0,384	0,379	0,370	0,360
6	0,351	0,351	0,346	0,327
7	0,820	0,811	0,806	0,825
8	0,422	0,422	0,417	0,389
9	0,607	0,602	0,597	0,588
10	0,313	0,308	0,294	0,280
11	0,370	0,365	0,360	0,346
12	0,441	0,441	0,417	0,413
13	0,346	0,341	0,327	0,318
14	0,541	0,498	0,484	0,475
15	0,465	0,465	0,460	0,455
16	0,450	0,446	0,436	0,422
17	0,408	0,408	0,403	0,379
18	0,289	0,285	0,270	0,251
19	0,522	0,522	0,512	0,507
20	0,550	0,545	0,531	0,522
21	0,754	0,749	0,740	0,726
22	0,835	0,830	0,825	0,811
23	0,597	0,583	0,569	0,564
24	0,550	0,545	0,536	0,526
25	0,351	0,346	0,341	0,332
26	0,450	0,450	0,436	0,432
27	0,266	0,261	0,256	0,251
28	0,631	0,631	0,593	0,602
29	0,360	0,360	0,327	0,327
30	0,394	0,394	0,389	0,384

Anexo 13. Test de Shapiro-Wilks para determinar el tipo de distribución estadística de los datos expresados en porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia preservada con tres métodos (tratamientos). Ayacucho 2016.

Variable	Ajuste	Varianz			Estadístico D	p-valor
		media	a	n		
Reducción alcohol 24 horas (%)	Normal(0,1)	1,93	5,36	90	0,48	<0,0001
Reducción alcohol 48 horas (%)	Normal(0,1)	5,57	15,8	90	0,84	<0,0001
Reducción alcohol 72 horas (%)	Normal(0,1)	10,9	43,85	90	0,94	<0,0001

Anexo 14. Test de Kruskal Wallis para comparar los porcentajes de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), a las 24 horas. Ayacucho 2016

Variable	Tratamiento	N	Medias	H	p
Reducción alcohol 24 horas (%)	I	30	2,91	15,15	0,0005
Reducción alcohol 48 horas (%)	II	30	1,93		
Reducción alcohol 72 horas (%)	III	30	0,95		

Trat.	Ranks	
III	32,28	A
II	45,68	B
I	58,53	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 15. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), a las 48 horas. Ayacucho 2016

Variable	Tratamiento	N	Medias	H	p
Reducción alcohol 24 horas (%)	I	30	8,84	32,96	<0,0001
Reducción alcohol 48 horas (%)	II	30	4,56		
Reducción alcohol 72 horas (%)	III	30	3,31		

Trat.	Ranks	
III	29,35	A
II	40,18	A
I	66,97	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 16. Test de Kruskal Wallis para comparar el porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), a las 72 horas. Ayacucho 2016

Variable	Tratamiento	N	Medias	H	p
Reducción alcohol 24 horas (%)	I	30	16,74	42,06	<0,0001
Reducción alcohol 48 horas (%)	II	30	9,96		
Reducción alcohol 72 horas (%)	III	30	6,01		

Trat.	Ranks		
III	24,43	A	
II	43,97		B
I	68,1		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 17 Test de Mann-Whitney para comparar el porcentaje de reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en dos métodos (tratamientos) a temperatura ambiente y refrigerada, a las 24, 48 y 72 horas. Ayacucho 2016

Variable	Grupo		Media(1)	Media(2)	W	p(2 colas)
	1	2				
Reducción alcohol 24 horas..	II	III	1,93	0,95	1058,5	0,0311
Reducción alcohol 48 horas..	II	III	4,56	3,31	1041,5	0,0614
Reducción alcohol 72 horas..	II	III	9,96	6,01	1136,5	0,0011

Anexo 18. Estadísticos descriptivos para la reducción de contenido de alcohol en muestras de sangre obtenida de personas con alcoholemia en tres métodos (tratamientos), en función al tiempo. Ayacucho 2016

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
I	Reducción alcohol 24 horas	30	2,91	2,56	-1,85	8,95
I	Reducción alcohol 48 horas	30	8,84	4,03	3,13	17,99
I	Reducción alcohol 72 horas	30	16,74	5,92	5,66	29,41
II	Reducción alcohol 24 horas	30	1,93	2,37	0	10,22
II	Reducción alcohol 48 horas	30	4,56	2,82	0	10,54
II	Reducción alcohol 72 horas	30	9,96	5,33	-0,77	20,74
III	Reducción alcohol 24 horas	30	0,95	1,5	0	7,95
III	Reducción alcohol 48 horas	30	3,31	2,62	-1,85	10,54
III	Reducción alcohol 72 horas	30	6,01	3,19	-0,61	13,15

Tratamiento: I: sangre oxalatada; II: fluoruro de sodio al 1% a temperatura ambiente; III: fluoruro de sodio al 1% refrigerado a 4 °C.

Anexo 19. Recolección y obtención de la muestra biológica en el Área de Dosaje Étílico de la Región de Salud PNP Ayacucho 2016.



Anexo 20. Lectura para determinar el grado de alcoholemia en el Área de Dosaje Étílico de la Región de Salud PNP Ayacucho 2016.



Anexo 21. Consentimiento informado

Declaración de consentimiento informado

Por medio de esta carta, Yo (escriba su nombre)
....., otorgo mi consentimiento informado para participar en
el estudio “Desarrollo de un procedimiento para conservar la concentración de
alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en función del tiempo”.

El encuestador me ha explicado los
procedimientos y objetivos del estudio. Entendiendo que estoy participando en
este protocolo de investigación de forma voluntaria. He leído y comprendo la
información en las hojas que constituyen este documento que ahora estoy
firmando

Ayacucho, de del 2016

Firma de la persona
voluntaria

Firma del encuestador

Anexo 22. Matriz de consistencia

Titulo	Problema de investigación	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
Desarrollo de un procedimiento para conservar la concentración de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en función del tiempo. Ayacucho 2016.	¿El procedimiento desarrollado utilizando NaF al 1% como conservante y a temperatura controlada puede mantener la concentración de alcohol en la sangre, en función del tiempo?	<p>Objetivo general</p> <p>Desarrollar un procedimiento para conservar el contenido de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en función al tiempo.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el porcentaje de reducción de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, que serán sometidas a los diferentes tratamientos, a los tiempos de 24, 48 y 72 horas. • Determinar que temperatura es la más adecuada para conservar el contenido de alcohol en sangre obtenida de personas con alcoholemia, en el grupo sometido al NaF al 1%. 	<p>Alcohol etílico:</p> <p>El alcohol etílico también conocido como etanol, alcohol vínico y alcohol de melazas, es un líquido incoloro y volátil de olor agradable.¹⁰</p> <p>Espectroscopia:</p> <p>El fundamento de la espectroscopia se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV visible.¹⁶</p>	<p>H_i: El procedimiento desarrollado utilizando como conservante al NaF 1% y a temperatura controlada conserva la concentración de alcohol en la sangre, en función del tiempo.</p> <p>H_o: El procedimiento desarrollado utilizando como conservante al NaF 1% y a temperatura controlada no ayuda a conservar la concentración de alcohol en la sangre, en función del tiempo.</p>	<p>Variable independiente:</p> <p>procedimiento desarrollado utilizando NaF al 1% como conservante y a temperatura controlada, en función al tiempo.</p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> • Temperatura (°C): 4°C y temperatura ambiente. • Tiempo (h): 0; 6; 24; 48. <p>Variable dependiente:</p> <p>concentración de alcohol en la sangre.</p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> • Niveles de alcohol. 	<p>Tipo de investigación:</p> <p>básico - experimental</p> <p>Nivel: Nominal</p> <p>Población: sangre oxalatada de personas adultas que estudian en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica - UNSCH.</p> <p>Muestra: sangre oxalatada obtenida de 30 personas voluntarias sangre oxalatada de personas adultas que estudian en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica – UNSCH.</p> <p>Metodología a emplear:</p> <p>método de "SCHEFFTEL MODIFICADO".</p> <p>Análisis de datos:</p> <p>Test de Kruskal Wallis. Test de Mann – Whitney. Test de Shapiro –Wilks.</p>