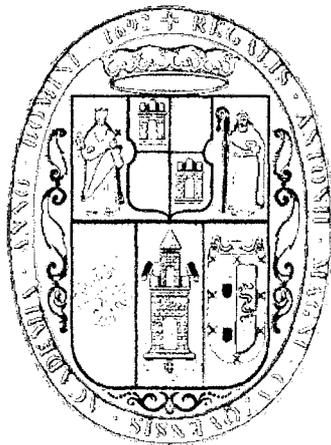


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO  
ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS, MATEMÁTICAS, FARMACIA  
E INFORMATICA**



**TESIS**

**EVALUACION DEL MÉTODO ANALITICO COLORIMETRICO DE  
DOSAJE ETILICO FRENTE AL METODO DE CROMATOGRAFIA DE  
GASES: ESTUDIO EN BEBEDORES SOCIALES Y DIABETICOS  
ABSTEMIOS DE LA CIUDAD DEL CUSCO, DETERMINACIÓN DE  
INTERFERENTES: ESPECIAL INTERÉS EN ACETONA E  
ISOPROPANOL**

**PRESENTADO POR:**

- **YURI AMARU QUISPE QUISPE**
- **EDER ANTONY LOAIZA VELASQUEZ**  
Para optar al título de Químico Farmacéutico

**ASESOR:**

- **Q.F. CARLOS ALBERTO MOREYRA PACHAS**

**CUSCO – PERÚ  
2011**

# ÍNDICE

|   |            |
|---|------------|
| <b>Introducción</b> .....   | <b>VII</b> |
| <b>Capítulo I</b> .....   | <b>1</b>   |
| <b>Generalidades</b> .....  | <b>2</b>   |
| 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....   | 2          |
| 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....  | 4          |
| 1.3 OBJETIVOS.....  | 5          |
| 1.3.1 <i>Objetivo General</i> .....   | 5          |
| 1.3.2 <i>Objetivos Específicos</i> .....  | 5          |
| 1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....  | 6          |
| 1.5 HIPÓTESIS.....  | 8          |
| <b>Capítulo II</b> .....  | <b>9</b>   |
| CAPÍTULO II .....   | 10         |
| 2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO .....  | 10         |
| 2.1.1 <i>A Nivel Internacional</i> .....  | 10         |
| 2.1.2 <i>A Nivel Nacional</i> .....   | 13         |
| 2.1.3 <i>A Nivel Local</i> .....  | 14         |
| 2.2 BASES TEÓRICO-CIENTÍFICAS .....   | 14         |
| 2.2.1 <i>Etanol (Gisbert 1991)</i> .....  | 14         |
| 2.2.1.1 <i>Sustancias Presentes En Bebidas Alcohólicas</i> .....                                | 15         |
| 2.2.1.2 <i>Dosis Tóxica</i> .....   | 15         |
| 2.3 TOXICOCINÉTICA DEL ALCOHOL ETÍLICO.....   | 16         |
| 2.3.1 <i>Absorción</i> .....  | 16         |
| 2.3.2 <i>Distribución</i> .....   | 17         |
| 2.3.3 <i>Metabolismo (Biotransformación)</i> .....  | 19         |
| 2.3.3.1 <i>Metabolismo Hepático Del Etanol</i> .....  | 19         |
| 2.3.3.2 <i>Vías Metabólicas Oxidativas Del Etanol</i> .....                                     | 19         |
| 2.3.3.2.1 <i>Vía Adh</i> .....  | 19         |
| 2.3.3.2.2 <i>Vía Sistema Oxidativo Microsomal</i> .....   | 20         |
| 2.3.3.2.2.1 <i>Oxidación Microsomal Citocromo P450 Del Etanol</i> .....                         | 21         |
| 2.3.3.2.2.2 <i>Vía Catalasas</i> .....  | 21         |
| 2.3.4 <i>Excreción</i> .....  | 21         |
| 2.4. EFECTOS METABÓLICOS DEL ETANOL.....  | 22         |
| 2.4.1 <i>Metabolismo De Los Glúcidos</i> .....  | 22         |
| 2.4.2 <i>Metabolismo Lipídico</i> .....   | 24         |
| 2.5. MÉTODOS BIOQUÍMICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ETANOL EN SANGRE .....                        | 25         |
| 2.6. MÉTODO DE SHEFTELL MODIFICADO PARA FOTOCOLORIMETRÍA.....                                   | 26         |
| 2.7 MÉTODO DE MEDICIÓN DE ETANOL EN SANGRE POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA – HEAD SPACE (GC-Hs) ..... | 26         |
| 2.8 DIABETES MELLITUS .....   | 29         |
| 2.9 GLUCONEOGÉNESIS .....   | 31         |
| 2.10 CETOGÉNESIS .....  | 34         |
| 2.11 CETOACIDOSIS DIABÉTICA .....   | 35         |
| 2.12 CETOACIDOSIS ALCOHÓLICA .....  | 37         |
| 2.13 ADAPTACIONES METABÓLICAS AL AYUNO PROLONGADO HASTA LA INANICIÓN .....                      | 37         |
| 2.14 INTERPRETACIÓN MÉDICO LEGAL DE LAS CIFRAS DE ALCOHOLEMIA.....                              | 39         |
| 2.15 TABLA DE ALCOHOLEMIA (DIARIO EL PERUANO).....  | 39         |
| 2.16 SANCIONES VIGENTES EN ALGUNOS PAÍSES EUROPEOS, SEGÚN LAS TASAS DE ALCOHOL .....            | 40         |

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| 2.17 DOSIFICACIÓN DE ALCOHOL O ALCOHOLEMIA COMO ELEMENTO FUNDAMENTAL PARA TIPIFICAR LOS DELITOS DE M.E.E.( MANEJAR EN ESTADO DE EBRIEDAD) ..... | 41                            |
| <b>Capítulo Iii</b> .....   | <b>44</b>                     |
| MATERIALES Y MÉTODOS.....   | 45                            |
| <b>Materiales</b> .....   | <b>45</b>                     |
| 3.1 MATERIAL HUMANO .....   | 45                            |
| 3.2 MATERIAL BIOLÓGICO.....   | 45                            |
| 3.3 MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO .....  | 45                            |
| 3.3.1. <i>Material De Vidrios Y Otros</i> .....   | 45                            |
| 3.3.2. <i>Soluciones Preparadas</i> .....   | 46                            |
| 3.3.3. <i>Representación De Los Resultados</i> .....  | 46                            |
| 3.3.4. <i>Cromatógrafo De Gases Con Head Space</i> .....  | 46                            |
| 3.3.4.1. <i>Reactivos</i> .....   | 47                            |
| <b>Metodología</b> .....  | <b>48</b>                     |
| 3.4. TIPO DE ESTUDIO.....   | 48                            |
| 3.4.1. <i>Diseño Descriptivo</i> .....  | 48                            |
| 3.5. VARIABLES:.....  | 48                            |
| 3.5.1. <i>Variables Dependientes</i> .....  | 49                            |
| 3.5.1.1. <i>Dosaje Etilico En Sangre Por El Método Analítico Colorimétrico En Bebedores Sociales No Diabéticos</i> .....                        | 49                            |
| 3.5.1.2. <i>Dosaje Etilico En Sangre Por El Método Analítico De Cromatografía De Gases En Bebedores Sociales No Diabéticos</i> .....            | 50                            |
| 3.5.1.3. <i>Dosaje Etilico En Sangre Por El Método Analítico Colorimétrico En Sujetos Diabéticos Abstemios</i> .....                            | 51                            |
| 3.5.1.4. <i>Dosaje Etilico En Sangre Por El Método Analítico De Cromatografía De Gases Sujetos Diabéticos Abstemios</i> .....                   | 51                            |
| 3.5.2. <i>Variables Independientes</i> .....  | 52                            |
| 3.5.2.1. <i>Cantidad De Alcohol Consumido</i> .....   | 52                            |
| 3.5.2.2. <i>Sustancias Interferentes (Acetona E Isopropanol)</i> .....  | 53                            |
| 3.5.3. <i>Variables Intervinientes</i> .....  | 53                            |
| 3.5.3.1. <i>Edad</i> .....  | 53                            |
| 3.5.3.2. <i>Índice De Masa Corporal</i> .....   | 54                            |
| 3.5.3.3. <i>Consumo De Alcohol</i> .....  | 54                            |
| 3.5.3.4. <i>Hábito De Fumar</i> .....   | ¡Error! Marcador no definido. |
| 3.6. POBLACIÓN Y MUESTRA DE ESTUDIO PARA BEBEDORES SOCIALES.....  | 56                            |
| 3.6.1 <i>Criterios De Inclusión</i> .....   | 57                            |
| 3.6.2 <i>Criterios De Exclusión</i> .....   | 57                            |
| 3.7. POBLACIÓN Y MUESTRA DE ESTUDIO PARA DIABÉTICOS ABSTÉMICOS.....   | 58                            |
| 3.7.1 <i>Criterios De Inclusión</i> .....   | 59                            |
| 3.7.2 <i>Criterios De Exclusión</i> .....   | 59                            |
| 3.8. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....  | 59                            |
| INSTRUMENTO .....   | 59                            |
| TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....  | 60                            |
| 3.9. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACION .....  | 61                            |
| <b>Capítulo Iv</b> .....  | <b>69</b>                     |
| <b>Análisis Y Discusión De Los Resultados</b> .....   | <b>69</b>                     |
| 4.1. ASPECTOS GENERALES DE LAS POBLACIONES EN ESTUDIO.....  | 69                            |

|  |            |
|--|------------|
| 4.2.1. Resultados De La Obtencion Del Nivel De Etanolemia A Partir Del Método Por Cromatografía De Gases Y El Método Colorimétrico De La 1º Muestra Tomada A La 1.5 Horas Después De La Ingesta De La Bebida Alcohólica..... | 73         |
| 4.2.2 Resultados De La Obtencion Del Nivel De Etanolemia A Partir Del Método Por Cromatografía De Gases Y El Método Colorimétrico De La 2º Muestra Tomada A Las 2.5 Horas Después De La Ingesta De La Bebida Alcohólica..... | 78         |
| 4.2.3. Analisis De Medianas De Los Resultados Obtenidos Del Nivel De Etanolemia A Partir Del Método Por Cromatografía De Gases Y El Método Colorimétrico De La 1º Muestra. ....  | 83         |
| 4.2.4. Analisis De Medianas De Los Resultados Obtenidos Del Nivel De Etanolemia A Partir Del Método Por Cromatografía De Gases Y El Método Colorimétrico De La 2º Muestra. ....  | 86         |
| 4.4. DE LA VERIFICACIÓN DE LA VALIDEZ DEL MÉTODO ANALÍTICO COLORIMÉTRICO DE DOSAJE ETÍLICO .....   | 90         |
| <b>Conclusiones .....</b>  | <b>99</b>  |
| <b>Anexos.....</b>   | <b>106</b> |

## INDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| CUADRO N° 2.1: DESARROLLO CRONOLÓGICO DE LOS MÉTODOS FORENSES DE ANÁLISIS DE ALCOHOL EN SANGRE.....  | 25 |
| CUADRO N°2.2:TABLA DE ALCOHOLEMIAS.....  | 40 |
| CUADRO N°2.3:SANCIONES POR ALCOHOLEMIA DE 0.2G/L.....  | 41 |
| CUADRO N°2.4:ALCOHOLEMIAS Y SU EFECTO TÓXICO .....   | 41 |
| CUADRO N°4.1.1: DISTRIBUCIÓN DE LAS PERSONAS SEGÚN GRUPO ETAREO.....   | 69 |
| CUADRO N°4.1.2:DISTRIBUCIÓN DE PERSONAS SEGÚN EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL.....  | 71 |
| CUADRO N°4.2.1:RESULTADOS DE LA OBTENCIÓN DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE LA 1° MUESTRA.....                               | 73 |
| CUADRO N°4.2.1.1:ANÁLISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS DE LA OBTENCIÓN DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMETRICO DE LA 1° MUESTRA..... | 74 |
| CUADRO N°4.2.2:RESULTADOS DE LA OBTENCIÓN DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE LA 2° MUESTRA.....                               | 78 |
| CUADRO N°4.2.2.1:ANÁLISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS DE LA OBTENCIÓN DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMETRICO DE LA 2° MUESTRA..... | 79 |
| CUADRO N°4.2.3.1:TABLA ANOVA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL RESULTADO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMETRICO DE LA 1° MUESTRA.....             | 83 |
| CUADRO N°4.2.3.2:TABLA DE PRUEBAS DE MULTIPLES RANGOS.....   | 83 |
| CUADRO N°4.2.4.1:TABLA ANOVA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL RESULTADO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMETRICO DE LA 2° MUESTRA.....             | 86 |
| CUADRO N°4.2.4.2:TABLA DE PRUEBAS DE MULTIPLES RANGOS.....   | 86 |
| CUADRO N°4.3:DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA ACETONA E ISPROPANOL EN LA VALORACIÓN MÉDICO LEGAL DE LA ALCOHOLEMIA OBTENIDA POR EL MÉTODO ANALITICO COLORIMETRICO.....                     | 89 |
| CUADRO N°4.4.1:LINEALIDAD; VALORES DE TRANSMITANCIA. TEST DE PROPORCIONALIDAD .....  | 90 |
| CUADRO N°4.4.2:PENDIENTES. PRUEBA DE LINEALIDAD.....   | 91 |

|  |    |
|--|----|
| CUADRO N°4.4.3:EXACTITUD .....                             | 92 |
| CUADRO N°4.4.4:PRECISIÓN. RESULTADOS DE REPETIBILIDAD..... | 94 |
| CUADRO N°4.4.5:ESPECIFICIDAD .....                         | 95 |

## INDICE DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| GRÁFICO N°4.1.1:Distribución de las personas según grupo etareo.....   | 69 |
| GRÁFICO N°4.1.2:Distribución de personas según índice de masa corporal.....  | 71 |
| GRÁFICO N°4.2.1:1 Histograma GC-HS 1ª muestra .....  | 75 |
| GRÁFICO N°4.2.1:2 Histograma GC-HS 1ª muestra .....  | 77 |
| GRÁFICO 4.2.1.3: Análisis de la distribución de frecuencias de la 1ª muestra ....  | 77 |
| GRÁFICO N°4.2.2:1 Histograma GC-HS 2ª muestra .....  | 80 |
| GRÁFICO N°4.2.2:2 Histograma GC-HS 2ª muestra .....  | 82 |
| GRÁFICO 4.2.2.3: Análisis de la distribución de frecuencias de la 2ª muestra ....  | 82 |
| GRÁFICO N°4.2.3.1:Caja y bigotes para los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1° muestra. .... | 84 |
| GRÁFICO N°4.2.3.2:De cuantiles de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1° muestra .....     | 85 |
| GRÁFICO N°4.2.4.1:Caja y bigotes para los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2° muestra. .... | 87 |
| GRÁFICO N°4.2.4.2:De cuantiles de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2° muestra .....     | 88 |
| GRÁFICO N°4.3.1:Influencia de la acetona e isopropanol en la valoración médico legal de la alcoholemia obtenida por el método analítico colorimétrico .....                            | 89 |
| GRÁFICO N°4.4.3.1:De porcentaje de concentración calculado contra porcentaje adicional .....   | 93 |
| GRÁFICO N°4.4.5.1:Curvas de concentraciones contra transmitancias .....  | 95 |
| GRÁFICO N°4.4.5.2:Barras de transmitancia contra concentraciones.....  | 96 |

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivos generales la evaluación del método analítico colorimétrico frente al método por cromatografía de gases el cual se realizó estableciendo correlación en los resultados hallados por las diferentes metodologías así como también se determinó la interferencia de acetona y otras sustancias reductoras en la determinación de etanol en sangre por el método analítico colorimétrico

La determinación de alcohol etílico en humores o tejidos humanos es una de las prácticas analíticas más frecuente en un laboratorio forense y su determinación posee consecuencias legales importantísimas.

El presente trabajo corresponde a la evaluación de una metodología para el análisis del etanol (alcoholemia), el método colorimétrico de sheftel modificado, método inespecífico que se fundamenta en el poder reductor del etanol, en contraste a la determinación de etanol por cromatografía de gases con detector de ionización de flama y espacio de cabeza CG/FID/HS para lo cual se trabajó con bebedores sociales y diabéticos abstemios.

La presente investigación utilizó el diseño de estudio cuasi experimental descriptivo, la metodología de investigación científica y el enfoque de investigación cuantitativo; además el estudio es de tipo transversal y de laboratorio

Para el caso de bebedores sociales se estudiaron 45 sujetos de estudio que fueron seleccionados mediante los criterios de inclusión y exclusión, se utilizó como instrumento de recolección de datos una ficha de evaluación. Para determinar la concentración de alcohol en sangre por ambos métodos se administró a los sujetos de estudio 1.185g/kg de etanol se realizó la primera toma de muestra a la hora y media, la cual se procedió a analizar por ambas metodologías determinando así por el método analítico colorimétrico un valor de la mediana de 1.24 g/l, con valor de concentración máximo encontrado de 1.89 g/L y un valor mínimo de 1.05 g/L para la primera toma de muestra por su parte el método de cromatografía de gases arrojó un valor de mediana de 1.31 g/l. con

valor de concentración máximo hallado de 1.56 g/L y un valor mínimo de 1.05 g/L para la primera toma de muestra

También se analizó una segunda muestra tomada a las dos horas y media de la ingesta de la bebida alcohólica determinado por el método analítico un valor de la mediana de 1.10 g/l de alcoholemia con valor de concentración máximo encontrado de 1.87 g/L y un valor mínimo de 0.47 g/L para la segunda toma de muestra y por el método de cromatografía de gases un valor de la mediana de 1.15g/l de alcoholemia con valor de concentración máximo encontrado de 1.57 g/L y un valor mínimo de 0.85 g/L para la segunda toma de muestra.

Se encontró en el análisis individual de los datos mayor dispersión en los valores obtenidos por el método colorimétrico, determinándose una desviación estándar de 0.10 y 0.15 para el método de cromatografía de gases y un valor de desviación estándar de 0.21 y 0.29 para el método analítico colorimétrico para la primera y segunda toma de muestra respectivamente

Al comparar los resultados obtenidos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases se determinó para el caso de bebedores sociales que existe una diferencia estadística significativa entre las medianas de la primera y segunda toma de muestra

Por otro lado se realizó el dosaje etílico en sangre de sujetos diabéticos abstemios determinando por el método analítico colorimétrico un valor promedio de 0.15 g/l llegando a un valor máximo de 0.34 g/l. por su parte el método por cromatografía de gases no encontró etanol en las muestras de sangre pero si reporto la presencia de otras sustancias reductoras tales como acetona y metanol; con acetona en un valor máximo de 1.07 mg/dL y trazas de metanol en un valor máximo de 0.358 mg/dL en sujetos diabéticos abstemios sometidos a un programa de control de diabetes

Al comparar los resultados obtenidos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases para el caso de

diabéticos abstemios, se determinó que los niveles de acetona y metanol presentes en la sangre de sujetos diabéticos abstemios interfieren en el método analítico colorimétrico de dosaje etílico. No se evidenció presencia de isopropanol en las muestras de sangre de sujetos diabéticos abstemios por el método de cromatografía de gases

Así también se analizó los parámetros de validación de acuerdo con las normas para metodologías bioanalíticas, especificidad, precisión linealidad, exactitud y estabilidad

Concluyendo que el método analítico colorimétrico utilizado para la cuantificación de etanol en sangre en la ciudad del Cusco, es lineal, preciso y exacto en el rango del 50 al 150% de las concentraciones de trabajo, cumpliendo con los límites de aceptación establecidos para estos parámetros

En cuanto a la especificidad se encontraron interferentes con poder reductor que podrían hallarse en la matriz (sangre), tales como: acetona, isopropanol, metanol. Por lo tanto el método analítico colorimétrico de dosaje etílico no es específico en presencia de otras sustancias reductoras

Palabras clave: alcoholemia, método colorimétrico, cromatografía de gases, bebedores sociales, diabéticos abstemios.

## SUMMARY

This work has as general objectives the evaluation of colorimetric analytical method versus gas chromatographic method which is done by setting correlation in the results found by different methods was determined as well as the interference of acetone and other reducing substances in the determination ethanol in blood by colorimetric analytical method

The determination of ethyl alcohol in fluids or tissues is one of the most common analytical practices in a forensic laboratory and its determination has very important legal consequences.

This work belongs to the evaluation of a methodology for analysis of ethanol (alcohol), the modified colorimetric method Sheftel, nonspecific method is based on the reducing power of ethanol, in contrast to the determination of ethanol by gas chromatography - flame ionization detector and headspace GC / FID / HS for which he worked with social drinkers and teetotaler's diabetics

This research used quasi-experimental study design, descriptive research methodology and quantitative research approach, plus the cross-sectional study and laboratory

In the case of social drinkers studied 45 subjects of study were selected using the inclusion and exclusion criteria was used as a data collection instrument an evaluation form. To determine the blood alcohol concentration by both methods was administered to study subjects 1.185g/kg of ethanol was made the first shot shows the hour and a half, which was analyzed by both methods, thereby determining the colorimetric analytical method of the median value of 1.24 g / l, maximum concentration value found of 1.89 g / L and a minimum value of 1.05 g / L for the first sampling on the other hand the method of gas chromatography showed a median value of 1.31 g / l. maximum concentration value found of 1.56 g / L and a minimum value of 1.05 g / L for the first sampling

We also analyzed a second sample taken two hours from the intake of alcohol determined by the analytical method of the median value of 1.10 g / l of alcohol

with maximum concentration value of 1.87 found g / L and a minimum value of 0.47 g / L for the second sampling and the gas chromatographic method of the median value of 1.15g / l of alcohol with maximum concentration value found of 1.57 g / L and a minimum value of 0.85 g / L for the second sample.

Was found in the individual analysis of larger data scatter in the values obtained by the colorimetric method, determining a standard deviation of 0.10 and 0.15 for the gas chromatographic method and a standard deviation value of 0.21 and 0.29 for the colorimetric analytical method for the first and second sampling respectively

When comparing the results obtained by the colorimetric analytical method versus ethyl dosage analytical method of gas chromatography was determined for the case of social drinkers that there is a statistically significant difference between the medians of the first and second sampling

On the other hand ethyl dosing was performed in blood of diabetic subjects abstinent analytical method determined by the colorimetric average value of 0.15 g / l reaching a maximum value of 0.34 g / l. turn the gas chromatographic method did not find ethanol in blood samples but reported the presence of other reducing substances such as acetone and methanol, with acetone in a maximum of 1.07 mg / dL and traces of methanol in a value maximum of 0358 mg / dL in diabetic subjects abstinent subject to diabetes management program

When comparing the results obtained by the colorimetric analytical method versus ethyl dosage analytical method of gas chromatography in the case of diabetics abstainers, it was determined that the levels of acetone and methanol in the blood of diabetic subjects abstinent interfere with the analytical method ethyl colorimetric dosage. There was no evidence the presence of isopropanol in blood samples from diabetic subjects abstinent by the method of gas chromatography

This also analyzed the validation parameters according to the rules for bioanalytical methods, specificity, accuracy, linearity, accuracy and stability

Concluding that the colorimetric analytical method used for quantification of blood ethanol in the city of Cusco, is linear, precise and accurate in the range of 50 to 150% of the concentrations of work, meeting the acceptance limits established for these parameters as for the specificity were interfering with reducing power could be found in the matrix (blood), such as acetone, isopropanol, methanol. Therefore the dosage colorimetric analytical method is specific to ethyl in the presence of other reducing substances

Keywords: alcohol, colorimetric, gas chromatography, social drinkers, diabetic's abstainers.

## INTRODUCCIÓN

Desde tiempos bíblicos el etanol o alcohol vínico ha sido el agente de toxicofilia y de drogadicción más extendido y generalizado. Al ser una droga permitida en casi todos los países, por su fácil acceso y poderosa propaganda que recibe, se ha convertido en un verdadero problema social pues es la droga más ampliamente empleada por los adolescentes, además en el Perú, el alcoholismo es la primera dependencia a sustancias psicoactivas, porque es el paso seguro hacia el consumo de drogas ilegales como marihuana, cocaína y otras

El alcohol es un factor criminógeno general de primer orden. Está comprobado que aquellos días en los que estadísticamente es más elevado el número de delitos, corresponden precisamente a los días de intemperancia en el consumo de bebidas alcohólicas. La embriaguez, o conjunto de fenómenos psíquicos y somáticos de la intoxicación aguda etanólica, posee una extraordinaria importancia sociológica, criminológica y médico legal (Gisbert 1991)

No es posible silenciar la importancia criminógena de la embriaguez, motivo de frecuentes actuaciones médico-legales que dan lugar a variados y difíciles problemas periciales, como por ejemplo en la interpretación de resultados en el diagnóstico de la embriaguez; estos problemas derivan de la debilidad en los conocimientos científicos hasta hoy aportados respecto al alcohol etílico.

Debido a las múltiples consecuencias jurídicas que pueden derivarse de que una persona se encuentre bajo los efectos del alcohol, es de suma importancia la adecuada interpretación de los resultados contando para esto con procedimiento analíticos capaces de detectar su presencia con un rango de precisión razonable así mismo los profesionales encargados de la interpretación deben realizarla con suma prudencia y competencia teniendo en cuenta todos los factores que podrían afectar el resultado.

El método analítico colorimétrico de dosaje etílico una técnica inespecífica basada en la acción reductora del etanol cuya cuantificación se hace por colorimetría con la ayuda de un espectrofotómetro, tiene el inconveniente de no distinguir entre el alcohol etílico y otras sustancias volátiles reductoras. El presente trabajo brindara datos acerca de la interferencia en el método analítico

colorimétrico de la acetona y el isopropanol que se encuentran en personas diabéticas, así como también de los resultados obtenidos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases en bebedores sociales no diabéticos y en pacientes diabéticos abstemios, lo cual conllevará a que los responsables de realizar el dosaje etílico puedan tener en cuenta la interferencia de estas sustancias reductoras y de esta manera reportar el resultado correcto, así como también los ayudará a discernir entre ambos métodos cual es el más apropiado para la determinación de la alcoholemia según sea el caso

De esta manera se realizó este trabajo de investigación sobre la determinación de alcohol etílico, a fin de identificar y evaluar las técnicas utilizadas; para de esta forma optimizar la eficacia de las pruebas analíticas para la determinación de alcohol etílico en los fluidos biológicos.

# ***CAPÍTULO I***

# CAPÍTULO I

## GENERALIDADES

### 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La determinación de alcohol etílico en humores o tejidos humanos es una de las prácticas analíticas más frecuente en un laboratorio forense. 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. (Figueroa 2008)

Hay que distinguir en los métodos de análisis de alcohol dos grandes grupos: métodos inespecíficos, basados todos ellos en general, en las propiedades reductoras del alcohol, y métodos específicos, capaces de identificar el etanol como tal sustancia química, además de permitir su cuantificación (Gisbert 1991)

Los métodos de determinación de etanol más antiguos tenían el inconveniente de resultados inciertos en caso de alteración de la muestra hemática sometida a estudio. Entre ellos se menciona a los que informaban el resultado como "sustancias reductoras expresadas en alcohol etílico" tanto volumétricos como de microdifusión. También fueron utilizados con cierta frecuencia métodos enzimáticos que han sido superados en la actualidad. (Figueroa 2008)

Algunas técnicas fotométricas que se basan en la oxidación del alcohol mediante agentes como la mezcla sulfocrómica, tienen el inconveniente de ser ciegos, es decir que no se pueden distinguir entre el alcohol etílico y otras sustancias volátiles reductoras (Moreyra 2003)

El espirado humano está compuesto de una mezcla de gases, siendo principalmente oxígeno, nitrógeno, anhídrido carbónico y vapor de agua así como las sustancias volátiles orgánicas en cantidades traza. Estas sustancias volátiles orgánicas se producen de manera endógena durante el metabolismo o se inhalan

con el aire del ambiente. Los estudios han mostrado que el etanol, metanol, acetona, monóxido de carbono, metano e isopreno son sustancias volátiles orgánicas prominentes en el aire espirado humano. Sin embargo durante ciertos desórdenes metabólicos las concentraciones de sustancias volátiles orgánicas exhalados en la respiración puede aumentar apreciablemente.

Las concentraciones elevadas de acetona en sangre y en la respiración puede ocurrir durante ayunas, dietas bajas en carbohidratos, o en la diabetes mellitus mal tratada (Jones A, Andersson L.2008) la acetona puede metabolizarse al alcohol isopropílico por la alcohol deshidrogenasa en ciertos estados de la enfermedad

En nuestra ciudad el dosaje etílico se realiza por el método analítico colorimétrico de SHEFTEL modificado, este método es usado extensivamente para la determinación de alcohol etílico en la sangre. Este procedimiento simple que no involucra ningún material complicado, ha eliminado prácticamente de otros métodos los errores de una manipulación inadecuada y ha prevenido la pérdida de alcohol volátil. Sin embargo, al estar basado en la oxidación de alcohol por el bicromato de potasio, se han levantado las objeciones acerca de la posible interferencia de la acetona. Desde un punto de vista médico-legal este factor puede tener una gran influencia. Diabéticos involucrados en problemas legales podrían intentar minimizar la evidencia de la valoración del alcohol de la sangre. Aunque la acetona es definitivamente más resistente a la oxidación, su interferencia en la determinación del alcohol en sangre no puede negarse (GUY NEDAU 1952)

Es por ello que nace la necesidad de esta investigación de evaluar al método analítico colorimétrico frente al de cromatografía de gases en bebedores sociales no diabéticos y en sujetos diabéticos abstemios, así como también la de determinar la interferencia de la acetona y su metabolito el isopropanol, para de esta manera verificar la validez de los métodos analíticos empleados para la realización de dosaje etílico.

## **1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

- ¿Serán equivalentes los resultados obtenidos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases en bebedores sociales y en pacientes diabéticos abstemios?
- ¿Interferirán los niveles de acetona e isopropanol en sangre en el método analítico colorimétrico de dosaje etílico en sujetos diabéticos abstemios?

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases en bebedores sociales y diabéticos abstemios
- Determinar la Interferencia de los niveles de acetona e isopropanol en sangre en el método analítico colorimétrico de dosaje etílico realizado en sujetos diabéticos abstemios

### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar las concentraciones de etanol en sangre en bebedores sociales no diabéticos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico, previa administración de bebida alcohólica.
- Determinar las concentraciones de etanol en sangre en bebedores sociales no diabéticos por cromatografía de gases, previa administración de bebida alcohólica.
- Comparar los valores de concentración de alcohol etílico en las muestras de sangre en bebedores sociales no diabéticos hallados mediante el método analítico colorimétrico frente a los hallados por cromatografía de gases.
- Realizar el Dosaje Etílico en sangre de sujetos diabéticos abstemios por el método analítico colorimétrico.
- Realizar el Dosaje Etílico en sangre de sujetos diabéticos abstemios por cromatografía de gases
- Comparar los valores de concentración de alcohol etílico en las muestras de sangre de sujetos diabéticos abstemios hallados mediante el método analítico colorimétrico frente a los hallados por cromatografía de gases
- Determinar de qué manera la acetona y el isopropanol influyen en la interpretación médico legal de las cifras de alcoholemia obtenidas por el método analítico colorimétrico.

- Verificar la validez de los métodos analíticos empleados para la realización de dosaje etílico.

#### **1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

El alcohol es globalmente considerado como un factor criminógeno general de primer orden, la embriaguez de importancia criminógena y criminalística es motivo de frecuentes actuaciones médico – legales que dan lugar a variados y difíciles problemas periciales, la mayor importancia desde el punto de vista numérico, así como por la gravedad de las consecuencias, corresponde al papel del alcohol en los llamados delitos de circulación o accidentes de tráfico, el gran número de estos y la responsabilidad que incumbe en su producción al alcoholismo, tanto el conductor como de la víctima han obligado en todos los países a dictar medidas legislativas especiales, tendentes a su profilaxis y represión (Gisbert, 1991)

Son variadas las consecuencias jurídicas que pueden derivarse de que una persona se encuentre bajo los efectos del alcohol, motivo por el que es necesario contar con procedimientos analíticos capaces no sólo de detectar su presencia sino de cuantificarla con un rango de precisión razonable, a su vez la interpretación de los datos debe hacerse con suma prudencia y competencia. Es importante tener confianza en el laboratorio de dosaje etílico, en la validación de los métodos analíticos de dosaje etílico, en la garantía de la calidad de los resultados.

En la actualidad en el Cusco y en muchas ciudades importantes del Perú el dosaje etílico se realiza mediante el método analítico colorimétrico de Schefftel modificado una técnica inespecífica basada en la acción reductora del etanol cuya cuantificación se hace por colorimetría con la ayuda de un espectrofotómetro (Moreyra 2003). Esta técnica es adecuada para la determinación del etanol sin embargo al no valorar específicamente al etanol como tal sino a su poder reductor, tiene el inconveniente de no distinguir entre el alcohol etílico y otras sustancias

volátiles reductoras, cabe destacar que este método no cuenta con alguna técnica que pueda separar sustancias volátiles

El fundamento del método analítico colorimétrico es muy utilizado y es adecuado para la determinación de etanol en sangre, sin embargo se debe tener en cuenta algunas consideraciones especiales como es el caso de la diabetes y otros desórdenes metabólicos que originan sustancias volátiles reductoras en sangre, el presente trabajo pretende brindar datos acerca de la interferencia el método analítico colorimétrico de la acetona y el isopropánol que se encuentran en personas diabéticas, una enfermedad comúnmente vista en la actualidad, que puedan ser utilizadas como referencia en la determinación de alcoholemias en personas de este tipo

La investigación beneficiará a los peritos a dilucidar los resultados hallados en personas diabéticas así como a las mismas personas diabéticas y demás implicadas que acudan a solicitar un examen de dosaje etílico por el método analítico colorimétrico. Puesto que pondrá de manifiesto las posibles causas de los resultados encontrados, y destinar así las consecuencias jurídicas, por otro lado los resultados obtenidos verificarán la validez de los métodos analíticos empleados para la realización de dosaje etílico.

El trabajo de investigación es viable debido a que contamos en la universidad de san Antonio Abad del Cusco con un equipo de cromatografía de gases acoplado a Head Space, para el análisis de alcoholemia por cromatografía de gases así como también en la Sanidad de la Policía Nacional del Perú se cuenta con los instrumentos y procedimientos para el análisis de alcoholemia por el método colorimétrico, también se cuenta con personas que participan voluntariamente en el trabajo de investigación tanto bebedores sociales como diabéticos abstemios.

Serán de suma importancia los resultados hallados en nuestra investigación, porque constituirán un aporte de consulta para Peritos, Médico

Legistas, Abogados, Químico Farmacéuticos y demás relacionados con el dosaje etílico y los problemas periciales que pudieran desencadenar sus resultados, que se extienden a los aspectos médico legales concerniente a la valoración médico legal de las alcoholemias.

### **1.5 HIPÓTESIS**

- Los resultados obtenidos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases en bebedores sociales no diabéticos y en pacientes diabéticos abstemios no son equivalentes.
- Los niveles de acetona e isopropanol en sangre interfieren en el método analítico colorimétrico de dosaje etílico en sujetos diabéticos abstemios.

# ***CAPÍTULO II***

## CAPÍTULO II

### 2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

#### 2.1.1 A NIVEL INTERNACIONAL

GUY NADEAU, "LA INTERFERENCIA DE ACETONA EN LAS DETERMINACIONES DE ALCOHOL EN SANGRE. UN MÉTODO SIMPLE PARA LA DETERMINACIÓN DE ACETONA EN SANGRE" 1952

Publicado en la revista Clínica y Notas de Laboratorio, Canadá donde expresa: A partir de que la acetona puede interferir en la determinación del alcohol en sangre por los métodos de la oxidación, se sugiere que los especímenes se ensayen rutinariamente para su contenido de acetona. Un procedimiento simple, prontamente adaptable para la estimación de la acetona en sangre se describe para este propósito

DE PENA MARIO. "ACCIDENTES DE TRÁNSITO Y ALCOHOL: ASPECTOS LEGALES Y ÉTICOS" 1995.

Publicado en la Rev. Med. Uruguay Montevideo. Donde, Lofthum empleando el método de Widmark, ha encontrado en la sangre de sujetos sanos abstemios un 0.1 g/L de sustancias reductoras considerados como etanol. Por otro lado Wenger, con el método de Nicloux, encuentra, en casos de diabetes hasta 0.35 g/L; cifra que según el mismo autor puede llegar al 0.48 g/L, después de un consumo grande en frutas.

JONES ALAN WAYNE AND ANDERSSON LARS ¿QUÉ SUSTANCIAS INTERFERENTES HAY EN EL AIRE ESPIRADO DE CHOFERES APREHENDIDOS? Usando un Analizador Infrarrojo de 5-filtros (*Evidenzer*)

Publicado en la *Revista de Aire Espirado, Suecia 2008*: Utilizando el Evidenzer (espectroscopia infrarroja) que mide la concentración en aire espirado de etanol de

una persona por medio de 5 filtros infrarrojo. Sin embargo, este tipo de tecnología infrarroja no es completamente específica para la identificación de etanol, la determinación a veces es hecha a otras sustancias volátiles presentes en la muestra de aire espirado lo que causa una lectura alta falsa. Las sustancias orgánicas volátiles más frecuentemente identificadas en sangre cuando se indicó que una sustancia interfirió en el aire espirado fueron acetona, isopropanol y metil etil cetona. Sin embargo en la mayoría de estos casos, la sangre y las muestras de aire espirado también contuvieron concentraciones apreciables de etanol sobre el límite legal para manejar. La acetona e isopropanol podrían aumentar durante la cetogénesis en las personas que sufren de diabetes o después de comer dietas bajas en carbohidratos.

#### JONES A W Y ROSSNER S "FALSO POSITIVO EN LA PRUEBA DE ALCOHOL EN AIRE ESPIRADO DESPUÉS DE UNA DIETA CETOGÉNICA" 2007

Artículo publicado en la Revista Internacional de Obesidad, Suecia: describen el caso de un hombre 59 años de edad que sufre la pérdida de peso con dietas muy bajas en calorías, intentó manejar un automóvil con un dispositivo de enclavamiento de ignición de alcohol pero el vehículo no empezó. Él estaba sorprendido y perturbado por este resultado porque el hombre era abstemio. El tratamiento con dietas muy bajas en calorías conlleva a la cetonemia con las concentraciones altas de acetona, acetoacetato y D-3-hidroxiacetato en la sangre. El dispositivo de enclavamiento de ignición determina el alcohol (el etanol) en la respiración por la oxidación electroquímica, pero la acetona no sufre la oxidación con este detector. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias la acetona es reducida en el cuerpo al isopropanol por el alcohol deshidrogenasa hepática (ADH). El dispositivo de enclavamiento de ignición responde a otros alcoholes (por ejemplo el metanol, n - propanol e isopropanol), que por consiguiente explica el resultado falso-positivo. Este efecto de las dietas cetogénicas necesitan discusión extensa por las autoridades.

BAILEY DAVID N., "DETECCIÓN DE ISOPROPANOL EN PACIENTES ACETONEMICOS NO EXPUESTOS A ISOPROPANOL" 1990

Publicado en la *Revista Toxicología Clínica* en California, donde identifican Isopropanol en cinco pacientes acetónémicos no expuestos a este compuesto. Las concentraciones de suero fueron hasta 297 mg/L para isopropanol y hasta 321 mg/L para la acetona. Las proporciones de la concentración (isopropanol: acetona) fueron hasta de 5:12. Todos los cinco pacientes tenían diabetes mellitus tipo I, eran insulino dependientes. Al momento que se detectó el isopropanol cada paciente era hiperglucémico, y cuatro pacientes tenían acidosis. Estos resultados tienden a corroborar algunos informes de autopsia donde la acetona puede convertirse en isopropanol en condiciones fisiológicas en que la nicotinamida adenina dinucleotido reducido (NADH) es elevada clínicamente. La conversión de acetona a isopropanol in vivo tiene implicaciones toxicológicas clínicas y forenses significativas.

JONES ALAN E., AND SUMMERS RICHARD L., "DETECCIÓN DE ALCOHOL ISOPROPILICO EN UN PACIENTE CON CETOACIDOSIS DIABÉTICA" 2000

Presentado en la *Revista de Medicina de Emergencia* Carolina del Norte; Un hombre de 29 años se presentó al Departamento de Emergencia con cambios de estado mental agudo. Él era incapaz de dar una historia. Se le encontró que tenía cetoacidosis diabética, aunque su familia no informó historia anterior de diabetes. Un examen de exposición tóxica reveló la presencia de alcohol isopropílico en la sangre del paciente. Su condición mejoró con el tratamiento de la cetoacidosis, y él negó cualquier exposición anterior a alcohol isopropílico antes de llegar al hospital. Este caso proporciona el apoyo extenso a la evidencia de que el descubrimiento de alcohol isopropílico no es por una ingestión aguda sino, más bien, un subproducto del metabolismo de la acetona en ciertos estados de la enfermedad.

### 2.1.2 A NIVEL NACIONAL.

ESPINOSA ELIAS, MANUEL ALEJANDRO. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE ETILOXIDACIÓN EN BEBEDORES SOCIALES DE LIMA. . Tesis. Carrera Profesional de Farmacia .UNMSM- LIMA 1992. Trabajo realizado con un grupo de 60 sujetos voluntarios de 17 y 60 años, todos ellos bebedores sociales. Se realizaron estimaciones enzimáticas hepáticas: Transaminasas glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina. Se administró alcohol por vía oral en dosis única para todos los voluntarios: 3 botellas de cerveza, que debían ingerirse en un máximo de 30 a 40 minutos. Se extrajeron muestras de sangre por venipuntura usando agujas estériles a los 0, 15, 60, 120, 180 y 240 minutos. Para determinar los niveles de alcoholemia se utilizaron dos métodos, el uso de Sheftel modificado y el de Conway. Las conclusiones a las que llegaron son las siguientes: El coeficiente de etiloxidación en bebedores sociales de la ciudad de Lima es de 32,877 mg/dl/h con una desviación estándar de 4,139. Comparando el valor del factor de etiloxidación en función del peso, edad, talla, sexo, no difieren significativamente.

AVILA PARCO JOSE MARCO, ROJAS CONDORI GUSTAVO RAUL, ESTUDIO DE LA ALCOHOLEMIA EN MUERTES VIOLENTAS, EVALUACIÓN DE UN MÉTODO CUANTITATIVO. Tesis. Carrera Profesional de Farmacia. UNMSM- LIMA 1992 El presente trabajo tiene como objetivo determinar alcohol etílico por muertes violentas para lo cual se usó el método espectrofotométrico Dubowsky. Además se evalúa un nuevo método cuantitativo basado en el estudio de la especificidad, reacción frente a interferentes y recuperación del etanol usando el reactivo ácido 2-tiobarbitúrico. Las muestras proceden de 603 víctimas recepcionadas en la morgue central de Lima, durante el periodo Enero-Mayo de 1987 donde los datos personales del occiso permitieron elaborar el estudio epidemiológico respectivo. La incidencia de alcoholemia en muertes violentas es de 34,5 % en donde el accidente de tránsito es la causa más frecuente con un 50,4% de los 208 casos positivos, este último representa el 58,2 % seguido por

arma de fuego y blanca respectivamente. El método alternativo evaluado tiene un intervalo de confianza de 98,73 % + - 2,3%.

### **2.1.3 A NIVEL LOCAL**

DEL CARPIO J., C; RAMÍREZ F., V. "ESTUDIO DEL COEFICIENTE DE ETILOXIDACIÓN EN BEBEDORES SOCIALES DE LA CIUDAD DEL CUSCO" 1999. Tesis. C. P. Farmacia y Bioquímica. UNSAAC. Cusco - Perú. En este estudio de investigación realizado en la ciudad del Cusco se halló un coeficiente de etiloxidación que es de 21.34 mg/dL/hora utilizando el método de Sheftel y el método de Conway. La eliminación del etanol por oxidación está disminuida en la altura. El coeficiente de etiloxidación es aplicable para el cálculo retrospectivo siempre y cuando se tomen en cuenta las siguientes variables: función hepática, tipo de bebedor, hora de inicio y término de libación, hora del incidente o accidente, etapa de la cinética de la droga.

## **2.2 BASES TEÓRICO-CIENTÍFICAS**

### **2.2.1 ETANOL (GISBERT 1991)**

El alcohol etílico o etanol es un líquido aromático y combustible que procede de la fermentación de sustancias azucaradas, del almidón y de la celulosa. Constituye el elemento activo (unido, a veces, a otros principios también tóxicos) de las bebidas espirituosas o alcohólicas.

El alcohol etílico puede dar lugar a una intoxicación común, accidental o voluntaria, y a una intoxicación profesional, las intoxicaciones comunes que se dan de forma esporádica, también llamadas agudas presentan formas leves, habitualmente conocidas como ebriedad o embriaguez, de escaso interés clínico pero con una extraordinaria importancia criminalística y médico – legal

La embriaguez o conjunto de fenómenos psíquicos y somáticos de la intoxicación aguda, posee una extraordinaria importancia sociológica, criminológica y médico-legal

Las fuentes de intoxicación alcohólica están constituidas por las bebidas espirituosas o alcohólicas, aunque los distintos tipos de bebidas puedan contener otros elementos responsables de sus características organolépticas, en condiciones ordinarias la embriaguez se debe de modo exclusivo al alcohol etílico

#### 2.2.1.1 SUSTANCIAS PRESENTES EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS

Además del alcohol etílico, las bebidas alcohólicas contienen centenares de sustancias que se pueden clasificar en: volátiles, semivolátiles y no volátiles

Entre las volátiles deben destacarse los alcoholes metílico e isopropílico, junto a ciertos aldehidos y cetonas. El metanol es un contaminante natural de todas las bebidas: las cervezas pueden tener de 6 a 27 mg/l los vinos de 100 a 130 mg/l y los destilables de 4 a 200 mg/l

Otras contaminantes dignos de ser reseñados son las contaminantes vasoactivas, tales como la tiramina e histamina responsables de reacciones de hipertensión y enrojecimiento de la cara, los vinos blancos tienen una concentración media de 5,4 mg/l de histamina y la cerveza algo más de 7,8 mg/l los destilables no suelen contener histamina. La concentración de tiramina en las cervezas oscila entre 2 y 10 mg/l. ente los compuestos no volátiles se encuentran el plomo y el arsénico

#### 2.2.1.2 DOSIS TÓXICA

Las dosis tóxicas son variables con las circunstancias individuales y, mas especialmente, con el acostumbramiento del sujeto, no obstante la experimentación y la clínica permiten conocer los valores medios de su toxicidad, aun cuando solo sea a título de orientación

La ingestión de 1.20 a 1.50 g de alcohol por kilogramo de peso produce embriaguez en las tres cuartas partes de los sujetos. Superadas estas cifras la

embriaguez es la regla, pero si la cantidad ingerida llega a 5 – 6 g de alcohol por kilogramo de peso, la intoxicación puede ser mortal

Precisando más diremos que la ingestión de 0.75 g de alcohol absoluto por kilogramo de peso induce trastornos de la conducta, cuando se trata de funciones delicadas cantidades de 1.50 a 2.35 g de alcohol por kilogramo de peso provocan un cierto grado de embriaguez, sobre todo en los individuos no acostumbrados; dosis superiores a 2.35 g de alcohol por kilogramo de peso, provocan fenómenos de ebriedad en todos los sujetos, las dosis mortales son siempre superiores a 4 g de alcohol por kilogramo de peso, excepto en los niños que poseen una mayor sensibilidad

## **2.3 TOXICOCINÉTICA DEL ALCOHOL ETÍLICO**

### **2.3.1 ABSORCIÓN**

El alcohol se absorbe en un 20 – 30% en el estómago y el resto, en el intestino delgado (duodeno principalmente) todo el alcohol que se ingiere es absorbido no encontrándose nada del mismo en las heces.

La absorción del alcohol etílico se da por un mecanismo de difusión pasiva. La velocidad a la que ocurre la absorción esta determinada por la ley de Fick, de forma que la absorción es mas rápida cuanto mayor es el gradiente de concentración a ambos lados de la membrana digestiva y más amplia la superficie por la que se va a realizar, e inversamente proporcional al grosor de la membrana a atravesar . Otros factores son el tiempo que permanece en contacto con la mucosa digestiva, el flujo sanguíneo en la zona donde se produce la difusión y el contenido alimenticio anterior o actual respecto de la ingesta alcohólica.

Uno de los principales factores que modifican la absorción de alcohol es la presencia de alimentos en el estómago el cual prolonga el vaciamiento gástrico y

además facilita que parte del alcohol sea metabolizado por la pared gástrica. Según algunos trabajos, la presencia de alimentos en el estomago es capaz de disminuir el pico sanguíneo de alcoholemia desde 9% a 23%. (Gisbert, 1991)

- **Factores que Afectan la Absorción del Etanol**

1. Concentración de etanol
2. Flujo sanguíneo al sitio de absorción
3. Propiedades irritantes del etanol
4. Velocidad de la ingesta
5. Tipo de bebida alcohólica
6. Alimentos

El etanol tiene propiedades irritantes y las concentraciones altas pueden causar erosiones superficiales, hemorragias y parálisis de la musculatura lisa del estómago, lo que disminuirá la absorción del etanol.

La máxima concentración sanguínea de etanol se alcanza más lentamente si la bebida alcohólica se ingiere con rapidez, quizás como reflejo de las propiedades irritantes del etanol. No obstante, los niveles máximos de etanol sanguíneo son más altos si se ingiere una dosis de etanol de una sola vez y no en varias dosis pequeñas, probablemente porque en el primer caso el gradiente de concentración del etanol será más alto.

La presencia de alimentos en el estómago retarda el vaciamiento gástrico y así disminuye la absorción de etanol; es el concepto de "no beber con el estómago vacío". Estudios recientes indican que las comidas ricas en grasas, hidratos de carbono o proteínas tienen la misma eficacia para retardar el vaciamiento gástrico. (CEDERBAUM, 2005)

### **2.3.2 DISTRIBUCIÓN**

Una vez que el alcohol es absorbido se distribuye por todo el organismo, se establece un proceso de difusión hística que vendrá regulado por dos factores, la concentración de agua y la de alcohol, con respecto a la sangre. El proceso de

reparto se realiza a velocidades muy distintas y no siempre la concentración de alcohol responde a la que teóricamente le debería corresponder en función de su riqueza de agua.

Dado que la determinación de alcoholemia es el estudio más importante en toxicología forense y no siempre es posible obtener sangre en buenas condiciones para el análisis, se hace preciso conocer cual es la relación existente entre alcoholemia y la concentración del alcohol en otros tejidos.

- **Distribución del alcohol en el sistema vascular.** En las fases de absorción se pueden producir grandes diferencias entre la sangre arterial y la venosa. En el cadáver la sangre se toma del lado derecho del corazón que tiene una gran cantidad de sangre procedente de la vena porta, muy rica en alcohol. Una vez concluida la fase de absorción y establecido el equilibrio, las diferencias no deberían existir.
- **Distribución en la sangre.** El cociente plasma/ sangre total es de 1.18.
- **Distribución en el cerebro.** El tejido cerebral tiene menor contenido de agua (76%) que la sangre (78%) por tanto, el cociente cerebro sangre es de 0.86.
- **Líquido cefalorraquídeo.** El líquido cefalorraquídeo contiene mas agua que la sangre por lo que tendrá mas alcohol que esta, el cociente líquido cefalorraquídeo/ sangre es de 1.18.
- **Concentración en bilis.** Existe una buena correlación entre sangre y bilis. El cociente es de 0.92.
- **Concentración en humor vítreo.** Las concentraciones de alcohol son mayores en sangre que en humor vítreo; a las dos horas de la ingesta, la concentración es idéntica; finalmente, la concentración en el humor vítreo se hace mayor que en la sangre. (GISBERT 1991)

### 2.3.3 METABOLISMO (BIOTRANSFORMACIÓN).

#### 2.3.3.1 METABOLISMO HEPATICO DEL ETANOL.

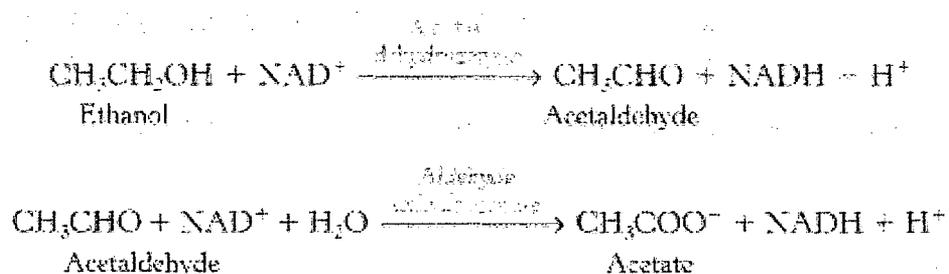
El hepatocito posee tres vías metabólicas para el etanol, cada una de ellas localizada en un distinto compartimento subcelular:

- ADH (alcohol deshidrogenasa), en el citosol
- Sistema oxidativo microsomal, en el retículo endoplásmico liso.
- Catalasa, en los peroxisomas.

El producto metabólico de cada una de estas vías es el mismo: el acetaldehído. En cada vía, el receptor de las moléculas de hidrógeno es diferente, así como también las consecuencias metabólicas.

El acetaldehído es oxidado a acetato en las mitocondrias del hepatocito. El acetato difunde a la sangre y es metabolizado en los tejidos periféricos a CO<sub>2</sub> y agua.

Figura 1



Fuente: BERG J, 2003

#### 2.3.3.2 VÍAS METABÓLICAS OXIDATIVAS DEL ETANOL

##### 2.3.3.2.1 VÍA ADH

La principal vía de biotransformación es a través de la alcohol deshidrogenasa (ADH), que es una enzima citosólica que trabaja con NAD<sup>+</sup> el cual transforma a NADH. Este sistema se satura rápidamente con el alcohol porque la cantidad de alcohol que se ingiere es muy alta (Educación Virtual Interactiva, 2006)

La oxidación del etanol está limitada, generalmente, por la capacidad máxima de la ADH. La cantidad de ADH en el hígado es más alta en estado postprandial que en ayunas, lo que desempeña un papel principal en la velocidad de oxidación más alta en el estado postprandial (ATA, 2004).

### **CARACTERÍSTICAS**

- Su función es metabolizar la pequeña cantidad de alcohol que se ingiere en alimentos fermentados o por fermentación en el intestino.
- Tiene alta afinidad, pero baja capacidad: metaboliza la mayor parte del alcohol, cuando su concentración sanguínea es baja.
- No es inducible: no hay adaptación.
- Mayor concentración en la periferia del acino.
- También existe en el estómago y el riñón.
- La oxidación mediada por ADH produce acetaldehído, transfiriendo hidrógenos al cofactor NAD, que es convertido a su forma reducida NADH (ATA 2004)

#### **2.3.3.2.2 VÍA SISTEMA OXIDATIVO MICROSOMAL**

Una segunda vía pero de importancia menor, es el sistema microsomal semejante al que se vio con relación a los otros fármacos; en este caso se denomina **MEOS** por Microsomal Hepato Oxidation Sistema, y este sistema como todo sistema microsomal requiere de NADPH que se transforma en NADP y existe consumo de oxígeno. Este sistema microsomal se induce por el consumo crónico de alcohol, por lo tanto, adquiere importancia cuando el consumo de alcohol es crónico o cuando las ingestas son muy altas (GLASINOVIC)

### **2.3.3.2.2.1 OXIDACIÓN MICROSOMAL CITOCROMO P450 DEL ETANOL**

El citocromo P450 es una familia de enzimas con grupo hem que participan en la oxidación de esteroides, ácidos grasos y muchos xenobióticos ingeridos del ambiente. Los niveles más altos de citocromo P450 se encuentran en el hígado, donde se ubican principalmente en el retículo endoplásmico (fracción microsomal).

#### **CARACTERÍSTICAS**

Es el sistema de oxidación del alcohol que posee capacidad adaptativa: el consumo prolongado de etanol determina la inducción de una P450 (CYP2E1) específica (5-10 veces).

Una vez inducido, el sistema oxidativo microsomal constituye la vía metabólica principal cuando la concentración sanguínea de alcohol es alta: si bien el etanol tiene una mayor afinidad por la ADH, ésta se satura rápidamente.

La oxidación de alcohol en el sistema microsomal produce acetaldehído, mediante la transferencia de hidrógenos al cofactor NADP, que es convertido a su forma reducida NADPH. (BERNARD 1998)

### **2.3.3.2.2.2 VÍA CATALASAS**

Un tercer sistema es el sistema de la catalasa el que sólo adquiere importancia cuando la ingesta de alcohol es muy alta. Genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Su efecto fisiológico es insignificante. Cuando se ingiere alcohol, prácticamente no se encuentra acetaldehído en la sangre y esto es debido a la gran eficiencia que posee la aldehído deshidrogenasa. (BERNARD 1998)

### **2.3.4 EXCRECIÓN**

- Eliminación pulmonar. Esta fase es posible gracias a la volatilidad del alcohol, que sigue un proceso inverso al de la absorción. Como mecanismo de eliminación tiene escaso interés, pues sólo un 2 – 3 % del alcohol ingerido se elimina por esta vía. Pero desde el punto de vista analítico y judicial es de gran importancia, pues los métodos de análisis incruentos se

basan en este principio: determinación del alcohol presente en el aire espirado. Se ha calculado que el alcohol presente en 2.000 ml de aire espirado equivale al que hay en 1 ml de sangre arterial.

- Eliminación urinaria el alcohol difunde a través del glomérulo y no sufre proceso de reabsorción tubular. La concentración de alcohol en orina dependerá de la alcoholemia, pero esta cambia continuamente y la de la orina no lo hace: la correlación alcoholemia / alcoholuria no es de 1, sino inferior.
- Eliminación por la saliva. La cantidad excretada por esta vía es ínfima, con todo, el volumen de secreción salival tiene el mismo interés analítico que la orina. la concentración en saliva es ligeramente superior a la de la sangre 1.10 (Gisbert, 1991)

## **2.4. EFECTOS METABÓLICOS DEL ETANOL**

El etanol a formado parte de la dieta humana durante siglos sin embargo, su consumo excesivo puede producir problemas de salud muy variados, principalmente el daño hepático, como ya vimos el etanol no puede excretarse como tal y debe metabolizarse, lo que sucede principalmente en el hígado. El etanol se metaboliza por dos vías, la primera vía comprende dos etapas. La primera tiene lugar en el citoplasma y está catalizada por la alcohol deshidrogenada y la segunda es mitocondrial y está catalizada por la aldehído deshidrogenada. En consecuencia el consumo de etanol conduce a una acumulación de NADH. (Berg J, 2003)

### **2.4.1 METABOLISMO DE LOS GLÚCIDOS**

Alteración de la gluconeogénesis: La regeneración del NAD, se hace a expensas del piruvato y del oxalacetato que son los puntos de partida más importante para la gluconeogénesis, (Gisbert, 1991). Un elevado nivel de NADH inhibe la gluconeogénesis al impedir la oxidación de lactato a piruvato (Berg J.2003) e

inhibe otras reacciones necesarias en los procesos gluconeogénicos. El resultado es una hipoglucemia, fenómeno bien conocido desde antiguo, pero no bien explicado, la hipoglucemia puede ir precedida de una hiperglucemia transitoria en respuesta a una glucogenólisis de estrés que durará lo que las reservas de glucógeno (Gisbert, 1991)

Acción sobre el ciclo de Krebs: puede sufrir una inhibición de su sufrimiento hasta de un 75%. El punto más importante es el descenso del oxalacetato. Lo que se debe a que está aumentado el paso de ácido pirúvico a ácido láctico, de una parte y de oxalacetato a malato de otra. A ello se añade la inhibición de ciertas enzimas del ciclo, como son: la isocitrato deshidrogenada, la citrato deshidrogenasa, la citrato sintetasa y la cetoglutarato deshidrogenada (Gisbert 1991),

La mitocondria hepática es capaz de transformar el acetato en acetil-CoA a través de una reacción que consume ATP y que está catalizada por la tioquinasa, la enzima que normalmente activa a los ácidos grasos de cadena corta. Sin embargo, el posterior procesamiento del acetil-CoA por el ciclo del ácido cítrico está bloqueado ya que el NADH inhibe a las enzimas antes mencionadas. La acumulación de acetil-CoA tiene diversas consecuencias. Por un lado se formarán cuerpos cetónicos, que se liberarán a la sangre, agravando con ello la acidosis producida por la elevada concentración de lactato. Por otro lado, como el procesamiento del acetato resulta insuficiente, se eleva la concentración de acetaldehído (BERG J, 2003)

Hiperlactacidemia: para regenerar el NAD la enzima láctico deshidrogenada transforma gran parte del ácido pirúvico en láctico (Gisbert), lo que acentúa la acumulación de lactato. Las consecuencias pueden ser hipoglucemia ya acidosis láctica (Stryer). Esta acidosis cede mejor a los tratamientos con glucosa que contribuye a regenerar el NAD y el ATP (Gisbert, 1991)

## **2.4.2 METABOLISMO LIPÍDICO**

El exceso de NADH también inhibe la oxidación de ácidos grasos. El objetivo de la oxidación de los ácidos grasos es obtener NADH para que este proporcione ATP mediante la fosforilación oxidativa, pero en un consumidor de alcohol las necesidades de NADH se satisfacen al metabolizar etanol. De hecho el exceso de NADH actúa como señal de que las condiciones celulares son las adecuadas para sintetizar ácidos grasos. De este modo se acumula triacilglicerol en el hígado, lo que origina una situación conocida como "hígado graso" (Berg J, 2003)

La acción del etanol sobre el metabolismo de los lípidos se efectúa en diferentes vías y depende de que se trate de intoxicaciones agudas o crónicas en resumen:

Aumento de la síntesis de los ácidos grasos libres, ya que la acetil-Coa es canalizada en esa dirección debido al exceso de NADH + H<sup>+</sup> y la inhibición del ciclo de Krebs

Aumento de la síntesis de triglicéridos debido a que se favorece la síntesis de glicerol, precursor de los triglicéridos

Disminución de la oxidación de los ácidos grasos libres, que no solo no se oxidan sino forman ácidos grasos de cadena larga. El mal catabolismo de los ácidos grasos es el responsable de la cetonemia y de la cetonuria de los alcohólicos

El resultado final es un depósito de grasas en los tejidos, principalmente en hígado y en corazón, lo que a la larga se traducirá en una degeneración grasa. La disminución de las oxidaciones y el aumento de la síntesis de los triglicéridos, ambos procesos ligados a los descensos del NAD, serían las causas principales de esa degeneración grasa. (Gisbert, 1991)

## 2.5. MÉTODOS BIOQUÍMICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ETANOL EN SANGRE

Por lo que respecta a su fundamento hay que distinguir dos grandes grupos:

Inespecíficos: basados en las propiedades reductoras del etanol (Shefftel modificado, Fisher, Konway, Dubowsky, cavett, etc)

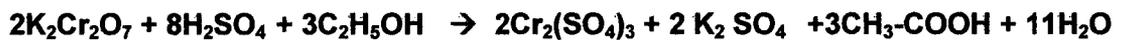
Específicos: capaces de identificar el etanol como tal sustancia química, además de permitir su cuantificación (método enzimático de NAD – ADH, cromatografía de gases) (Gisbert 1991)

**Cuadro 1** Desarrollo cronológico de los métodos forenses de análisis de alcohol en sangre (Tomado del Fifty years on; Looking back at developments in methods of blood and breath-alcohol analysis. 2000).

| PERIODO DE TIEMPO | MÉTODOS USADOS PARA EL ANÁLISIS DEL ALCOHOL EN MUESTRAS DE SANGRE   |
|-------------------|---|
| 1900 - 1950       | Oxidación química del alcohol con mezclas de dicromato de potasio y ácido sulfúrico,  |
| 1950 – 1960       | Oxidación enzimática del etanol con alcohol deshidrogenada (ADH), extraída de la levadura, en la reacción, la coenzima nicotinamida adenina dinucleotido (NAD) se vuelve cuantitativamente reducido a NADH y es monitoreado a 340 nm                      |
| 1960 - 1972       | Cromatografía de gases (columnas condensadas) y detector de ionización de llama por la inyección directa de la muestra de sangre (10uL) después de la dilución (1:10) con un estandar interno ( n-propanol )  |
| 1972 – 2000       | Cromatografía de gases espacio cabeza (headspace) con detector de ionización de flama probando la fase de vapor en equilibrio con la muestra de sangre después de la dilución (1:10) con un estandar interno (n-propanol o t-butanol) y calentando a 50°C |
| 1985 – 2000       | Cromatografía de gases espacio cabeza – espectrometria de masas y la identificación de etanol por los fragmentos de masa.   |

## **2.6. MÉTODO DE SHEFTELL MODIFICADO PARA FOTOCOLORIMETRÍA.**

La mezcla oxidante Bicromato – ácido sulfúrico actúa sobre el alcohol etílico transformándolo en ácido acético, a la vez que se forma sulfato cromoso con una coloración que varía del amarillo al verde, en forma proporcional a la concentración de etanol existente en la muestra. Susceptible de ser medido por fotolorimetría. (Moreyra 2003)



El alcohol puede investigarse en el vivo o en el cadáver, en el vivo en sangre y orina. El medio ideal para apreciar la impregnación alcohólica de un sujeto es la sangre que, por una parte, contiene pocas sustancias volátiles reductoras susceptibles de interferir en la determinación y, por otra parte, la concentración de etanol está equilibrada con la del líquido céfalo raquídeo y sobre todo del sistema nervioso central, constituyendo, el receptor fundamental de la acción tóxica del etanol.

## **2.7 MÉTODO DE MEDICIÓN DE ETANOL EN SANGRE POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA – HEAD SPACE (GC-HS)**

En los inicios de 1960, los métodos físico-químicos fueron aplicados al análisis de alcohol en fluidos corporales como la espectrometría infrarrojo, oxidación electroquímica, y cromatografía líquida en gas (GLC). Para el análisis de líquidos biológicos, la GLC se ha convertido en el método de elección en clínico y los laboratorios forenses consideraron la electroquímica y los métodos infrarrojos para analizar el alcohol, Los primeros métodos GLC pidieron que el etanol fuese extraído de sangre requirieron el uso de un solvente (n-propil acetato) o por bidestilación, pero más tarde la prueba de sangre fue simplemente diluido (1:5 o 1:10) con una solución acuosa de un estándar interno (n-propanol o t-butanol). (Christopher S.M. 1998)

El paso inicial de dilución eliminó efectos matriciales a fin de que los estándares alcohólicos acuosos pudiesen servir para calibración y estandarización de la respuesta del detector. El uso de un estándar interno pudo determinar cualquier variación inesperada en el GC durante un análisis las que influenciaron en la respuesta de etanol y el estándar del mismo modo así la proporción de alturas culminantes o las áreas culminantes (el etanol /estándar) permanecieron constantes. (Christopher S.M. 1998)

Aproximadamente 1-5  $\mu\text{L}$  de muestra de sangre entera fue diluido y vaporizado en un caudal de nitrógeno, como un gas transportador (la fase móvil), que fluyó a través de una columna de metal o vidrio teniendo las dimensiones 2 m de largo por 0.3 mm de diámetro interior la que contuvo la fase estacionaria líquida como una película delgada sobre un material sólido inerte para proveer un área de la superficie grande. Los componentes volátiles de una mezcla se distribuyen entre la fase móvil (el del gas transportador) y la fase líquida a merced de sus propiedades fisicoquímicas como el punto de ebullición, los grupos funcionales presentes, y la solubilidad relativa que en el líquido ponen, ya sea la separación parcial o completa que ocurre durante el pasaje a través de la columna. Las fases estacionarias polares fueron una elección obvia para el análisis de alcoholes y de polietilen-glicoles con pesos moleculares promedios de 400, 600, 1500. Haciéndose ampliamente disponible y conocido como Carbowax Phases. De Otra forma, el polímero poroso como Poropak Q y S sirvieron de materiales de empaquetamiento para las columnas de GC cuando los alcoholes de bajo peso molecular fueron analizados. (Christopher S.M. 1998)

La corriente de desagüe de la columna fue monitoreada continuamente como una función de tiempo con un detector de conductividad térmica (TC), pero esto fue más tarde reemplazado por un detector de ionización de la llama (FI), lo cual fue más sensitivo y dio una respuesta muy pequeña para el vapor de agua presente en los fluidos corporales. La concentración de etanol en sangre fue determinada

comparando la respuesta del detector (altura del pico o área del pico registrado) obteniéndose análisis idénticos comparados con estándares alcohólicos conocidos y haciendo ploteo de calibración. Los detalles Metodológicos de antiguos métodos de GC para el análisis de alcohol en sangre han sido revisados en uno y otros sitios. Un manual preparado por Dubowski como un informe para el Gobierno de Estados Unidos está en particular detallado y hace una fuente remisiva útil para más información acerca de los métodos de GC para el análisis de alcohol en sangre. (Christopher S.M. 1998).

El análisis por Cromatografía Gaseosa Espacio-Cabeza (GC-HS), es ahora el método de elección para el análisis de alcohol y otras sustancias volátiles en sangre y tejido fino en la ciencia forense y laboratorios de toxicología. GC-HS requiere que las muestras de y estándares acuosos sean primeros diluidos (1:5 o 1:10) con una solución acuosa de un estándar interno y la mezcla tiene que mantenerse en equilibrio a 50 ò 60 °C en viales de vidrio herméticos. La calefacción prolongada de la muestra de sangre a 60 °C transforma algunas trazas de etanol en acetaldehído por una reacción de oxidación no-enzimática asistido por la degradación de la oxihemoglobina. Este efecto indeseable puede ser evitado tratando la muestra de sangre con Ditionato de sodio o usando una temperatura inferior (40 o 50 °C) de equilibrio. (Christopher S.M. 1998).

El método de muestreo del Espacio-Cabeza (headspace) donde una porción del vapor en equilibrio con la muestra diluida de sangre están distantes, con la ayuda de una jeringa apretada en gas por un dispositivo automatizado de muestreo del headspace y una inyección altamente reproducible hecha encima de la columna cromatográfica. Varios fabricantes ofrecen equipos dedicados al análisis del headspace y la compañía de Perkin-Elmer ha dominado este mercado desde los inicios de 1960. Los instrumentos diversos de GC-HS han sido producidos y, en el orden cronológico, éstos fueron representados por Multifract: HS-40, HS-42, HS-45, y más recientemente HS-100 montados en Sigma 2000 gas chromatograph. Esta combinación más reciente permite el análisis de hasta 100 pruebas en una

sola carrera, pero desafortunadamente esta opción está ya no disponible porque las unidades HS-GC actualmente comercializadas tienen la capacidad de sujetar sólo 40 muestras. Esto seriamente limita el número de muestras de sangre que se analiza en una sola carrera porque varios estándares de control de calibración y los blancos también deben ser incluidos. (Christopher S.M. 1998).

## **2.8 DIABETES MELLITUS**

Síndrome caracterizado por una hiperglucemia que se debe a un deterioro absoluto o relativo de la secreción y/o la acción de la insulina (Merk)

La diabetes mellitas, una enfermedad compleja, caracterizada por un patrón anómalo en el empleo de combustibles: la glucosa se produce en exceso en el hígado y se utiliza deficientemente por los otros órganos, la diabetes afecta aproximadamente al 5 % de la población. De hecho la diabetes es la enfermedad metabólica grave más frecuente en el mundo; afecta a centenares de millones de personas. La diabetes tipo I o diabetes mellitus dependiente de insulina, se debe a una destrucción autoinmune de las células b secretoras de insulina del páncreas y normalmente se manifiesta antes de los 20 años. El término dependiente de insulina significa que el individuo necesita insulina para vivir. Sin embargo la mayoría de las personas diabéticas tienen un nivel de insulina en sangre normal, o incluso superior al normal, pero responden defectuosamente a la hormona. Esta forma de la enfermedad se conoce como la diabetes tipo II, o diabetes mellitus no dependiente de insulina y se manifiesta en fases más tardías de la vida que la forma insulino dependiente (BERG J, 2003)

Los *pacientes* con diabetes mellitus (DM) tipo I, también conocida como DM insulino dependiente (DMID) o diabetes de comienzo juvenil, pueden desarrollar cetoacidosis diabética (CAD). Los pacientes con DM tipo II, también conocida como DM no insulino dependiente (DMNID), pueden desarrollar coma hiperglucémico hiperosmolar no cetósico (CHHNC). Las complicaciones microvasculares tardías son la retinopatía, la nefropatía y las neuropatías periférica y autonómica. Las complicaciones macrovasculares incluyen la arteriopatía aterosclerótica coronaria y periférica. (MERK)

DM tipo I. Aunque puede presentarse en cualquier edad, la DM tipo I aparece con mayor frecuencia en la infancia o la adolescencia y es el tipo predominante de DM que se diagnostica antes de la edad de 30 años. Este tipo de diabetes representa del 10 al 15% del total de casos de DM y se caracteriza clínicamente por hiperglucemia y tendencia a la CAD. El páncreas produce escasa o ninguna insulina. (MERK)

En la diabetes tipo I hay ausencia de insulina en la sangre y el nivel de glucagón es superior al normal, se puede decir que la persona diabética permanece en un estado de ayuno bioquímico a pesar de que abunde la glucosa sanguínea. A causa de la deficiencia de insulina se desajusta la entrada de glucosa a las células. El hígado adopta permanentemente un estado gluconeogénico y cetogénico, el relativo exceso de glucagón con respecto a la insulina conduce a que la glicólisis se inhiba y se active la gluconeogénesis. La elevada relación glucagón/insulina de la diabetes también induce la degradación del glucógeno. Por tanto en el hígado se produce una cantidad excesiva de glucosa que se libera a la sangre. Cuando la concentración de glucosa en la sangre supera la capacidad de reabsorción de los túmulos renales, la glucosa se excreta en la orina. El agua acompaña a la glucosa excretada, de modo que el diabético no tratado en la fase aguda de la enfermedad padece hambre y sed.

La deficiente utilización de los carbohidratos en ausencia de insulina origina una lisis incontrolada de grasas y proteínas. Se producen grandes cantidades de acetil-CoA por la  $\beta$  oxidación de los ácidos grasos. Sin embargo gran parte del acetil-CoA no puede entrar en el ciclo del ácido cítrico por que escasea el oxalacetato para la etapa de condensación. En los mamíferos se puede sintetizar oxalacetato a partir de piruvato, un producto de la glicolisis, pero no a partir de acetil-CoA, el cual se transforma en cuerpos cetónicos. Una característica de la diabetes es el cambio en la utilización de combustibles, de los carbohidratos a las grasas. La glucosa más abundante que nunca se rechaza. A concentraciones elevadas los cuerpos cetónicos desbordan la capacidad renal para mantener el

equilibrio ácido base. Un paciente diabético no tratado puede entrar en coma por descenso del pH sanguíneo y por deshidratación (BERG J, 2003)

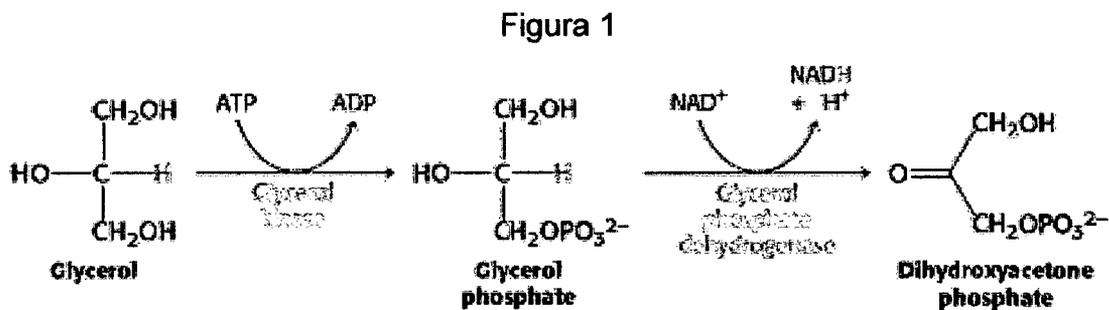
DM tipo II. Suele ser el tipo de diabetes que se diagnostica en pacientes >30 años, pero también se presenta en niños y adolescentes. Se caracteriza clínicamente por hiperglucemia y resistencia a la insulina. La CAD es rara. Aunque muchos pacientes son tratados con dieta, ejercicio y fármacos orales, algunos necesitan insulina en forma intermitente o persistente para controlar la hiperglucemia sintomática y prevenir el CHHNC. La DM tipo II se asocia comúnmente con obesidad, especialmente de la mitad superior del cuerpo (visceral/abdominal), y suele presentarse tras un período de ganancia de peso. La DM tipo II forma parte del grupo heterogéneo de trastornos en los cuales la hiperglucemia se debe a un deterioro de la respuesta secretora insulínica a la glucosa y también a una disminución de la eficacia de la insulina en el estímulo de la captación de glucosa por el músculo esquelético y en la restricción de la producción hepática de glucosa (resistencia a la insulina). En la diabetes establecida, aunque los niveles plasmáticos de insulina en ayunas pueden ser normales o incluso estar aumentados en los pacientes con DM tipo II, la secreción de insulina estimulada por la glucosa está claramente disminuida. El descenso de los niveles de insulina reduce la captación de glucosa mediada por la insulina y deja de limitar la producción de glucosa hepática. (Merk)

## **2.9 GLUCONEOGÉNESIS**

Síntesis de glucosa a partir de precursores no carbohidratados. Esta vía metabólica es importante por que el cerebro depende de la glucosa como combustible primario, y los eritrocitos utilizan glucosa como combustible único. Los requerimientos diarios de glucosa del cerebro humano en un adulto normal son del orden de 120 g, lo que supone la mayor parte de los 160g de glucosa requeridos diariamente por el organismo completo. La cantidad de glucosa presente en los líquidos corporales es de unos 20 g y la que puede obtenerse del glucógeno es de aproximadamente 190g. Así pues las reservas directas de glucosa son suficientes

para cubrir las necesidades de glucosa de un día. Durante periodos más largos de ayuno debe formarse glucosa de fuentes no carbohidratadas.

La vía gluconeogénica convierte el piruvato en glucosa. Los precursores no carbohidratados de glucosa se convierten primero en piruvato o entran a la vía a través de otros intermediarios, como el oxalacetato o la dihidroxiacetona fosfato (figura 2). Los precursores no carbohidratados más importantes son el lactato, los aminoácidos y el glicerol. El lactato se forma en el músculo esquelético activo cuando la velocidad de la glicólisis supera la velocidad del metabolismo oxidativo. El lactato se convierte rápidamente en piruvato por la acción de la lactato deshidrogenada. Los aminoácidos se derivan de las proteínas de la dieta, y durante el ayuno de la destrucción de proteínas en el músculo esquelético. La hidrólisis de los triacilgliceroles en las células adiposas libera glicerol y ácidos grasos. El glicerol es un precursor de la glucosa, pero los ácidos grasos en los animales, no pueden convertirse en glucosa. El glicerol puede entrar tanto en vía gluconeogénica como en la glicolítica a través de la dihidroxiacetona fosfato.



Fuente: BERG J, 2003

El principal órgano donde tiene lugar la gluconeogénesis es el hígado y, en menor cuantía también en el riñón. En el cerebro en el músculo esquelético y en el músculo cardíaco tiene lugar muy poca gluconeogénesis. (BERG J, 2003)

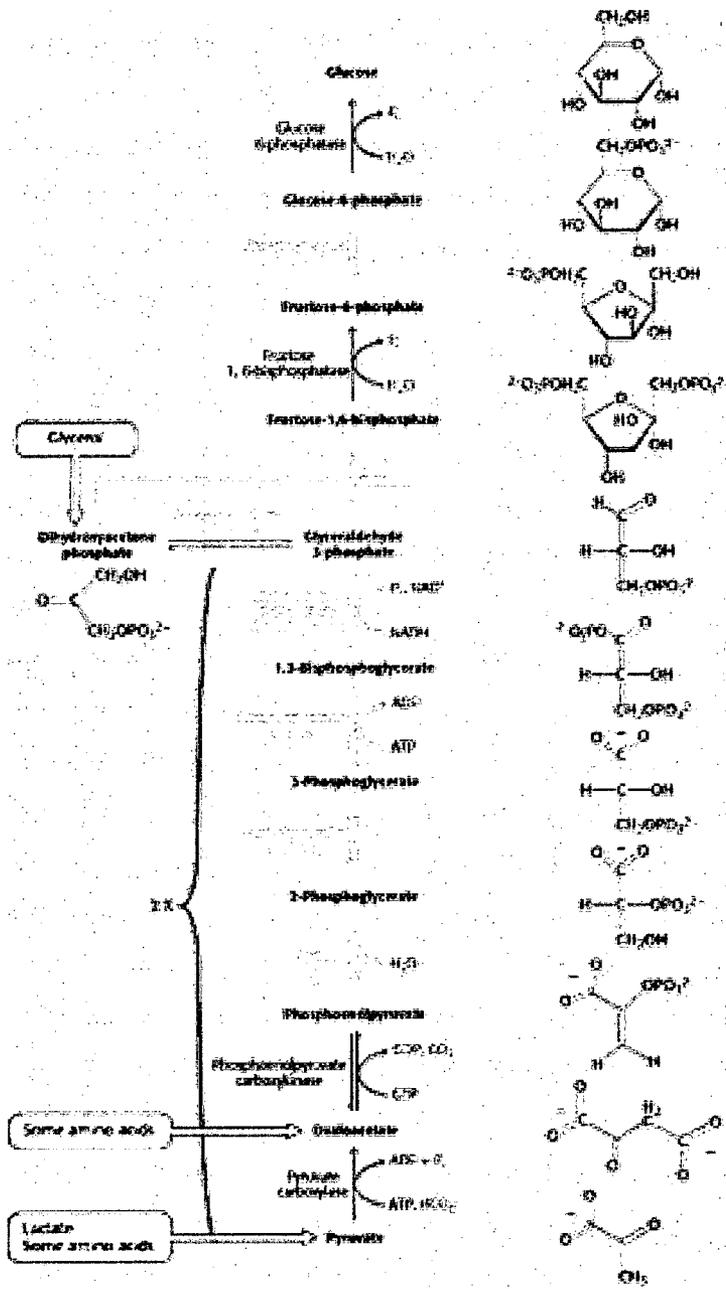


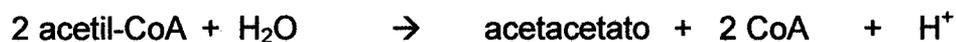
Figura 2. Gluconeogénesis las reacciones y enzimas características de esta vía se muestran en rojo. El resto de las reacciones son comunes a la glicólisis. Se muestran los puntos de entrada para el lactato, glicerol y aminoácidos (BERG J, 2003)

## 2.10 CETOGÉNESIS

El acetil-CoA formado en la oxidación de los ácidos grasos solo entra en el ciclo del ácido cítrico si la degradación de las grasas y la de los carbohidratos están adecuadamente equilibradas. Ello se debe a que la entrada del acetil-CoA en dicho ciclo depende de la asequibilidad de oxalacetato para la formación de citrato, ya que la concentración de oxalacetato está disminuida si no hay carbohidratos disponibles o si no se utilizan apropiadamente. El oxalacetato se forma normalmente a partir del piruvato, el producto final de la glicólisis, por la piruvato carboxilasa.

En la inanición o en la diabetes, el oxalacetato se consume en la formación de glucosa en la vía de la gluconeogénesis y, por consiguiente, no está disponible para condensarse con el acetil-CoA. En estas condiciones, el acetil-CoA se desvía para formar acetacetato y  $\beta$  hidroxibutirato. El acetacetato, el  $\beta$  hidroxibutirato y la acetona se llaman a menudo cuerpos cetónicos. Se pueden presentar concentraciones anormalmente altas de cuerpos cetónicos en la sangre de los enfermos diabéticos sin tratamiento.

El acetacetato se forma a partir de acetil-CoA en tres etapas (figura 3). Se condensan dos moléculas de acetil-CoA para formar acetacetil-CoA, esta reacción que cataliza la tiolasa, es la etapa inversa de la tiolisis en la oxidación de los ácidos grasos. Posteriormente, el acetacetil-CoA reacciona con acetil-CoA y con agua para dar el 3 hidroxil-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) y CoA libre. El equilibrio desfavorable en la formación de acetacetil-CoA se compensa por el equilibrio favorable de esta reacción debido a la hidrólisis de un enlace tioéster. El 3 hidroxil-3-metilglutaril-CoA se escinde entonces en acetil-CoA y acetacetato. La suma de estas reacciones es:



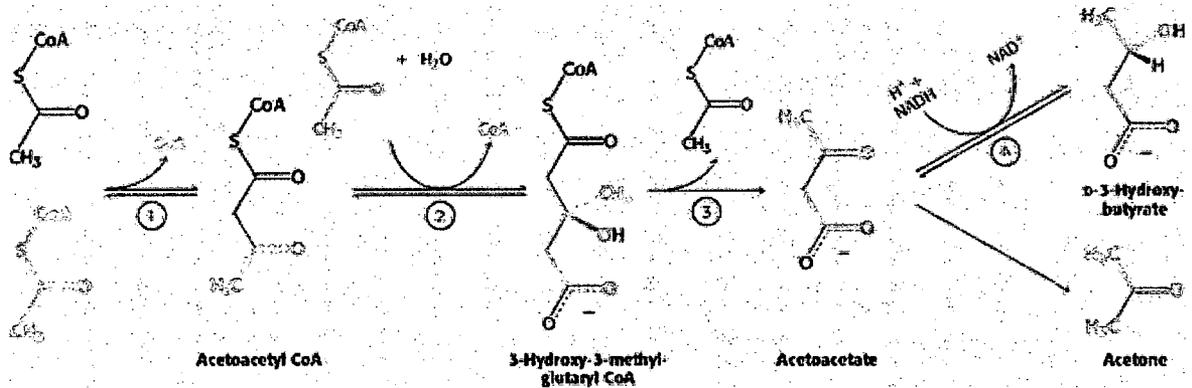


Figura 3 formación de los cuerpos cetónicos (acetacetato, β hidroxibutirato y acetona a partir de acetil-CoA) se forman principalmente en el hígado, el acetacetato se descarboxila espontáneamente para formar acetona (BERG J, 2003)

Ciertas condiciones patológicas pueden conducir a un aumento de las concentraciones sanguíneas de cuerpos cetónicos peligrosos para la vida. La más común de estas condiciones es la cetosis diabética de pacientes con diabetes mellitus insulina dependiente. La ausencia de insulina tiene dos consecuencias bioquímicas importantes. En primer lugar, el hígado no puede captar glucosa, en consecuencia no puede proporcionar oxalacetato para procesar el acetil-CoA derivado de la oxidación de los ácidos grasos. En segundo lugar, la insulina restringe la movilización de los ácidos grasos del tejido adiposo. De este modo; el hígado produce una gran cantidad de cuerpos cetónicos, que son ácidos moderadamente fuertes. El resultado es una acidosis grave (BERG J, 2003)

## 2.11 CETOACIDOSIS DIABÉTICA

Acidosis metabólica por acumulación de cuerpos cetónicos debida a niveles de insulina intensamente disminuidos.

La cetoacidosis diabética (CAD) se debe a una disponibilidad de insulina claramente deficiente, que causa una transición desde la oxidación y el metabolismo de la glucosa a la oxidación y el metabolismo de los lípidos. En los pacientes con DM tipo I, la CAD es desencadenada comúnmente por una omisión

del tratamiento insulínico o una infección aguda, un traumatismo o un infarto que hacen insuficiente el tratamiento insulínico habitual. Aunque los pacientes con DM tipo II tienen raras veces CAD, muchos de ellos pueden tener formación de cuerpos cetónicos y acidosis (habitualmente leve) causados por una disminución de la ingesta de alimento y una notable disminución de la secreción de insulina debida a la hiperglucemia intensa y crónica (toxicidad de la glucosa). Estos pacientes no suelen necesitar insulina una vez corregido el episodio metabólico agudo.

En la CAD, la hiperglucemia intensa origina diuresis osmótica, pérdidas urinarias excesivas de agua, Na y K y contracción de volumen con acidosis que conducen a un aumento de la síntesis y la liberación de cuerpos cetónicos en el hígado. Los principales cuerpos cetónicos, ácido acetoacético y ácido b-hidroxibutírico, son ácidos orgánicos fuertes; la hipercetonemia induce una acidosis metabólica y una compensación respiratoria y los intensos aumentos en la excreción urinaria de los ácidos acetoacético y b-hidroxibutírico fuerzan pérdidas adicionales de Na y K. La acetona derivada de la descarboxilación espontánea del ácido acetoacético se acumula en el plasma y es lentamente eliminada por la respiración; la acetona es un anestésico para el SNC, pero la causa del coma en la CAD se desconoce.

La cetogénesis anormal en la CAD se debe a la pérdida del efecto modulador normal de la insulina sobre los ácidos grasos libres (AGL) liberados a partir del tejido adiposo y sobre la oxidación de los AGL y la cetogénesis en el hígado. Los niveles de AGL y la captación de éstos por el hígado están considerablemente aumentados. En el hígado, la insulina regula normalmente la oxidación de los AGL y la cetogénesis mediante la inhibición indirecta del transporte de los derivados de los AGL de cadena larga a través de la membrana mitocondrial interna hacia el interior de la matriz mitocondrial. El glucagón estimula en el hígado el transporte del éster del CoA con el ácido graso de cadena larga y la oxidación y la cetogénesis en las mitocondrias, y en la CAD desaparece el efecto antagónico normal de la insulina. La proporción plasmática entre el ácido b-hidroxibutírico y el ácido acetoacético es normalmente de 3:1 y suele estar aumentada en la CAD, alcanzando a veces la proporción de 8:1. (Merk)

## **2.12 CETOACIDOSIS ALCOHÓLICA**

Cetoacidosis que va acompañada con hiperglucemia leve y ausencia de un nivel de alcoholemia elevado.

Este síndrome se atribuye a los efectos combinados de la abstinencia alcohólica y la inanición sobre la secreción endógena de insulina y sobre los estímulos que aumentan la liberación de ácidos grasos libres (AGL) y a la cetogénesis en pacientes que tienen probablemente un deterioro subyacente de la secreción de insulina. Algunos alcohólicos crónicos están predispuestos a episodios de vómitos intensos y dolor abdominal.

La historia característica es la de una borrachera que termina en vómitos y está causada por la interrupción de la ingestión de alcohol o alimentos durante más de 24 h. Durante este período de inanición los vómitos continúan y aparece dolor abdominal intenso, lo que induce al paciente a buscar asistencia médica. El grado de hiperglucemia (por ejemplo: glucosa plasmática <150 mg/dl [ $<8,33$  mmol/l]) convierte claramente en improbable una CAD. Se encuentran signos de pancreatitis en la mayoría de los pacientes y muchos presentan un deterioro de la tolerancia a la glucosa o DM tipo II tras la recuperación del episodio agudo. (Merk)

## **2.13 ADAPTACIONES METABÓLICAS AL AYUNO PROLONGADO HASTA LA INANICIÓN**

Los combustibles almacenados serían suficientes para cubrir las necesidades calóricas durante un ayuno de uno a tres meses. Sin embargo, las reservas de carbohidratos se agotan en un solo día

La primera prioridad del metabolismo en el ayuno es suministrar suficiente cantidad de glucosa al cerebro y a otros tejidos (por ejemplo glóbulos rojos) que son totalmente dependientes de este combustible. Sin embargo los precursores de la glucosa no son muy abundantes. La mayor parte de la energía esta almacenada en los ácidos grasos de los triacilgliceroles. Los ácidos grasos no pueden convertirse en glucosa por que el acetil-CoA no puede convertirse en piruvato. El glicerol de lo triacilgliceroles si puede convertirse en glucosa, pero la disponibilidad

de este compuesto es limitada. La única fuente de glucosa disponible son los aminoácidos derivados de la degradación de las proteínas. Sin embargo, las proteínas no se almacenan por lo que su degradación llevaría implícita una pérdida de funciones, así pues la segunda prioridad en el metabolismo en el ayuno es preservar las proteínas. Esto se consigue mediante el cambio de combustible utilizado de glucosa a ácidos grasos y cuerpos cetónicos.

El bajo nivel de azúcar en sangre hace decrecer la secreción de insulina e incrementa la secreción de glucagón, los procesos metabólicos dominantes son la movilización de los triacilgliceroles del tejido adiposo y la gluconeogénesis en el hígado. El hígado obtiene energía para sus propias necesidades mediante la oxidación de los ácidos grasos liberados en el tejido adiposo, en consecuencia aumentan los niveles de acetil-CoA y citrato, lo que desconecta la glicólisis. La captación de glucosa por el músculo desciende notablemente debido al bajo nivel de insulina, mientras que los ácidos grasos acceden al músculo libremente. En consecuencia también el músculo cambia de combustible y oxida ácidos grasos en lugar de glucosa. Así pues el hígado importa piruvato, lactato y alanina para su conversión en glucosa. El glicerol procedente de la degradación de triacilgliceroles es otra materia prima para la síntesis hepática de glucosa

La proteólisis también suministra esqueletos carbonados para la gluconeogénesis. Durante la inanición las proteínas que se degradan no se resintetizan y sirven como fuentes de carbono para la formación de glucosa. Sin embargo la supervivencia para la mayoría de los animales depende de que pueda moverse con rapidez, lo que requiere una gran masa muscular. Por lo tanto la pérdida de masa muscular debe reducirse al mínimo

¿Cómo se restringe la pérdida de proteína muscular?. Tras unos tres días de inanición, en el hígado se fabrican grandes cantidades de acetacetato, b hidroxibutirato, (cuerpos cetónicos). Su síntesis a partir de unidades de acetilo aumenta notablemente por que el ciclo del ácido cítrico es incapaz de oxidar todo el acetil-CoA generado por la oxidación de los ácidos grasos. La activa

gluconeogénesis depleciona el nivel de oxalacetato, molécula que es esencial para la entrada de acil-CoA al ciclo del ácido cítrico. En consecuencia el hígado fabrica gran cantidad de cuerpos cetónicos, que se liberan a la sangre. En ese momento el cerebro empieza a consumir cantidades apreciables de acetacetato en lugar de glucosa. Después de tres días de ayuno, aproximadamente un tercio de las necesidades energéticas del cerebro son satisfechas por los cuerpos cetónicos. El corazón también usa como combustible los cuerpos cetónicos. Al cabo de varias semanas de inanición los cuerpos cetónicos se convierten en el principal combustible para el cerebro. La supervivencia de una persona en inanición viene determinada por la cantidad de grasa almacenada (Berg J. 2003)

#### **2.14 INTERPRETACIÓN MÉDICO LEGAL DE LAS CIFRAS DE ALCOHOLEMIA**

La Valoración Médico Legal de las cifras de alcoholemia se hace con la más minuciosa prudencia, para cubrir las posibles diferencias individuales de sensibilidad frente al alcohol. Por otra parte, teniendo en cuenta que los métodos químicos dosifican como alcohol las sustancias reductoras volátiles presentes en la sangre, no se toman en consideración las cifras analíticas bajas que pudieran corresponder a éste origen. (Gisbert, 1991)

#### **2.15 TABLA DE ALCOHOLEMIA (DIARIO EL PERUANO)**

Cuyo valor es referencial y forma parte de la presente Ley No. 27753. Deberá ser expuesta obligatoriamente en un lugar visible donde se expendan bebidas alcohólicas. A continuación se muestra el siguiente cuadro:

**Cuadro No.2 : Tabla de alcoholemias**

|                        |   |                               |
|------------------------|---|-------------------------------|
| <b>PRIMER PERIODO</b>  | Subclínico: lo permitido 0.1 a 0.5 g/l  |                               |
|                        | <i>No existen síntomas o signos clínicos, pero las pruebas psicométricas muestran una prolongación en los tiempos de respuesta al estímulo y posibilidad de accidentes. No tiene relevancia administrativa ni penal</i> |                               |
|                        | 0.5 g./L = dos cervezas Chicas  | 0.25 g/L = Un trago de Whisky |
| <b>SEGUNDO PERIODO</b> | Ebriedad: lo sancionado   | 0.5 a 1.5 g/L                 |
| <b>TERCER PERIODO</b>  | Ebriedad absoluta   | 1.5 a 2.5 g/L                 |
| <b>CUARTO PERIODO</b>  | Alteración de la conciencia   | 2.5 a 3.5 g/L                 |
| <b>QUINTO PERIODO</b>  | Coma  | mayores a 3.5 g/L             |

Fuente: DIARIO " EL PERUANO". Ley No. 27753. Pag. 226345. Publicada 09/06/02

### **2.16 SANCIONES VIGENTES EN ALGUNOS PAÍSES EUROPEOS, SEGÚN LAS TASAS DE ALCOHOL**

Según Batres, desde la ingesta de la primera gota de alcohol, comienza una serie de modificaciones en el organismo del individuo y en su capacidad de reaccionar ante las diversas circunstancias, es decir que aunque para muchos conductores existe aún la creencia de que la "capacidad de aguante" les permite conducir bajo los efectos del alcohol, ésta es errónea y la posibilidad de provocar un accidente comienza al mismo tiempo que la ingesta de alcohol. (Batres, 2004)

**Cuadro. No 3: Sanciones por alcoholemias de 0.2 g/l**

| <b>País</b> | <b>Tasa de alcoholemia gr/litro</b> | <b>Sanciones</b>  |
|-------------|-------------------------------------|---|
| PORTUGAL    | 0,2                                 | 120€ hasta 3 años de prisión.                               |
| SUECIA      | 0,2                                 | De 1,33 a 4 meses de nómina y cárcel de seis meses a un año |

Fuente: RAÚL BATRES. Revistazo.com. Edición 25. 2004. Honduras

## 2.17 DOSIFICACIÓN DE ALCOHOL O ALCOHOLEMIA COMO ELEMENTO FUNDAMENTAL PARA TIPIFICAR LOS DELITOS DE M.E.E.( MANEJAR EN ESTADO DE EBRIEDAD)

Santiago Delgado, en el Cap. 41 del libro Sicopatología de los Conductores: Accidentes de Tráfico y sus Implicancias Legales, nos señala la Correspondencia entre efectos tóxicos y tasa de alcoholemia, que estimamos de interés insertar en este volumen. (Silva, 2000)

**Cuadro. No 4: Alcoholemias y su efecto tóxico**

| <b>ALCOHOLEMIAS<br/>(gr/%)</b> | <b>EFECTO TOXICO</b>  |
|--------------------------------|---|
| Hasta 0.1 gr/L                 | <b><i>Estado Subclínico</i></b>   |
| 0.1 – 0.5 gr/L                 | <b><i>Efectos dudoso:</i></b> se ha encontrado valores comprendidos entre estas cifras en sujetos abstemios, por lo que no pueden considerarse plenamente demostrativos de que haya habido ingestión de alcohol |

Fuente: SILVA SILVA, HERNAN. Universidad Católica de la Santísima Concepción. 2000 Chile

### MARCO CONCEPTUAL

- **Abstinencia:** Acción de abstenerse. Conjunto de síntomas producidos al cesar el consumo de determinadas drogas.
- **Abstemio:** Que no consume bebidas alcohólicas
- **Acetona:** Cuerpo cetónico líquido, incoloro, aromático y volátil, presente en cantidades pequeñas en la orina normal, y en cantidades mayores en la orina de los diabéticos
- **Alcohol:** líquido obtenido por destilación del vino y de otros licores y zumos. Cualquier bebida espirituosa. Cualquier compuesto derivado de un

hidrocarburo por sustitución de uno o varios átomos de Hidrógeno por grupos hidroxilo.

- **Alcohol etílico o etanol:** se obtiene por fermentación de líquidos azucarados y se usan en la fabricación de bebidas alcohólicas. *Alcohol metílico o metanol:* Se obtiene por destilación seca de la madera o por síntesis de monóxido de carbono, es tóxico.
- **Análisis:** Distinción y separación de las partes de un todo hasta llegar a conocer sus principios o elementos. Examen de una obra, asunto, escrito, problema, etc. **Análisis clínico:** El de sangre, orina, etc, que se hace para establecer un diagnóstico. **Análisis espectral:** El que se basa en el examen e interpretación del espectro luminoso emitido por un cuerpo, una sustancia o una radiación. **Análisis químico:** El que investiga los componentes de un compuesto. Es cualitativo si solo investiga la naturaleza de estos componentes, y cuantitativo si determina las proporciones en las que se encuentran.
- **Bebedor social:** El alcohol es parte de su proceso de socialización, pero no es esencial, y no toleran una embriaguez alteradora, esta es rara, puede ocurrir sólo durante una actividad de grupo, tal como una boda, una fiesta o el día de año viejo, momento en que se permite bebida en exceso.
- **Coefficiente de partición (reparto).** Razón de la distribución de una sustancia entre dos fases cuando el sistema está en equilibrio; la razón de concentraciones de la misma especie molecular en las dos fases es constante a temperatura constante. Los coeficientes de partición utilizados con mayor frecuencia en toxicología son las distribuciones lípido/agua y octanol/agua.
- **Cromatografía:** Método de análisis químico que permite el fraccionamiento de líquidos o gases mediante absorción selectiva.
- **Desinfección:** Quitar a una cosa la infección o la propiedad de causarla, destruyendo los gérmenes nocivos o evitando su desarrollo.
- **Dosaje:** Análisis cuantitativo de la cantidad presente en una sustancia de cierto compuesto.

- **Embriaguez:** Turbación pasajera de las facultades provocado por la ingestión excesiva de bebidas alcohólicas. Enajenamiento del ánimo.
- **Farmacocinética:** Dícese del proceso de metabolismo que sufre un fármaco desde que ingresa al organismo hasta que es eliminado de él.
- **Inhibición:** Detención o disminución del funcionamiento de un órgano. Restricción de un proceso fisiológico.
- **alcohol isopropílico:** Líquido claro, incoloro, de aroma amargo, que se mezcla con agua, éter, cloroformo y alcohol etílico.
- **Metabolismo:** Conjunto de las reacciones químicas que en los seres vivos transforman en energía y en materia propia la sustancia ingerida.
- **Oxidación:** Acción y efecto de oxidar u oxidarse. Reacción química en que aumenta el oxígeno y disminuye el hidrógeno.
- **Reducción:** adición de hidrógeno a una sustancia, eliminación del oxígeno de una sustancia, disminución de la valencia de la parte electronegativa de un compuesto, adición de uno o más electrones a una molécula o átomo de una sustancia
- **Temperatura:** Grado de calor de la atmósfera o de los cuerpos. Fiebre, calor. El control del nivel térmico se efectúan con los termómetros, que se basan en la dilatación de los cuerpos por la acción del calor. (Repetto 1993)

# ***CAPÍTULO III***

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIALES**

##### **3.1 MATERIAL HUMANO**

- Sujetos voluntarios para la investigación que cumplan con los criterios de inclusión.

##### **3.2 MATERIAL BIOLÓGICO**

- Sangre de los sujetos voluntarios para la investigación que cumplan con los criterios de inclusión.

##### **3.3 MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO**

###### **3.3.1. MATERIAL DE VIDRIOS Y OTROS**

- Micropipeta de 50uL
- Tubos para fotocolorimetría
- Probetas de 25 mL y 500mL
- Pipetas de 1 mL, 5mL y 25 mL
- Matraces aforados de 50cc
- Termómetro graduado de 0 a 100 grados centígrados
- Baño María de forma manual.
- Espectrofotómetro (Milton Roy Espectronic 20D, serie A1080)
- Frascos viales
- Tubos de ensayo vacutainer
- Frascos color caramelo de 60 y 100 mL con tapas de jébe y tapas roscas
- Papel filtro
- Alfileres
- Algodón agua destilada
- Gradillas

- Ligador
- Plumón marcador
- Baguetas
- Catéteres
- Anticoagulante, etc

### **3.3.2. SOLUCIONES PREPARADAS**

**Mezcla sulfocrómica.-** Para método Schefftel (mezcla oxidante), preparada con las siguientes soluciones:

- Ácido sulfúrico al 97.6% y densidad de 1.84 g/mL

### **REACTIVOS**

- Solución de alcohol etílico al 99.8% y densidad de 0.79 g/mL
- Solución stock de alcohol etílico 100mg de etanol por mL
- Solución estándar No 1 : (0.5mg de etanol por mL)
- Solución estándar No 2 : (1 mg de etanol por mL)
- Solución estándar No 3 : (1.5 mg de etanol por mL)
- Solución estándar No 4 : (2.0 mg de etanol por mL)
- Solución estándar No 5 : (2.5 mg de etanol por mL)
- Solución estándar No 6 : (3 mg de etanol por mL)

### **3.3.3. REPRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS**

A través de tabla de contingencia, graficas y cuadros según el caso.

### **3.3.4. CROMATÓGRAFO DE GASES CON HEAD SPACE**

- Cromatógrafo de Gases con Head Space
- Balanza Analítica
- Refrigeradora
- Baño Maria

- Cronómetros
- Termómetro digital
- Destilador de agua
- Micropipetas de 10; 20 y 50 uL

#### **3.3.4.1. REACTIVOS**

- t-butanol
- n-propanol
- Etanol absoluto
- Balón de Gas Hidrogeno
- Balón de Gas Helio
- Balón de Gas Nitrógeno
- Acetona
- Isopropanol

## **METODOLOGÍA**

### **3.4. TIPO DE ESTUDIO**

- **Según su finalidad:** La investigación es aplicada o dinámica, porque permite aplicar datos; de modo que soluciona problemas prácticos.
- **Según su profundidad:** La investigación es descriptiva porque busca especificar las propiedades importantes de personas, grupos y comunidades.
- **Según su alcance temporal:** Estudio transversal, porque se recolectó datos en un solo momento, en un tiempo único.
- **Según el carácter de medida:** Es cuantitativo, porque se fundamenta en aspectos observables y susceptibles de cuantificar.
- **Según el marco que tiene :** De laboratorio
- **Tipo de hipótesis :** Descriptiva

#### **3.4.1. DISEÑO DESCRIPTIVO.**

El presente trabajo de investigación utilizó un diseño de estudio cuasi experimental descriptivo, donde la metodología de la investigación es científica y el enfoque de investigación cuantitativo. No existió manipulación intencional ni asignación al azar de las muestras a investigar; por tratarse de una investigación cuasi experimental. Tuvo un diseño transversal descriptivo.

### **3.5. VARIABLES:**

#### **1. VARIABLES DEPENDIENTES**

- Dosaje etílico en sangre por el método analítico colorimétrico en bebedores sociales no diabéticos.
- Dosaje etílico en sangre por el método analítico de cromatografía de gases en bebedores sociales no diabéticos

- Dosaje etílico en sangre por el método analítico colorimétrico en sujetos diabéticos abstemios.
- Dosaje etílico en sangre por el método analítico de cromatografía de gases sujetos diabéticos abstemios

## **2. VARIABLES INDEPENDIENTES**

- Cantidad de alcohol consumido
- Sustancias interferentes

## **3. VARIABLES INTERVINIENTES**

- Edad
- Índice de masa corporal
- Consumo de alcohol

### **3.5.1. VARIABLES DEPENDIENTES**

#### **3.5.1.1. DOSAJE ETÍLICO EN SANGRE POR EL MÉTODO ANALÍTICO COLORIMÉTRICO EN BEBEDORES SOCIALES NO DIABÉTICOS.**

- **Definición Conceptual:** Examen o prueba de laboratorio que determina el nivel de alcohol etílico en sangre, mediante el uso del método, basado en la acción reductora del etanol realizada en sujetos calificados como bebedores sociales
- **Definición Operacional:** Esta variable se determina mediante técnicas laboratoriales. Usando el método de Schefftel modificado y posterior lectura a través de un espectrofotómetro a 420 nm.
- **Naturaleza de la Variable:** Cuanitativa
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** Ordinal

- **Instrumento:** Espectrofotómetro. Se tomará, las muestras de sangre y se cuantificará usando el método de de Schefftel modificado.
- **Expresión Final:** Gramos /litro (g/L)
  - Subclínico : menores a 0.1 g/L de etanol según Hernan Silva.
  - Efecto dudoso: de 0.1 a 0.5 g/L de etanol, según Hernan Silva.

### **3.5.1.2. DOSAJE ETÍLICO EN SANGRE POR EL MÉTODO ANALÍTICO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES EN BEBEDORES SOCIALES NO DIABÉTICOS**

- **Definición Conceptual:** determinación del nivel de alcohol etílico en sangre, por medio de un método específico capaz de identificar al etanol como tal sustancia química (Gisbert, 1991) realizada en sujetos calificados como bebedores sociales
- **Definición Operacional:** Esta variable se determina mediante la cromatografía de gases es un método físico de separación en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte para luego ser determinada por el detector
- **Naturaleza de la Variable:** Cuantitativa
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** Ordinal
- **Instrumento:** Cromatógrafo de Gases con Head Space
- **Expresión Final:** Gramos /litro (g/L)
  - Subclínico : menores a 0.1 g/l de etanol según Hernan Silva.
  - Efecto dudoso: de 0.1 a 0.5 g/L de etanol, según Hernan Silva.

### 3.5.1.3. DOSAJE ETILICO EN SANGRE POR EL MÉTODO ANALÍTICO COLORIMÉTRICO EN SUJETOS DIABÉTICOS ABSTEMIOS.

- **Definición Conceptual:** : Examen o prueba de laboratorio que determina el nivel de alcohol etílico en sangre, mediante el uso del método, basado en la acción reductora del etanol realizada en individuos diagnosticados con diabetes mellitus y que son abstemios.
- **Definición Operacional:** Esta variable se determina mediante técnicas laboratoriales. Usando el método de Schefftel modificado y posterior lectura a través de un espectrofotómetro a 420 nm.
- **Naturaleza de la Variable:** Cuantitativa
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** Ordinal
- **Instrumento:** Espectrofotómetro. Se tomara las muestras de sangre y se cuantificara usando el método de de Schefftel modificado.
- **Expresión Final:** Gramos /litro (g/L)
  - Subclínico : menores a 0.1 g/L de etanol según Hernan Silva.
  - Efecto dudoso: de 0.1 a 0.5 g/L de etanol, según Hernan Silva.

### 3.5.1.4. DOSAJE ETILICO EN SANGRE POR EL MÉTODO ANALÍTICO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES SUJETOS DIABÉTICOS ABSTEMIOS

- **Definición Conceptual:** determinación del nivel de alcohol etílico en sangre, por medio de un método específico capaz de identificar al etanol como tal sustancia química (Gisbert, 1991) realizado en individuos diagnosticados con diabetes mellitus y que son abstemios
- **Definición Operacional:** Esta variable se determina mediante la cromatografía de gases es un método físico de separación en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte para luego ser determinada por el detector

- **Naturaleza de la Variable:** Cuantitativa
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** Ordinal
- **Instrumento:** Cromatógrafo de Gases con Head Space
- **Expresión Final:** Gramos /litro (g/L)
  - Subclínico : menores a 0.1 g/l de etanol según Hernan Silva.
  - Efecto dudoso: de 0.1 a 0.5 g/L de etanol, según Hernan Silva.

### 3.5.2. VARIABLES INDEPENDIENTES

#### 3.5.2.1. CANTIDAD DE ALCOHOL CONSUMIDO

- **Definición conceptual:** Es la cantidad en gramos de etanol contenida en una determinada cantidad de bebida alcohólica que será consumida por un persona
- **Definición operacional:** Se realizará a través del cálculo de la cantidad de etanol presente en una determinada cantidad de bebida mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Gr. alcohol} = \frac{G \times D \times V}{100}$$

Donde:

D: Densidad del alcohol a 20° C<sup>a</sup> = 0,8 g/cc

V: Volumen de bebida alcohólica expresado en cc

G: Grado alcohólico = 1 mililitro (ml) o centímetro cúbico (cc) de alcohol en 100 cc de bebida alcohólica (vino, cerveza, destilados, etc.) a 20°.

- **Naturaleza de la variable:** Cuantitativa
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** nominal
- **Instrumento:** Ficha de encuesta
- **Expresión final:** gramos (g)

### 3.5.2.2. SUSTANCIAS INTERFERENTES (ACETONA E ISOPROPANOL)

- **Definición conceptual:** son aquellas que se encuentran en la sangre y que debido a su volatilidad y poder reductor pueden alterar los resultados del dosaje etílico
- **Definición operacional:** Para determinar la cantidad de sustancias reductoras interferentes se utilizará el método colorimétrico así como el de cromatografía en gases.
- **Naturaleza de la variable:** cuantitativa
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** Nominal
- **Instrumento:** Espectrofotómetro, cromatógrafo de gases
- **Expresión final:** gramos por litro (g/L)

### 3.5.3. VARIABLES INTERVINIENTES

#### 3.5.3.1. EDAD

- **Definición Conceptual:** Tiempo transcurrido en años, desde el nacimiento hasta la extracción sanguínea para el examen de etanolemia
- **Definición Operacional:** Se determina haciendo interrogaciones a la persona.
- **Naturaleza de la Variable:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Numeral
- **Instrumento:** En forma interrogativa, preguntas y cuestionario
- **Expresión Final:** En Años:
  - 18 - 29 años
  - 30 - 41 años
  - 42 - 53 años
  - 54 - 65 años

### 3.5.3.2. ÍNDICE DE MASA CORPORAL

- **Definición Conceptual:** Medida de relación entre el peso corporal y la talla. Método de referencia como parámetro de obesidad.
- **Definición Operacional:** Se realiza a través de la medición de peso y talla y la obtención de la siguiente fórmula mediante el índice de Quetelet:

$$\text{IMC} = P/T^2$$

Donde:

P : Peso expresado en Kilogramos

T : Talla expresado en centímetros

- **Naturaleza de la Variable:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Ordinal
- **Instrumento:** Balanza, tallímetro calibrado.
- **Expresión Final:** Kg, gr

|           |                             |
|-----------|-----------------------------|
| Bajo      | : < 18 Kg/m <sup>2</sup>    |
| Normal    | : 18 - 25 Kg/m <sup>2</sup> |
| Sobrepeso | : 25 - 30 Kg/m <sup>2</sup> |
| Obesidad  | : > 30 Kg/m <sup>2</sup>    |

### 3.5.3.3. CONSUMO DE ALCOHOL BEBEDOR SOCIAL

**Definición Conceptual:** Se considera como bebedor social aquella persona en el que el alcohol es parte de su proceso de socialización, pero no es esencial, y no toleran una embriaguez alteradora, esta es rara, puede ocurrir sólo durante una actividad de grupo, tal como una boda, una fiesta o el día de año viejo, momento en que se permite bebida en exceso.

Los que la consumen en forma "realmente" social, basados en la cantidad y frecuencia de consumo, son aquellos en la que los preparados alcohólicos ingeridos no aportan más del 20 % del total de calorías de la dieta del consumidor, lo que implica no sobrepasar el cuarto de botella de bebidas fuertes al 40 % ( dos vasos de 100 ml aproximadamente de alcohol, o su equivalente, una botella de vino al 10 % (7.5 vasos de 100 ml aproximadamente) o 5 latas de cerveza al 5 %

(17 vasos de 100 ml aproximadamente), no más de tres veces en la semana. También se "aceptaba" hasta un estado de embriaguez ligera mensualmente. (Gonzales 2010)

**Definición Operacional:** Esta variable se determinará mediante el uso de la ficha de recolección de datos

**Naturaleza de la Variable:** Cualitativa

**Medición:** Indirecta

**Escala:** Nominal

**Instrumento:** Ficha de Evaluación

**Expresión Final:** Vaso (100mL) por día, semana

Frecuencia de consumo

- Diario
- Dos a tres veces por semana
- Semana
- Ocasional

Volumen de bebida alcohólica consumida:

- 1 vaso (100mL)
- 2 vasos (200mL)
- 3 vasos (300mL)
- 4 vasos (400mL)
- 5 vasos (500mL)
- 6 vasos (600mL)
- 7 vasos (700mL)
- 7 ó mas vasos (>700mL)

### 3.6. POBLACIÓN Y MUESTRA DE ESTUDIO PARA BEBEDORES SOCIALES

#### DETERMINACIÓN DEL UNIVERSO

En el Servicio de Dosaje etílico de la Sanidad PNP Santa Rosa del Cusco, se registra un promedio mensual aproximado de 500 personas que solicitan dosaje etílico; pero como el estudio será de un año, por consiguiente a este tiempo le corresponde un tamaño poblacional de 6000 conformada por las personas entre peatones y conductores

#### TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para calcular el tamaño de la muestra, con un nivel de significancia de 0.5, que da un valor de 1.96 a "Z", 0.97 es la proporción de la Población considerada como "Bebedor Social" Se utilizara la siguiente formula:

$$n = \frac{N \left( Z_1 - \frac{\alpha}{2} \right)^2 P(1-P)}{E^2(N-1) + \left( Z_1 - \frac{\alpha}{2} \right)^2 P(1-P)}$$

**Donde:**

|                     |   |
|---------------------|---|
| <b>N</b>            | = Tamaño poblacional = 6000<br>En La Unidad de Dosaje etílico de PNP-Cusco se tiene un promedio mensual de 500 casos aproximadamente; pero como el estudio será de un año, por consiguiente el tiempo le corresponde un tamaño poblacional de 6000. |
| <b>n</b>            | ≡ Tamaño de muestra   |
| <b>E</b>            | = Error = 5%  |
| <b>1- P</b>         | = Nivel de confianza = 0.03   |
| <b>z1 -alfa / 2</b> | = Valor de la tabla normal =1,96  |
| <b>P</b>            | = 0,97<br>Proporción de la Población considerada como "Bebedor Social"  |

Remplazando valores:

$$n = \frac{(6000)(1,96)^2(0,97)(0,03)}{(0,05)^2(6000 - 1) + (1,96)^2(0,97)(0,03)} = 44,39$$

### 3.6.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Personas de 18 años a 65 años de edad.
- Personas lúcidas localizadas en tiempo y espacio.
- Personas calificadas como bebedores sociales no diabéticos
- Personas que firmen el consentimiento de participación voluntaria en el presente estudio.
- Sexo: ambos.
- Personas nacidas y residentes del Cusco.

### 3.6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Personas menores de 18 años y mayores de 65 años de edad.
- Personas no lucidas y que no estén localizados en tiempo y espacio.
- Personas que no acepten participar en el estudio.
- Personas que no firmen el consentimiento de participación voluntaria en el presente estudio.
- Personas no nacidas ni residentes del Cusco.

### 3.7. POBLACIÓN Y MUESTRA DE ESTUDIO PARA DIABÉTICOS ABSTÉMICOS

#### DETERMINACIÓN DEL UNIVERSO

Esta constituida por los pacientes con diagnósticos de Diabetes Mellitus que es de 700 pacientes de diferentes edades entre diabéticos de tipo I y tipo II, que pertenecen a la jurisdicción del Hospital Nacional Sur Este de ESSALUD

#### TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se calculó a través de la formula siguiente:

$$n = \frac{N \left( Z_1 - \frac{\alpha}{2} \right)^2 P(1-P)}{E^2(N-1) + \left( Z_1 - \frac{\alpha}{2} \right)^2 P(1-P)}$$

Donde:

|                     |   |                                 |
|---------------------|---|---------------------------------|
| <b>N</b>            | = | Tamaño poblacional = 700        |
| <b>n</b>            | = | Tamaño de muestra               |
| <b>E</b>            | = | Error = 5%                      |
| <b>1- P</b>         | = | Nivel de confianza = 0.03       |
| <b>z1 -alfa / 2</b> | = | Valor de la tabla normal = 1,96 |
| <b>P</b>            | = | 0,97 probabilidad de éxito      |

Remplazando valores:

$$n = \frac{(700)(1,96)^2(0,97)(0,03)}{(0,05)^2(700-1) + (1,96)^2(0,97)(0,03)} = 42.08$$

### **3.7.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Personas de 18 años a 65 años de edad.
- Personas lúcidas localizadas en tiempo y espacio.
- Personas diagnosticadas con diabetes mellitus tipo I y tipo II y que sean abstemios.
- Personas que firmen el consentimiento de participación voluntaria en el presente estudio.
- Sexo: ambos.
- Personas nacidas y residentes del Cusco.

### **3.7.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

- Personas menores de 18 años y mayores de 65 años de edad.
- Personas no lúcidas y que no estén localizados en tiempo y espacio.
- Personas que no acepten participar en el estudio.
- Personas que no firmen el consentimiento de participación voluntaria en el presente estudio.
- Personas no nacidas ni residentes del Cusco.

## **3.8. TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **INSTRUMENTO**

- Se utilizaron fichas de investigación
  - Formulario de consentimiento para su participación voluntaria. ANEXO (1)
  - Ficha de investigación para datos generales y variables de estudio ANEXO (2)
- Extracción de sangre venosa. ANEXO(5)

- Para la cuantificación de las muestras se utilizó el espectrofotómetro, para el método analítico colorimétrico, y el cromatografo de gases. ANEXO(6)

### **TECNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

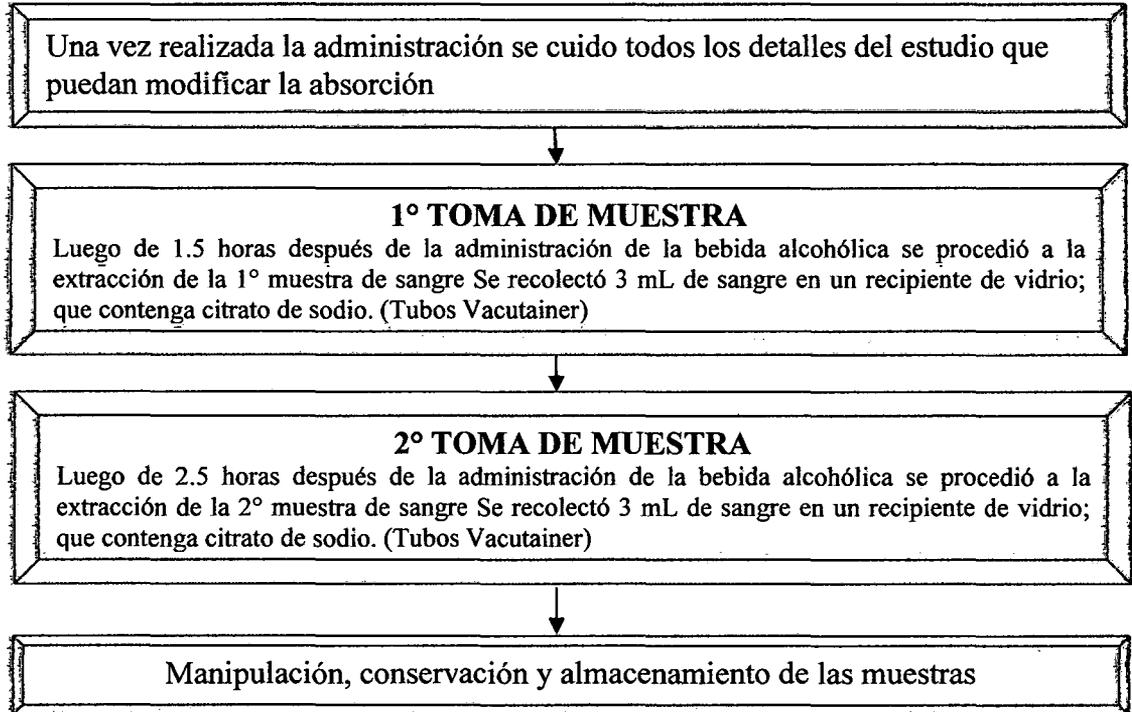
- La captación de sujetos de estudio en el presente trabajo de investigación se realizó mediante charlas informativas sobre métodos para la determinación de dosaje etílico. Se dio conocer el trabajo de investigación y se consiguió en consentimiento de las personas voluntarias para participar en el estudio, durante este proceso todas las personas fueron informados del objetivo del estudio.
- Se realizó una explicación oral y se resolvieron todas las inquietudes que tuvieron los sujetos de estudio.
- Previamente a la prueba se recomendó a los sujetos no ingerir alimentos o bebidas 12 h antes de iniciar las pruebas.
- Para la obtención de datos personales se utilizó la técnica de entrevista y como instrumento una ficha estructurada, así se obtuvo: tipo de alcohol que consume, frecuencia de consumo de bebidas alcohólicas, hábito de fumar, consumo de medicamentos, edad, talla, peso, etc (Anexos)

### **INGESTA DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA (sólo en el grupo de bebedores sociales)**

- Se preparó y se administró la bebida alcohólica en una dosis de 1.1g/Kg. vía oral en forma de Vodka ANEXO (4)
- Se estandarizó la ingesta de líquidos puesto que esto modifica en tránsito gastrointestinal
- Se tomó la muestra biológica (sangre).

### **TOMA DE LA MUESTRA BIOLÓGICA (SANGRE)**

- Para la toma de muestra se utilizó como técnica la venopunción. Para la recolección de la sangre previamente se realizó la desinfección de la piel. Para esto se utilizó algodón impregnado con agua oxigenada o clorhexidina. No se utilizó alcohol porque puede alterar los resultados.



### **TÉCNICA PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS DE ALCOHOLEMIA**

- Para la obtención de los datos se utilizaron como instrumentos el Espectrofotómetro y el cromatógrafo de gases, así como la ficha de recolección del ANEXO (5); como técnica se usó la observación laboratorial

### **3.9. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE LA INFORMACION**

Previo al análisis y procesamiento de la información obtenida se efectuó la revisión de los datos contenidos en el instrumento, así también, se pasó al vaciado de la información **SOFTWARE SPSS 11** para los análisis respectivos.

Para el trabajo de investigación se determinó un análisis exploratorio para las variables implicadas; así mismo se procedió a determinar el coeficiente de correlación entre las variables en estudio.

El análisis y las pruebas estadísticas utilizadas tienen un 95 % de confiabilidad y un error del 5 % de parámetros estandarizados para este tipo de estudio.

### **MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ETANOL EN SANGRE POR COLORIMETRÍA (SCHEFFTEL MODIFICADO)**

**PROCEDIMIENTO.-** Se colocó exactamente 1.0 mL de la mezcla sulfocrómica en un frasco de 60 mL usando una pipeta graduada, seguidamente se colocó exactamente 0.2 mL de sangre en la tira doblada de papel filtro, adherida al tapón de jebes con un alfiler, finalmente se colocó herméticamente en el frasco que contiene la solución de dicromato de potasio, cuidando que la tira de papel filtro no toque las paredes del frasco ni el reactivo, luego se colocaron las tapas tipo rosca y se llevaron los frascos a baño María a ebullición por 10 minutos, se enfrió y se completó el contenido a 25 mL con agua destilada, se lee a 420 nm. Siempre comparando con el blanco de reactivos.

### **PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN**

La curva de calibración se preparó por triplicado, para cada concentración de la solución estándar:

- En 18 frascos color caramelo de 60 mL de capacidad correlativamente enumerados se colocará 1 mL de la mezcla sulfocrómica.
- Luego en 18 tiras de papel filtro doblada y que se encontraron adheridas al tapón de jebes mediante un alfiler y que corresponde a su respectivo frasco se colocó: A los tres primeros frascos 0.2 ml de la solución estándar al 1.0mg/ml y así sucesivamente se colocará en forma correlativa en cada tres

tiras de papel filtro dobladas 0.2ml de las soluciones estándar de concentraciones 1.5; 2.0; 2.5; 3.0 mg/ml respectivamente.

- Luego se colocó cada tapón de jebe a su respectivo frasco color caramelo en forma hermética y tratando de que el papel filtro no toque las paredes del frasco ni el reactivo.
- En seguida se colocó las tapas tipo rosca y se llevarán a baño María a ebullición por 10 minutos, se dejó enfriar.
- Después cada uno de los 18 frascos se aforó 25 ml con agua destilada, y se homogenizó correctamente.
- Luego se procedió a su lectura en el espectrofotómetro a 420 nm. Estas se realizaron en comparación con el blanco reactivo.

### **PREPARACIÓN DEL BLANCO REACTIVO**

- El procedimiento fue exactamente el mismo que para las soluciones anteriores, sólo que en vez de colocar 0.2 mL de la solución estándar de trabajo, se colocaron 0.2 mL de agua destilada en las tiras de papel filtro y también en el frasco de color caramelo de 60 ml de capacidad.
- Se colocó en forma similar 1.0 mL de la mezcla sulfocrómica se tapó correctamente y se llevará a baño María por 10 minutos.
- Luego se dejó enfriar y se añadió 25 mL de agua destilada, se procedió a homogenizar y realizar la respectiva lectura.

### **PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN**

Para realizar la curva de calibración fue necesario previamente determinar las absorvancias netas correspondientes a cada concentración de solución estándar como se trabajó por triplicado, se graficó la absorvancia neta promedio correspondiente a cada concentración de solución estándar y se colocó en el eje de las ordenadas versus la concentración de cada solución estándar en las abscisas.

La absorbancia neta de la muestra problema se determina de la siguiente manera:

**FÓRMULA 1:** 
$$\text{Absorbancia neta} = \text{lectura blanco} - \text{lectura muestra}$$

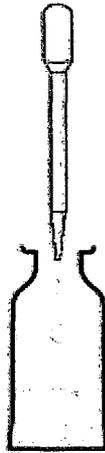
### **DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO**

El cálculo de las concentraciones de alcohol etílico en la sangre se determinará mediante un factor (F). El factor se determina en el momento de hacer la curva de calibración con las absorbancias promedio netas obtenidas mediante la fórmula 2 y las concentraciones de las soluciones estándar

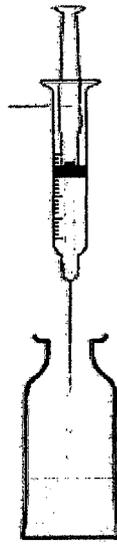
**FÓRMULA 2:** 
$$F = \frac{\text{Concentración de la Solución estándar en mg/dl}}{\text{Absorbancias netas de las soluciones estándar}}$$

### **METODO DE DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE ETANOL EN SANGRE POR CROMATOGRAFIA DE GASES – HEAD SPACE**

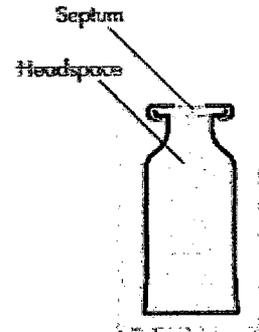
Aproximadamente 1-5  $\mu\text{L}$  de muestra de sangre entera es diluido y vaporizado en un caudal de nitrógeno, como un gas transportador (la fase móvil), que fluye a través de una columna de metal o vidrio teniendo las dimensiones 2 m de largo por 0.3 mm de diámetro interior la que contiene la fase estacionaria líquida como una película delgada sobre un material sólido inerte para proveer un área de la superficie grande. Los componentes volátiles de la mezcla se distribuyen entre la fase móvil (el del gas transportador) y la fase líquida a merced de sus propiedades fisicoquímicas como el punto de ebullición, los grupos funcionales presentes, y la solubilidad relativa que en el líquido ponen.



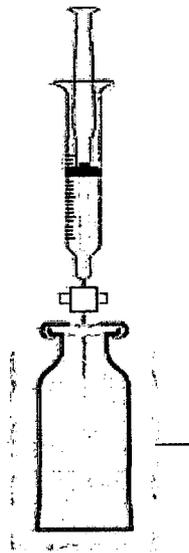
**Adicionar una volumen conocido de de muestra sanguínea en un vial de cromatografía.**



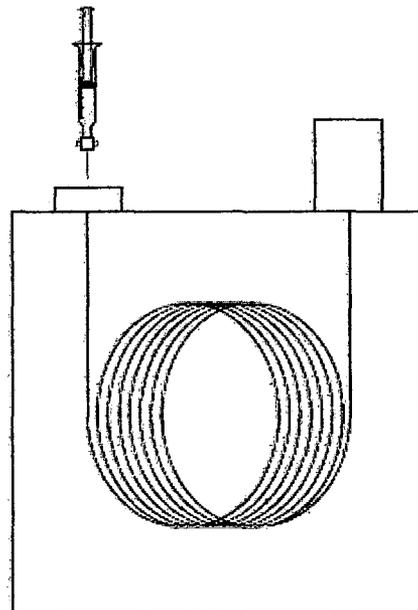
**Adicionar una volumen conocido de de estándar interno.**



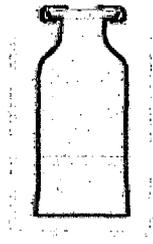
**Sellar herméticamente el vial con el estándar interno y la muestra y llevar a un equilibrio para tomar una la muestra volátil**



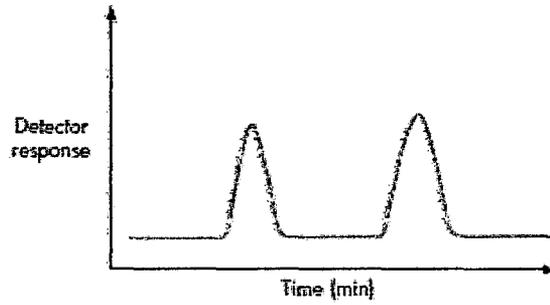
**Se toma la muestra con el muestreador espacio cabeza**



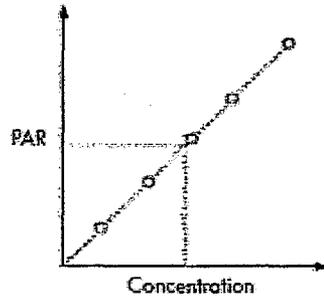
**La muestra se lleva y se inyecta en la columna cromatográfica**



Se prepara muestras con cantidades conocidas de etanol para hacer la curva de calibración con los estándares



Se examina los estándares en el cromatograma, realizándose un calculo del área para determinar los porcentajes de etanol presentes



Se realiza el ploteo de datos para el cálculo de las concentraciones en las muestras de sangre y los estándares.

|                               |
|-------------------------------|
| Sample results for D/1050267  |
| Replicate A = 0.0825 g/100 ml |
| Replicate B = 0.0831 g/100 ml |
| Mean = 0.0828 g/100 ml        |
| Signed .....                  |
| Date .....                    |

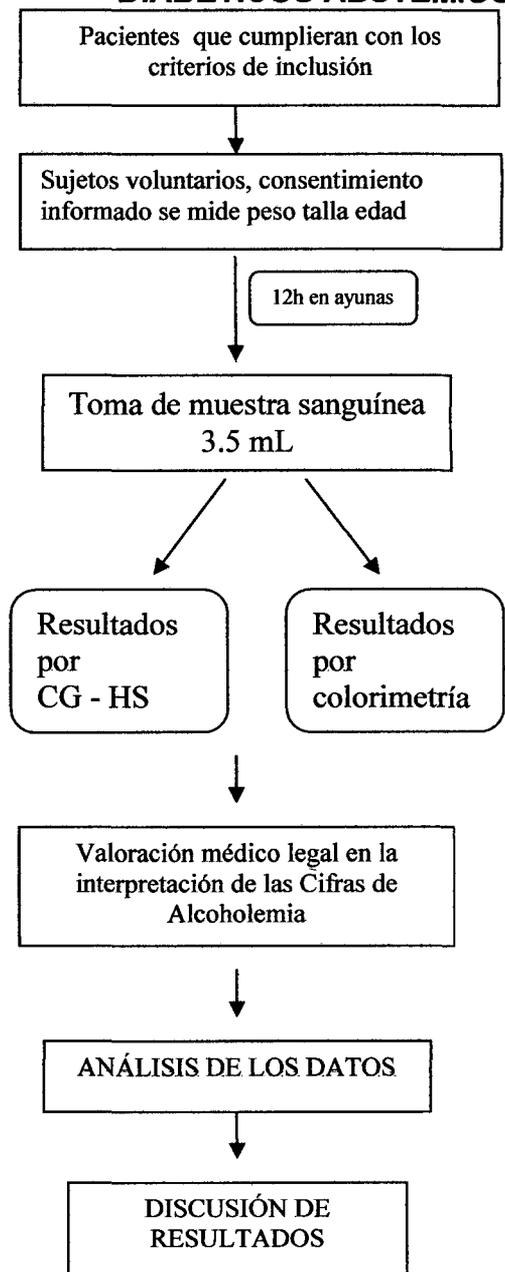
Se realiza por lo menos dos veces el dosaje para obtener un promedio de la muestra analizada

## FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO

### BEBEDORES SOCIALES



### DIABÉTICOS ABSTEMIOS



# ***CAPÍTULO IV***

## CAPÍTULO IV

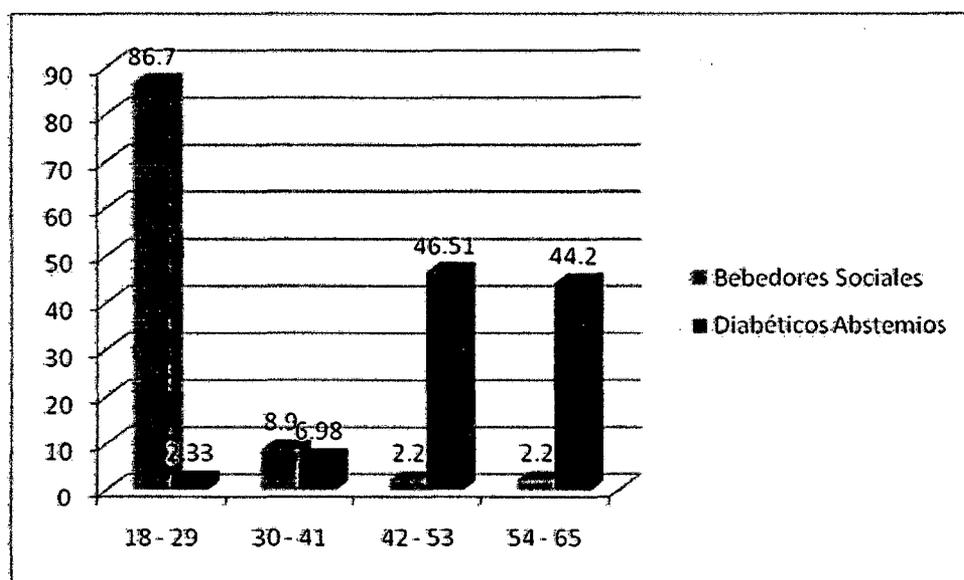
### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

#### 4.1. ASPECTOS GENERALES DE LAS POBLACIONES EN ESTUDIO.

**CUADRO 4.1.1  
DISTRIBUCIÓN DE LAS PESONAS SEGÚN GRUPO ETAREO**

| Tipo de población           | EDAD (años) |      |        |      |        |       |        |      | Total |     |
|-----------------------------|-------------|------|--------|------|--------|-------|--------|------|-------|-----|
|                             | 18 -29      |      | 30 -41 |      | 42 -53 |       | 54 -65 |      |       |     |
|                             | N           | %    | N      | %    | N      | %     | N      | %    | N     | %   |
| <b>Bebedores sociales</b>   | 39          | 86.7 | 4      | 8.9  | 1      | 2.2   | 1      | 2.2  | 45    | 100 |
| <b>Diabéticos Abstemios</b> | 1           | 2.33 | 3      | 6.98 | 20     | 46.51 | 19     | 44.2 | 43    | 100 |

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Ficha de recolección de datos

**GRÁFICO 4.1.1: Distribución de las personas según grupo etáreo**

## **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN**

En el cuadro No.4.1.1 y la gráfica No.4.1.1 podemos apreciar la distribución de las personas en estudio de acuerdo al grupo etareo observándose en el grupo de los bebedores Sociales mayor porcentaje de personas en el intervalo de edades comprendido entre 18 a 29 años (86.7 %) y menor porcentaje de la personas comprendidas entre 42 – 53 y 54 – 65 años (2.2% cada uno)

El mayor consumo de alcohol se da entre los 19 y los 45 años, siendo el grupo de 26 a 35 años el que registra la prevalencia más altas de consumo de bebidas alcohólicas según la III Encuestas Nacional sobre Prevención y Consumo de Drogas, 2006 - DEVIDA

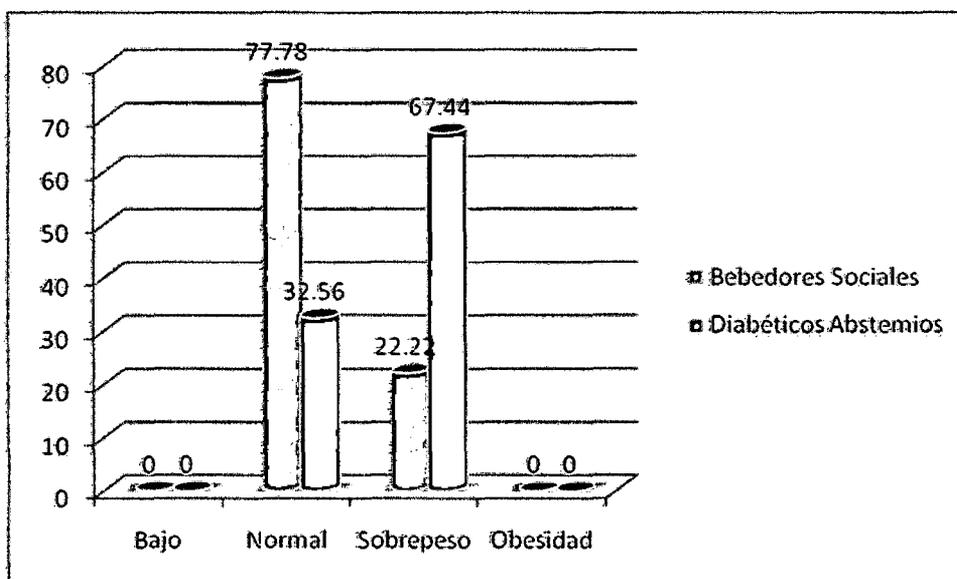
Así mismo podemos apreciar la distribución de acuerdo al grupo etareo de los diabéticos abstemios en la que se observa que el mayor porcentaje de personas se encuentra en el intervalo comprendido entre 42- 53 años (46.51%) y el menor porcentaje de personas está comprendido entre 18 – 29 años (2.33%)

La diabetes tipo II suele ser el tipo de diabetes que se diagnostica en pacientes > a 30 años pero también se presenta en niños y adolescentes, la diabetes tipo I aunque puede presentarse en cualquier edad aparece con mayor frecuencia en la infancia o la adolescencia y es el tipo predominante de diabetes que se diagnostica antes de la edad de 30 años, este tipo de diabetes representa solo el 10 al 15% del total de casos de diabetes mellitus

**CUADRO 4.1.2**  
**DISTRIBUCIÓN DE PERSONAS SEGÚN EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL**

| Tipo de población           | ÍNDICE DE MASA CORPORAL |   |        |       |           |       |          |   | Total |     |
|-----------------------------|-------------------------|---|--------|-------|-----------|-------|----------|---|-------|-----|
|                             | BAJO                    |   | NORMAL |       | SOBREPESO |       | OBESIDAD |   |       |     |
|                             | N                       | % | N      | %     | N         | %     | N        | % | N     | %   |
| <b>Bebedores sociales</b>   | 0                       | 0 | 35     | 77.78 | 10        | 22.22 | 0        | 0 | 45    | 100 |
| <b>Diabéticos Abstemios</b> | 0                       | 0 | 14     | 32.56 | 29        | 67.44 | 0        | 0 | 43    | 100 |

Fuente: Ficha de recolección de datos



**GRÁFICO 4.1.2: Distribución de personas según el índice de masa corporal**

### **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN**

En el cuadro No.4.1.2 y la gráfica No.4.1.2 podemos apreciar la distribución de las personas en estudio de acuerdo al grupo índice de Masa Corporal observándose en el grupo de los bebedores Sociales mayor porcentaje de personas con índice de Masa corporal normal (77.78 %) seguido de Sobrepeso (22.2%) y por último la obesidad y el IMC bajo en los cuales no existe ninguna representatividad (dietas bajas en carbohidratos en obesos)

Así mismo se observa que el mayor porcentaje de personas diabéticas abstemias son las que tienen Sobrepeso (67.44%), luego están las personas con índice de Masa Corporal Normal (32.56%) y obesidad y bajo tampoco tienen representatividad en los diabéticos abstemios. La diabetes mellitus tipo II se asocia comúnmente con obesidad, especialmente de la mitad superior del cuerpo (viceral/abdominal) y suele presentarse tras un periodo de ganancia de peso, razón por la cual el mayor porcentaje de la población de diabéticos se encuentra en el grupo de sobrepeso.

El alcohol interviene en el metabolismo lipídico debido a que el exceso de NADH inhibe la oxidación de ácidos grasos. El objetivo de la oxidación de los ácidos grasos es obtener NADH para que este proporcione ATP mediante la fosforilación oxidativa, pero en un consumidor de alcohol las necesidades de NADH se satisfacen al metabolizar etanol. De hecho el exceso de NADH actúa como señal de que las condiciones celulares son las adecuadas para sintetizar ácidos grasos. De este modo se acumula triacilglicerol en el hígado, lo que origina una situación conocida como "hígado graso" (Berg J, 2003)

La acción del etanol sobre el metabolismo de los lípidos se efectúa en diferentes vías y depende de que se trate de intoxicaciones agudas o crónicas en resumen: Aumento de la síntesis de los ácidos grasos libres, aumento de la síntesis de triglicéridos debido a que se favorece la síntesis de glicerol, precursor de los triglicéridos

Disminución de la oxidación de los ácidos grasos libres, que no solo no se oxidan sino forman ácidos grasos de cadena larga. El mal catabolismo de los ácidos grasos es el responsable de la cetonemia y de la cetonuria de los alcohólicos

El resultado final es un depósito de grasas en los tejidos, principalmente en hígado y en corazón, lo que a la larga se traducirá en una degeneración grasa. La disminución de las oxidaciones y el aumento de las síntesis de los triglicéridos, ambos procesos ligados a los descensos del NAD, serían las causas principales de esa degeneración grasa, estas alteraciones metabólicas explican la asociación del alcoholismo con el sobrepeso

**4.2.1. RESULTADOS DE LA OBTENCION DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE LA 1º MUESTRA TOMADA A LA 1.5 HORAS DESPUÉS DE LA INGESTA DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA**

| <b>COD.</b> | <b>CG-HS</b> | <b>Colorimétrico</b> |
|-------------|--------------|----------------------|
| 1           | 1,22         | 1,21                 |
| 2           | 1,37         | 1,22                 |
| 3           | 1,38         | 1,71                 |
| 4           | 1,42         | 1,38                 |
| 5           | 1,27         | 1,12                 |
| 6           | 1,24         | 1,23                 |
| 7           | 1,30         | 1,15                 |
| 8           | 1,05         | 1,38                 |
| 9           | 1,26         | 1,22                 |
| 10          | 1,22         | 1,07                 |
| 11          | 1,35         | 1,34                 |
| 12          | 1,22         | 1,07                 |
| 13          | 1,56         | 1,89                 |
| 14          | 1,23         | 1,19                 |
| 15          | 1,19         | 1,04                 |
| 16          | 1,35         | 1,34                 |
| 17          | 1,20         | 1,05                 |
| 18          | 1,27         | 1,60                 |
| 19          | 1,29         | 1,25                 |
| 20          | 1,38         | 1,23                 |
| 21          | 1,34         | 1,33                 |
| 22          | 1,37         | 1,22                 |
| 23          | 1,32         | 1,65                 |
| 24          | 1,38         | 1,34                 |
| 25          | 1,26         | 1,11                 |
| 26          | 1,43         | 1,42                 |
| 27          | 1,21         | 1,06                 |
| 28          | 1,37         | 1,70                 |
| 29          | 1,41         | 1,37                 |
| 30          | 1,31         | 1,16                 |
| 31          | 1,32         | 1,31                 |
| 32          | 1,29         | 1,14                 |
| 33          | 1,16         | 1,49                 |
| 34          | 1,25         | 1,21                 |
| 35          | 1,40         | 1,25                 |
| 36          | 1,25         | 1,24                 |
| 37          | 1,27         | 1,12                 |
| 38          | 1,31         | 1,64                 |
| 39          | 1,10         | 1,06                 |
| 40          | 1,36         | 1,21                 |
| 41          | 1,28         | 1,27                 |
| 42          | 1,41         | 1,10                 |
| 43          | 1,47         | 1,80                 |
| 44          | 1,48         | 1,44                 |
| 45          | 1,52         | 1,35                 |

**Análisis de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1º muestra**

Los datos de la tabla 4.2.1 corresponden a los valores obtenidos de la obtención del nivel de etanolemia de la 1º muestra a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico, realizados en el laboratorio de control de calidad de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, se procedió a realizar el análisis estadístico para cada uno de las columnas.

**Tabla 4.2.1.1. Análisis estadístico de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1º muestra.**

|   |  | Estadístico     | Error Típico |
|---|--|-----------------|--------------|
| Nivel de Etanol<br>1º Muestra<br>Según el<br>método de<br>Cromatografía<br>de Gases –<br>Head Space | Media (X)                                      | 1,31            | 0,0154547    |
|   | Intervalo de Confianza<br>Para la media al 95% | Limite Superior | 1,34         |
|   |  | Limite Inferior | 1,28         |
|   | Mediana (Me)                                   | 1,31            |              |
|   | Moda (Md)                                      | 1,22            |              |
|   | Varianza                                       | 0,01            |              |
|   | Desviación Típica                              | 0,10            |              |
| Nivel de Etanol<br>1º Muestra<br>Según el<br>método<br>Colorimétrico                                | Media (X)                                      | 1,30            | 0,0319853    |
|   | Intervalo de Confianza<br>Para la media al 95% | Limite Superior | 1,37         |
|   |  | Limite Inferior | 1,24         |
|   | Mediana (Me)                                   | 1,24            |              |
|   | Moda (Md)                                      | 1,22            |              |
|   | Varianza                                       | 0,05            |              |
|   | Desviación Típica                              | 0,21            |              |

**Análisis estadístico de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases**

En la tabla 4.2.1.1 se observa que el valor promedio (media  $\bar{x}$ ) del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space es 1,31.

Del análisis de la tabla se observa que el intervalo de confianza está comprendido entre 1,34 y 1,28 esto se interpreta como: Existe un 95% de seguridad que el

verdadero promedio de los datos obtenidos en el estudio está comprendido en el promedio antes mencionado.

El valor de la mediana (Me) es de 1,31 g/l; lo que indica que el 50% de los valores obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space incluidos en el estudio tiene valores menores a 1,31 g/l y el 50% de los valores de etanolemia en varones incluidos en el estudio tiene valores mayores a 1,31 g/l. Además el valor de la moda es de 1,22 g/l.

También se puede observar que la distribución nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space incluidos en el estudio tiene una varianza de 0,01 lo que indica que los datos no están dispersos es decir que hay una buena concentración de datos en solo punto.

El valor de la desviación típica (o desviación estándar) es de 0,10 dicho valor refiere que no existe grado de dispersión de la variable nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space incluidos en el estudio respecto a la media.

Puesto que Md (1,22), Me (1,31) y Media (1,31) y  $Md < \bar{x} = Me$ ; entonces la distribución del etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space es asimétrica, como puede observarse en el gráfico curva de frecuencias.

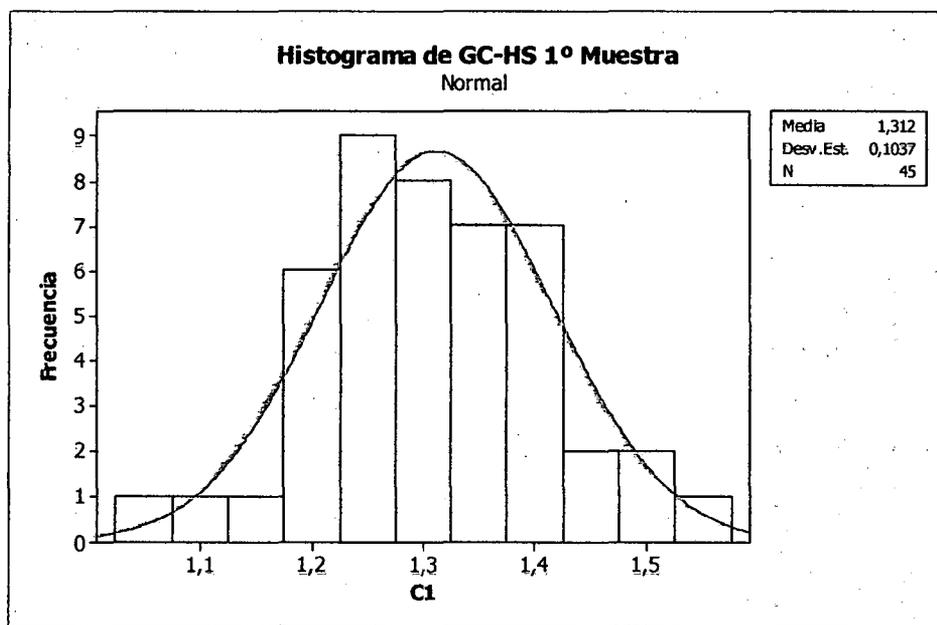


GRÁFICO 4.2.1.1: Histograma de GC-HS 1ª muestra

## **Análisis estadístico de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por colorimetría**

En la tabla 4.2.1.1 se observa que el valor promedio (media  $\bar{x}$ ) del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico es de aproximadamente 1,30.

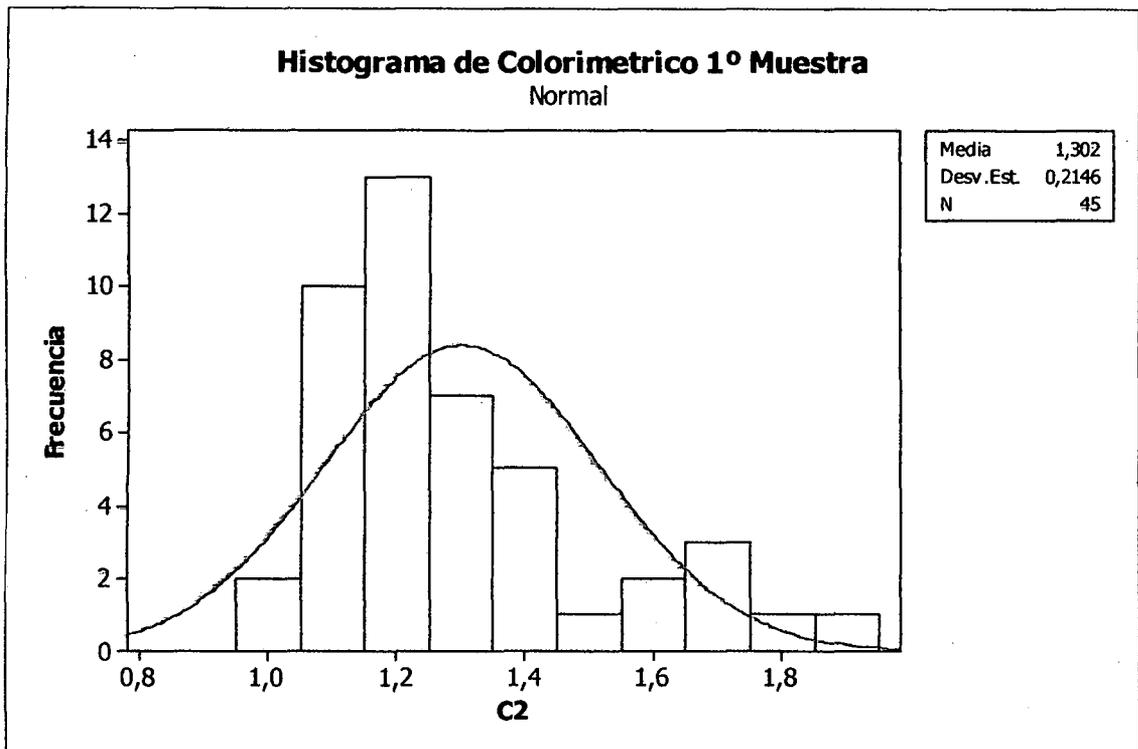
Del análisis de la tabla se observa que el intervalo de confianza está comprendido entre 1,37 y 1,24 esto se interpreta como: Existe un 95% de seguridad que el verdadero promedio de los datos obtenidos en el estudio está comprendido en el promedio antes mencionado.

El valor de la mediana (Me) es de 1,24 g/l; lo que indica que el 50% de los valores obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico incluidos en el estudio tiene valores menores a 1,24 g/l y el 50% de los valores de etanolemia en varones incluidos en el estudio tiene valores mayores a 1,24 g/l. Además el valor de la moda es de 1,22 g/l.

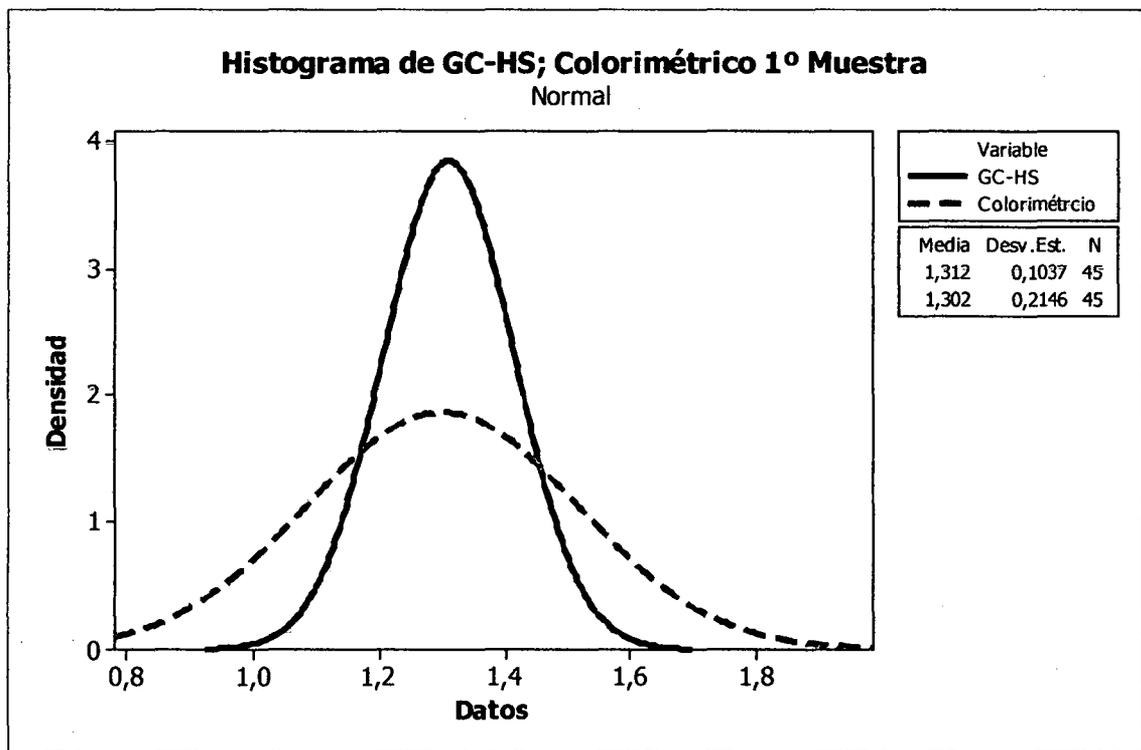
También se puede observar que la distribución nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico incluidos en el estudio tiene una varianza de 0,05 lo que indica que los datos no están dispersos es decir que hay una buena concentración de datos en solo punto.

El valor de la desviación típica (o desviación estándar) es de 0,21 dicho valor refiere que no existe grado de dispersión de la variable del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico incluidos en el estudio respecto a la media.

Puesto que Md (1,22), Me (1,24 ) y Media (1,30) y  $Md < Me < \bar{x}$  ; entonces la distribución del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico es asimétrica, como puede observarse en el gráfico curva de frecuencias.



**GRÁFICO 4.2.1.2: Histograma del método colorimétrico 1ª muestra**



**GRÁFICO 4.2.1.3: Análisis de la Distribución de Frecuencias de los Dos datos obtenidos de la 1ª Muestra**

**4.2.2 RESULTADOS DE LA OBTENCION DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE LA 2º MUESTRA TOMADA A LAS 2.5 HORAS DESPUÉS DE LA INGESTA DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA**

| <b>COD.</b> | <b>CG-HS</b> | <b>Sheftel</b> |
|-------------|--------------|----------------|
| 1           | 1,11         | 1,10           |
| 2           | 1,27         | 0,96           |
| 3           | 1,15         | 1,48           |
| 4           | 1,29         | 1,25           |
| 5           | 1,13         | 0,98           |
| 6           | 1,10         | 1,38           |
| 7           | 1,09         | 1,12           |
| 8           | 0,85         | 0,47           |
| 9           | 1,10         | 1,09           |
| 10          | 1,06         | 0,75           |
| 11          | 1,17         | 1,50           |
| 12          | 1,08         | 1,04           |
| 13          | 1,45         | 1,30           |
| 14          | 1,02         | 1,30           |
| 15          | 0,98         | 1,01           |
| 16          | 1,15         | 0,77           |
| 17          | 1,07         | 1,06           |
| 18          | 1,05         | 0,74           |
| 19          | 1,09         | 1,42           |
| 20          | 1,20         | 1,16           |
| 21          | 1,17         | 1,02           |
| 22          | 1,21         | 1,49           |
| 23          | 1,18         | 1,21           |
| 24          | 1,08         | 0,70           |
| 25          | 1,12         | 1,11           |
| 26          | 1,22         | 0,91           |
| 27          | 0,94         | 1,27           |
| 28          | 1,24         | 1,20           |
| 29          | 1,25         | 1,10           |
| 30          | 1,17         | 1,45           |
| 31          | 1,25         | 1,28           |
| 32          | 1,13         | 0,75           |
| 33          | 0,90         | 0,89           |
| 34          | 1,12         | 0,81           |
| 35          | 1,30         | 1,63           |
| 36          | 1,13         | 1,09           |
| 37          | 1,10         | 0,95           |
| 38          | 1,16         | 1,44           |
| 39          | 1,03         | 1,06           |
| 40          | 1,22         | 0,84           |
| 41          | 1,37         | 1,65           |
| 42          | 1,57         | 1,09           |
| 43          | 1,48         | 1,48           |
| 44          | 1,16         | 1,87           |
| 45          | 1,50         | 1,12           |

**Análisis de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2º muestra.**

Los datos de la tabla 4.2.2 corresponden a los valores obtenidos de la obtención del nivel de etanolemia de la 2º muestra a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico, realizados en el laboratorio de control de calidad de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, se procedió a realizar el análisis estadístico para cada uno de las columnas.

**Tabla 4.2.2.1 Análisis estadístico de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2º muestra.**

|   |                        | Estadístico     | Error Típico |
|---|------------------------|-----------------|--------------|
| Nivel de Etanol<br>2º Muestra<br>Según el<br>método de<br>Cromatografía<br>de Gases –<br>Head Space | Media (X)              | 1,16            | 0,0219011    |
|   | Intervalo de Confianza | Limite Superior |              |
|   | Para la media al 95%   | Limite Inferior | 1,12         |
|   | Mediana (Me)           |                 | 1,15         |
|   | Moda (Md)              |                 | 1,13         |
|   | Varianza               |                 | 0,02         |
|   | Desviación Típica      |                 | 0,15         |
| Nivel de Etanol<br>2º Muestra<br>Según el<br>método<br>Colorimétrico                                | Media (X)              | 1,14            | 0,0431341    |
|   | Intervalo de Confianza | Limite Superior |              |
|   | Para la media al 95%   | Limite Inferior | 1,05         |
|   | Mediana (Me)           |                 | 1,10         |
|   | Moda (Md)              |                 |              |
|   | Varianza               |                 | 0,08         |
|   | Desviación Típica      |                 | 0,29         |

**Análisis estadístico de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases**

En la tabla 4.2.2.1 se observa que el valor promedio (media  $\bar{x}$ ) del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space es de aproximadamente 1,16.

Del análisis de la tabla se observa que el intervalo de confianza está comprendido entre 1,21 y 1,12 esto se interpreta como: Existe un 95% de seguridad que el

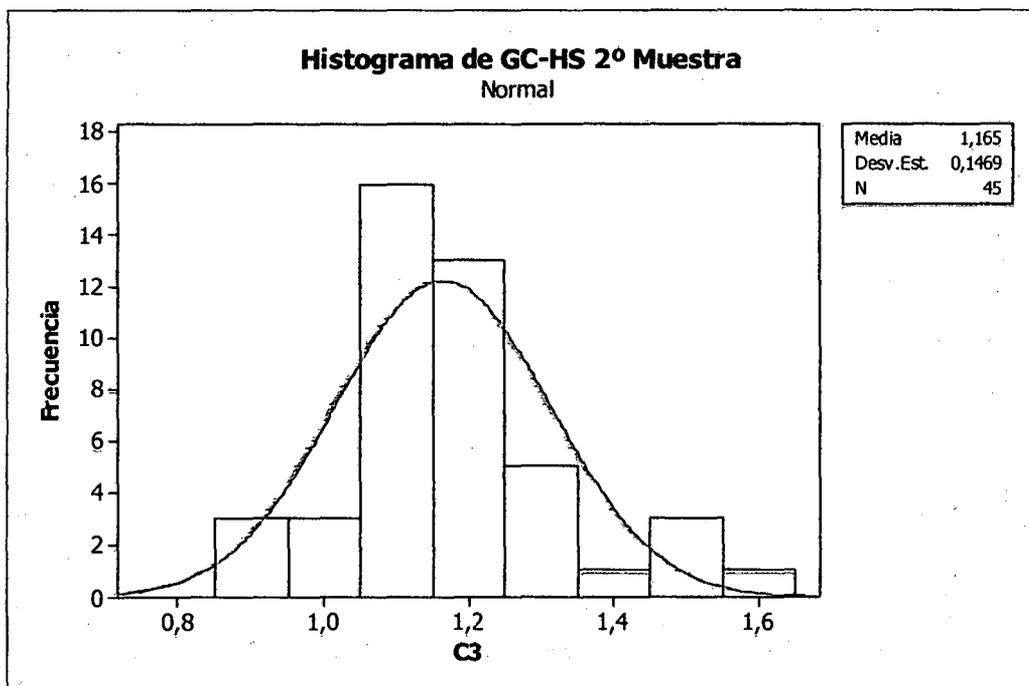
verdadero promedio de los datos obtenidos en el estudio está comprendido en el promedio antes mencionado.

El valor de la mediana (Me) es de 1,15 g/l; lo que indica que el 50% de los valores obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space incluidos en el estudio tiene valores menores a 1,15g/l y el 50% de los valores de etanolemia en varones incluidos en el estudio tiene valores mayores a 1,15 g/l. Además el valor de la moda es de 1,13 g/l.

También se puede observar que la distribución nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space incluidos en el estudio tiene una varianza de 0,02 lo que indica que los datos no están dispersos es decir que hay una buena concentración de datos en solo punto.

El valor de la desviación típica (o desviación estándar) es de 0,15 dicho valor refiere que no existe grado de dispersión de la variable del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space incluidos en el estudio respecto a la media.

Puesto que Md (1,13), Me (1,15) y Media (1,16) y  $Md < Me < \bar{x}$ ; entonces la distribución del etanolemia a partir del método por cromatografía de gases – Head Space es asimétrica, como puede observarse en el gráfico curva de frecuencias.



**GRÁFICO 4.2.2.1: Histograma de GC-HS 2ª muestra**

## **Análisis estadístico de los resultados de la obtención del nivel de etanolemia a partir del método por colorimetría**

En la tabla 4.2.2.1 se observa que el valor promedio (media  $\bar{x}$ ) del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico es de aproximadamente 1,14.

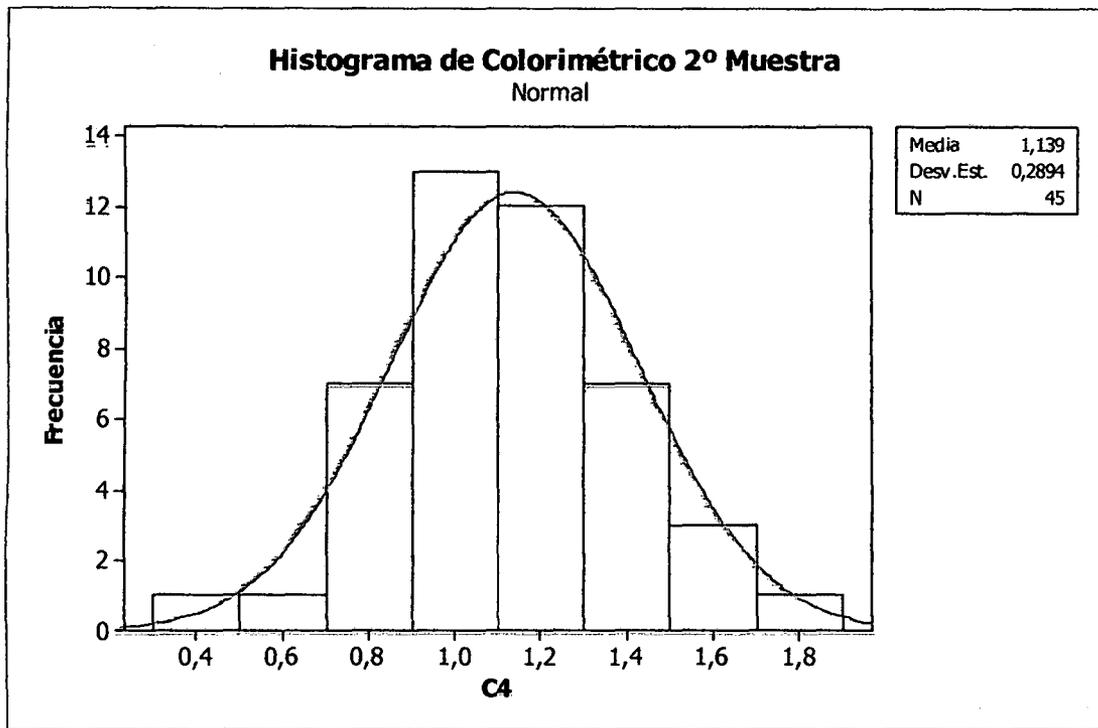
Del análisis de la tabla se observa que el intervalo de confianza está comprendido entre 1,22 y 1,05 esto se interpreta como: Existe un 95% de seguridad que el verdadero promedio de los datos obtenidos en el estudio está comprendido en el promedio antes mencionado.

El valor de la mediana (Me) es de 1,10 g/l; lo que indica que el 50% de los valores obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico incluidos en el estudio tiene valores menores a 1,10 g/l y el 50% de los valores de etanolemia en varones incluidos en el estudio tiene valores mayores a 1,10 g/l. Además no existe un valor asignado para la moda.

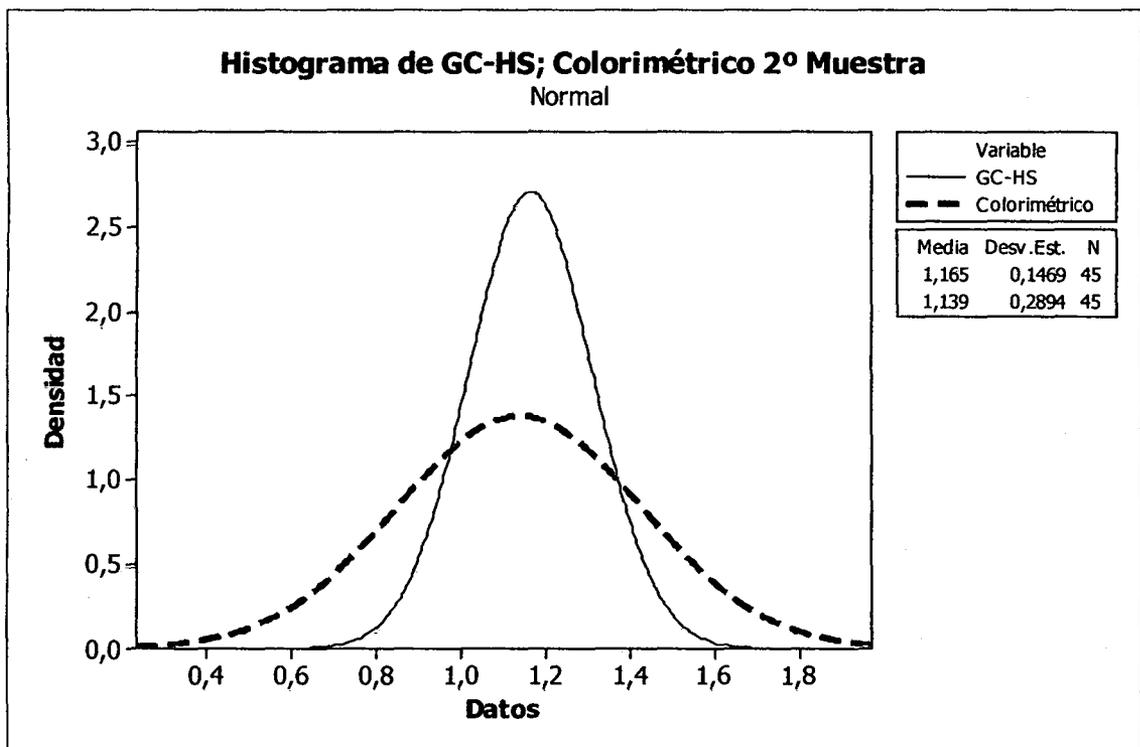
También se puede observar que la distribución nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico incluidos en el estudio tiene una varianza de 0,08 lo que indica que los datos no están dispersos es decir que hay una buena concentración de datos en solo punto.

El valor de la desviación típica (o desviación estándar) es de 0,29 dicho valor refiere que no existe grado de dispersión de la variable del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico incluidos en el estudio respecto a la media.

Puesto que Me (1,10) y Media (1,14) y  $Me < \bar{x}$  ; entonces la distribución del nivel de etanolemia a partir del método analítico colorimétrico es asimétrica, como puede observarse en el gráfico curva de frecuencias.



**GRÁFICO 4.2.2.2: Histograma del método colorimétrico 2ª muestra**



**GRÁFICO 4.2.1.1: Análisis de la Distribución de Frecuencias de los dos datos obtenidos de la 1ª Muestra**

**4.2.3. ANALISIS DE MEDIANAS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE LA 1º MUESTRA.**

**Tabla 4.2.3.1. Tabla ANOVA de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1º muestra**

**Tabla ANOVA**

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos  | 0,00144                  | 1         | 0,00144               | 0,05           | 0,8209         |
| Intra grupos  | 2,4572                   | 88        | 0,0279227             |                |                |
| Total (Corr.) | 2,45864                  | 89        |                       |                |                |

**Fuente:** Elaboración propia

**Análisis:**

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0,0515709, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar si las medias son significativamente diferentes, realizamos la prueba de rangos múltiples

**Tabla 4.2.3.2 Tabla de Pruebas de Múltiple Rangos**

| Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD |              |              |                          |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|
|                                   | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
| Colorimétrico                     | 45           | 1,304        | X                        |
| GC-HS                             | 45           | 1,312        | X                        |

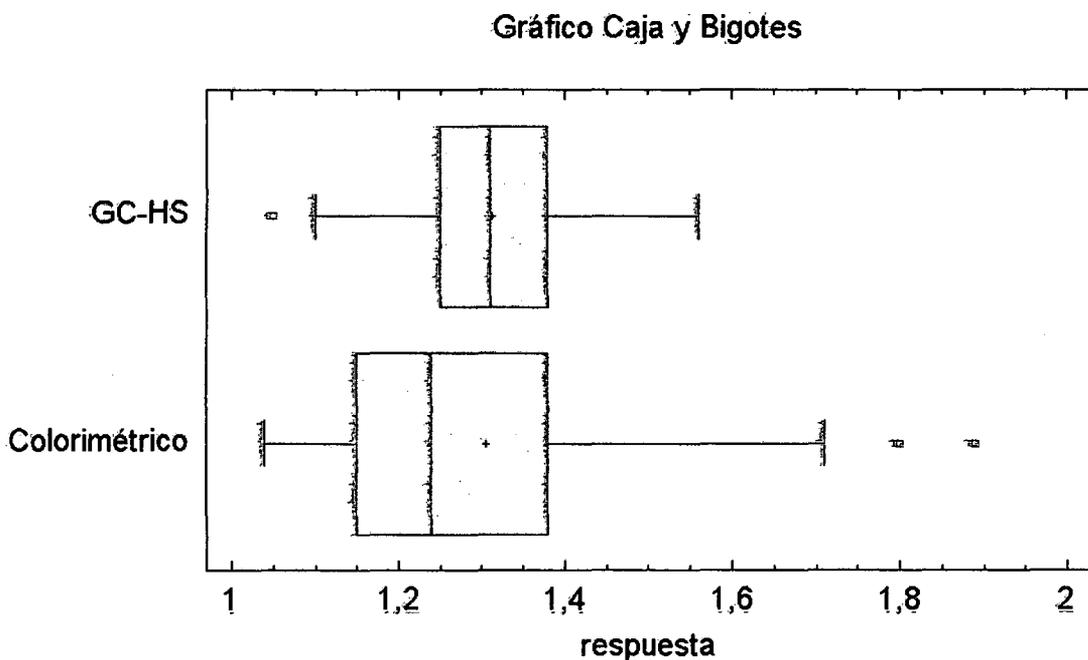
| <i>Contraste</i>     | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|----------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| GC-HS -Colorimétrico |             | 0,008             | 0,0700083          |

\* indica una diferencia significativa.

**Fuente:** Elaboración propia

**Análisis:**

La tabla 4.2.3.2 aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. En el análisis de la página, se han identificado 1 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey.

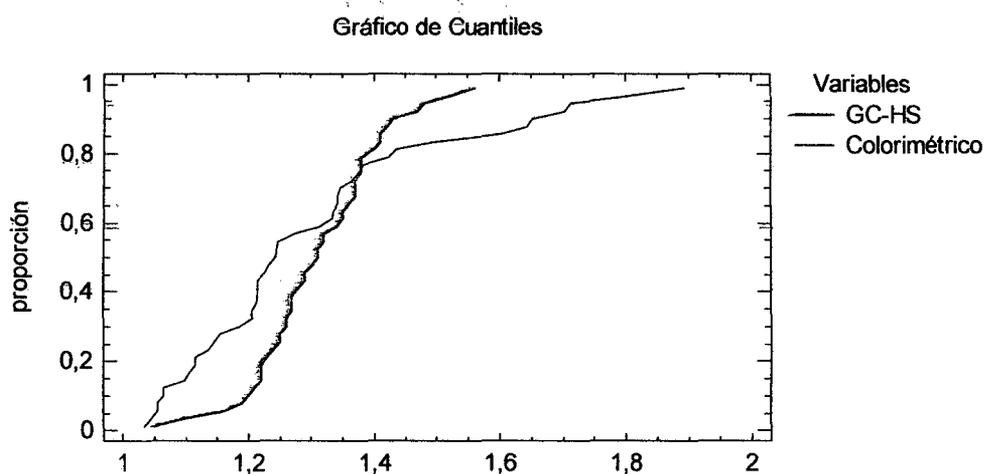


**Gráfico 4.2.3.1: Caja y bigotes para los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1º muestra.**

**Análisis:**

Es evidente en la gráfica una aparente diferencia de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1º muestra. Tanto la media y la mediana de las muestras observan una diferencia similar.

La significancia estadística de estas diferencias permanecen en duda, por este motivo lo llevamos hacia otro cuadro más explícito



**Gráfico 4.2.3.2 de Cuantiles de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 1º muestra.**

**Análisis:**

El gráfico de Cuantiles nos permite observar cuán cerca está la distribución de los dos datos en conjunto y comparar la distribución, podemos observar que existe una diferencia en el comportamiento de los datos, siendo el método de GC-HS el que tiene un comportamiento regular frente al método Colorimétrico.

**4.2.4. ANALISIS DE MEDIANAS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL NIVEL DE ETANOLEMIA A PARTIR DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE LA 2º MUESTRA.**

**Tabla 4.2.4.1. Tabla ANOVA de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2º muestra**

**Tabla ANOVA**

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos  | 0,0144438                | 1         | 0,0144438             | 0,27           | 0,6018         |
| Intra grupos  | 4,63361                  | 88        | 0,0526547             |                |                |
| Total (Corr.) | 4,64805                  | 89        |                       |                |                |

**Fuente:** Elaboración propia

**Análisis:**

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0,274312, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar si las medias son significativamente diferentes, realizamos la prueba de rangos múltiples

**Tabla 4.2.4.2. Tabla de Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

|               | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|---------------|--------------|--------------|--------------------------|
| Colorimétrico | 45           | 1,13933      | X                        |
| GC-HS         | 45           | 1,16467      | X                        |

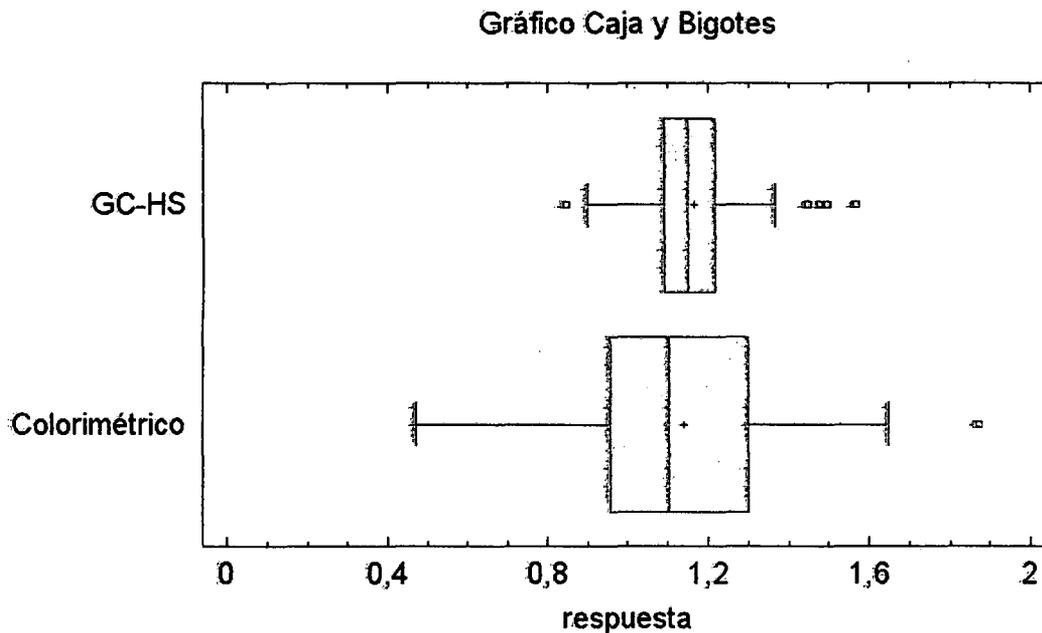
| <i>Contraste</i>     | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|----------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| GC-HS -Colorimétrico |             | 0,0253367         | 0,0961367          |

\* indica una diferencia significativa.

**Fuente:** Elaboración propia

**Análisis:**

La tabla 4.2.4.2 aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. En el análisis de la página, se han identificado 1 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey.

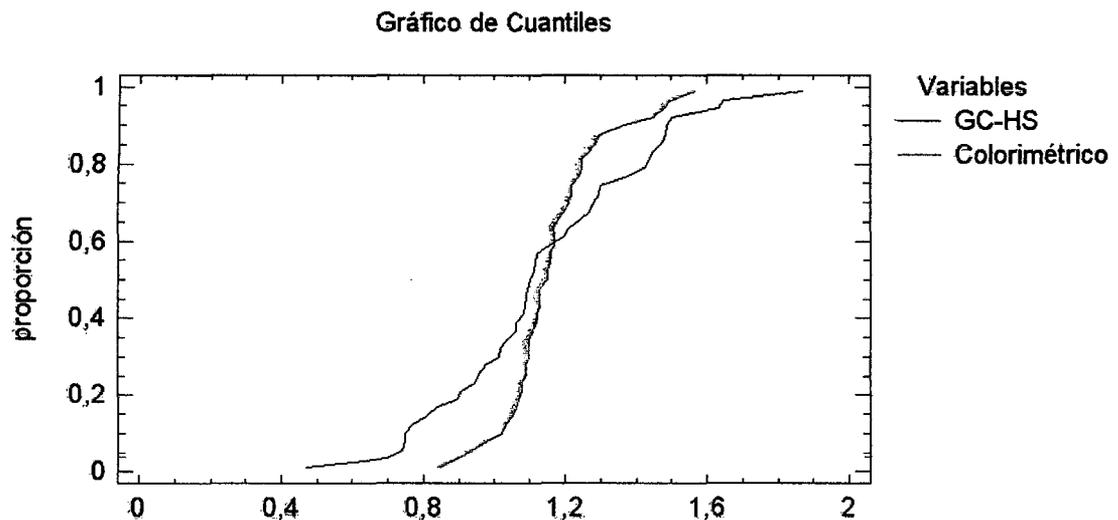


**Gráfico 4.2.4.1 : Caja y bigotes para los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2º muestra.**

**Análisis:**

Es evidente en la gráfica una aparente diferencia de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2º muestra. Tanto la media y la mediana de las muestras observan una diferencia similar.

La significancia estadística de estas diferencias permanecen en duda, por este motivo lo llevamos hacia otro cuadro más explícito



**Gráfico 4.2.4.2 de Cuantiles de los resultados obtenidos del nivel de etanolemia a partir del método por cromatografía de gases y el método colorimétrico de la 2ª muestra.**

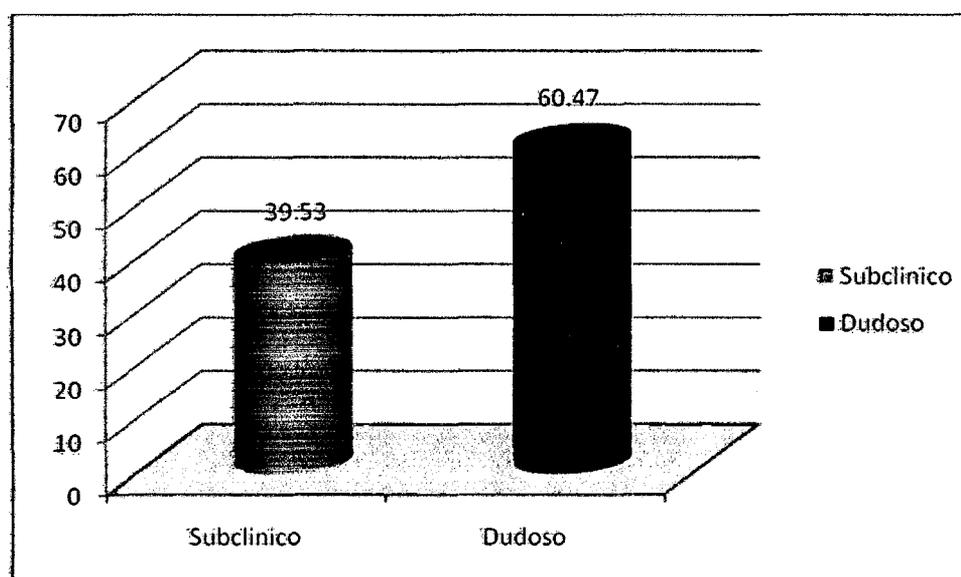
**Análisis:**

El gráfico de Cuantiles nos permite observar cuán cerca está la distribución de los dos datos en conjunto y comparar la distribución, podemos observar que existe una diferencia en el comportamiento de los datos, siendo el método de GC-HS el que tiene un comportamiento regular frente al método Colorimétrico

### 4.3. DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA ACETONA E ISOPROPANOL EN LA VALORACIÓN MÉDICO LEGAL DE LA ALCOHOLEMIA OBTENIDA POR EL MÉTODO ANALÍTICO COLORIMÉTRICO

| Tipo de población       | CLASIFICACIÓN DE ALCOHOLEMIAS |       |                         |       | Total |     |
|-------------------------|-------------------------------|-------|-------------------------|-------|-------|-----|
|                         | SUBCLÍNICO<br>Hasta 0.1 g/l   |       | DUDOSO<br>0.1 – 0.5 g/l |       | N     | %   |
|                         | N                             | %     | N                       | %     |       |     |
| Diabéticos<br>Abstemios | 17                            | 39.53 | 26                      | 60.47 | 43    | 100 |

Fuente: Elaboración Propia



**GRAFICO 4.3.1 : Gráfico porcentaje de pacientes contra concentraciones de alcoholemia por el método de colorimétrico**

Es Subclínico, las alcoholemias menores a 0.1g/L, según Hernan Silva, cuando el individuo NO percibe ningún cambio en su estado mental. Mientras que el Efecto Dudoso, según Hernan Silva se ha encontrado valores comprendidos entre estas cifras en sujetos abstemios, por lo que no pueden considerarse plenamente demostrativos que haya habido ingestión de alcohol.

Las concentraciones halladas en nuestro estudio que llegan hasta 0.34 g/L influyen en las Compañías de seguros, en el Peatón y Conductor; a diferencia de las Instancias legales y laboratorios de dosaje etílico que no influye. Por otro lado

las alcoholemias halladas en nuestro estudio están penadas en otros países pero no en nuestro país, por lo cual no tiene relevancia administrativa ni penal, Las tasas de alcohol en el Perú están sancionadas y penalizadas a partir de 0.5g/L. Menor a 0.5 g/L esta permitido, según Ley No. 27753 publicada en el “Peruano”

#### 4.4. DE LA VERIFICACIÓN DE LA VALIDEZ DEL MÉTODO ANALÍTICO COLORIMÉTRICO DE DOSAJE ETÍLICO

**CUADRO 4.4.1**

**Linealidad**

**Valores de transmitancias. Test de proporcionalidad**

| Concentración (g/l)                         | Transmitancias |  |        |
|---|----------------|--|--------|
|   | I              | II   | III    |
| 0.5   | 7.13           | 7.005  | 7.03   |
| 1.0   | 12.305         | 12.33  | 12.28  |
| 1.5   | 19.105         | 19.255   | 19.13  |
| 2.0   | 25.405         | 25.455   | 25.455 |
| 2.5   | 32.055         | 31.855   | 31.93  |
| 3.0   | 39.53          | 39.555   | 39.53  |
| r   |                | 0.99854895   |        |
| r <sup>2</sup>                              |                | 0.9971   |        |
| Intercepto                                  |                | 0.0072   |        |
| Pendiente                                   |                | 12.923   |        |
| t <sub>exp</sub> ≤ t <sub>tab(0.05,4)</sub> |                | t <sub>exp</sub> = 1.4596 ≤ t <sub>tab(0.05,4)</sub> = 2.776 |        |
| intercepto no significativo                 |                |  |        |

**Fuente:** elaboración propia

**CUADRO 4.4.2**  
**Pendientes. Prueba de linealidad**

| Concentración (g/l) | Pendientes |            |        |
|---------------------|------------|------------|--------|
|                     | I          | II         | III    |
| 0.5                 | 12.091     | 12.965     | 13.04  |
| 1.0                 | 13.657     | 12.938     | 12.936 |
| 1.5                 | 12.068     | 12.971     | 13.045 |
| 2.0                 | 13.605     | 12.922     | 12.985 |
| 2.5                 | 12.034     | 12.942     | 13.028 |
| 3.0                 | 13.628     | 12.971     | 12.908 |
| Promedio            |            | 12.9233333 |        |
| Varianza            |            | 0.22115438 |        |
| Desviación Estándar |            | 0.47027054 |        |
| CV(%)               |            | 3.63892603 |        |

**Fuente:** elaboración propia<sup>7</sup>

Los coeficientes de correlación y determinación son superiores a 0.99 y 0.98 respectivamente, lo que indica correspondencia entre los valores obtenidos con la recta de ajuste y los obtenidos experimentalmente. El intercepto de la recta de ajuste no se diferenció significativamente de cero puesto que al aplicarle la prueba de Student se obtuvo un valor de t experimental de 1.4596 menor que el tabulado (para una probabilidad del 95% y 4 grados de libertad) (Cuadro 4.4.1). Con esto queda demostrada la proporcionalidad del sistema

El coeficiente de variación total de las pendientes fue inferior al 5% establecido como límite indicativo de linealidad (Cuadro 4.4.2)

### CUADRO 4.4.3

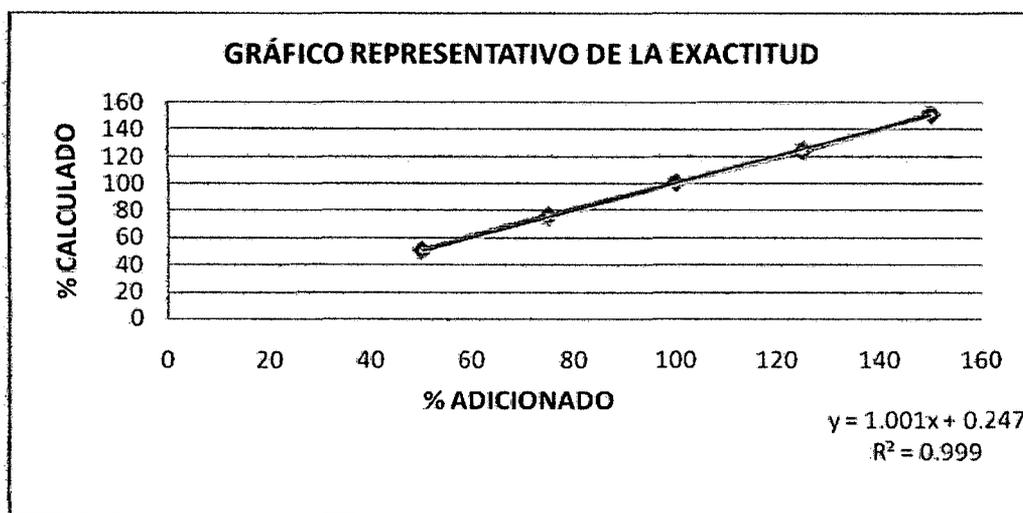
#### Exactitud

| % adicionado | Promedio de los % calculado | De los % de recobrado |          |                     |         | Prueba de Student               |
|--------------|-----------------------------|-----------------------|----------|---------------------|---------|---------------------------------|
|              |                             | Promedio              | varianza | Desviación estándar | C.V.(%) |                                 |
| 50           | 50.40                       | 100.79                | 0.129    | 0.359               | 0.985   | $T_{exp, tab} = 1.79 \leq 2.78$ |
| 75           | 75.59                       | 100.78                | 0.409    | 0.639               | 1.478   | $T_{exp, tab} = 1.19 \leq 2.78$ |
| 100          | 100.51                      | 100.51                | 0.406    | 0.638               | 1.278   | $T_{exp, tab} = 0.89 \leq 2.78$ |
| 125          | 124.21                      | 99.37                 | 0.1      | 0.316               | 0.561   | $T_{exp, tab} = 2.50 \leq 2.78$ |
| 150          | 151.26                      | 100.84                | 0.153    | 0.392               | 0.615   | $T_{exp, tab} = 2.63 \leq 2.78$ |

$G_{exp\ rec} = 0.37 \leq G_{tab}(0.05, 4, 5) = 0.54$   
Promedio tot. rec = 100.44 %  
CV tot. rec. = 0.983 %

**Fuente:** elaboración propia

Los resultados obtenidos en este ensayo se muestran en el cuadro 4.4.3 obsérvese como la media de los porcentajes de concentración calculados a cada nivel con el valor de concentración adicionado correspondiente, no arrojó diferencias significativas para un nivel de significación de 0.05 y 4 grados de libertad. Los porcentajes de recobrado de cada concentración se encuentran entre 99.37 y 100.84. El valor medio total de los porcentajes de recobrado no difiere estadísticamente del 100%. La concentración no influyó en la varianza de los resultados teniendo cuenta el resultado obtenido en la prueba G de Cochran.



**GRÁFICO 4.4.3.1: Gráfico de porcentaje de porcentaje de concentración calculado contra porcentaje adicionado**

|                     | Promedio  | Intervalo de confianza | Mínimo      | Máximo     |
|---------------------|-----------|------------------------|-------------|------------|
| <b>Pendiente</b>    | 1.0014615 | 0.00371695             | 0.99774455  | 1.00517845 |
| <b>Intersección</b> | 0.2477    | 1.41779274             | -1.17009274 | 1.66549274 |

**Fuente:** elaboración propia

La recta de ajuste  $Y = 1.0015X + 0.2477$  se obtuvo producto de graficar los porcentajes de concentración adicionados contra los porcentajes calculados. El intervalo de confianza para la pendiente y el intercepto en dicha recta fue de  $\pm 0.0037$  y  $\pm 1.4178$  que incluyen el valor de 1 y 0, respectivamente (Gráfico 4.4.3.1)

#### CUADRO 4.4.4

##### Precisión

##### Resultados de la Repetibilidad

| Nivel de<br>concentración<br>(%) | De los % de concentración |          |                        |       |
|----------------------------------|---------------------------|----------|------------------------|-------|
|                                  | Promedio (%)              | Varianza | Desviación<br>estándar | CV(%) |
| 25                               | 25.88                     | 0.078    | 0.279                  | 0.877 |
| 100                              | 99.72                     | 0.179    | 0.423                  | 0.903 |
| 125                              | 125.85                    | 0.114    | 0.337                  | 0.646 |

$G_{exp\ rec} = 0.48 \leq G_{tab}(0.05, 4, 3) = 0.71$  no hay diferencia significativa entre las dispersiones

**Fuente:** elaboración propia

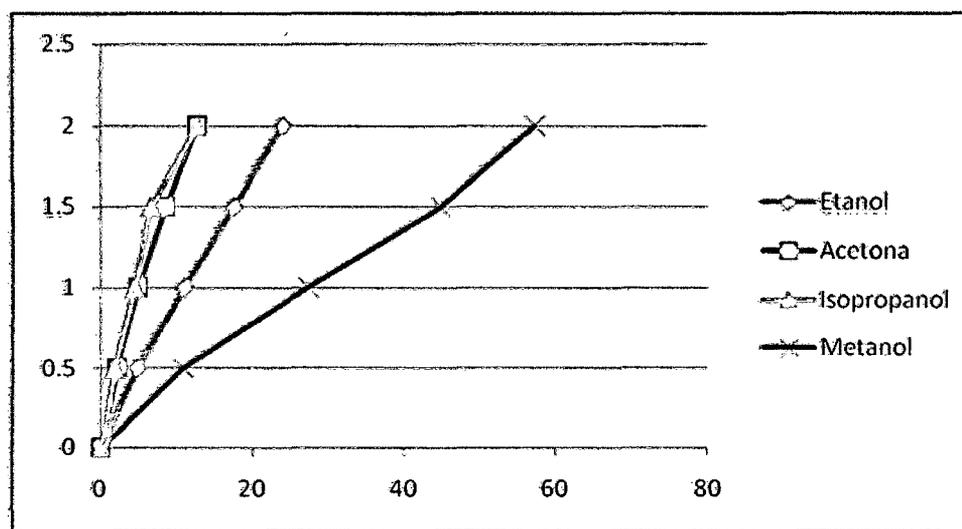
Los coeficientes de variación para cada concentración fueron menores que 1.5% y al aplicar la prueba de Cochran para comparar las varianzas, se comprueba que son homogéneas, y no influye por tanto la concentración en la varianza de los resultados (Cuadro 4.4.4)

## Especificidad

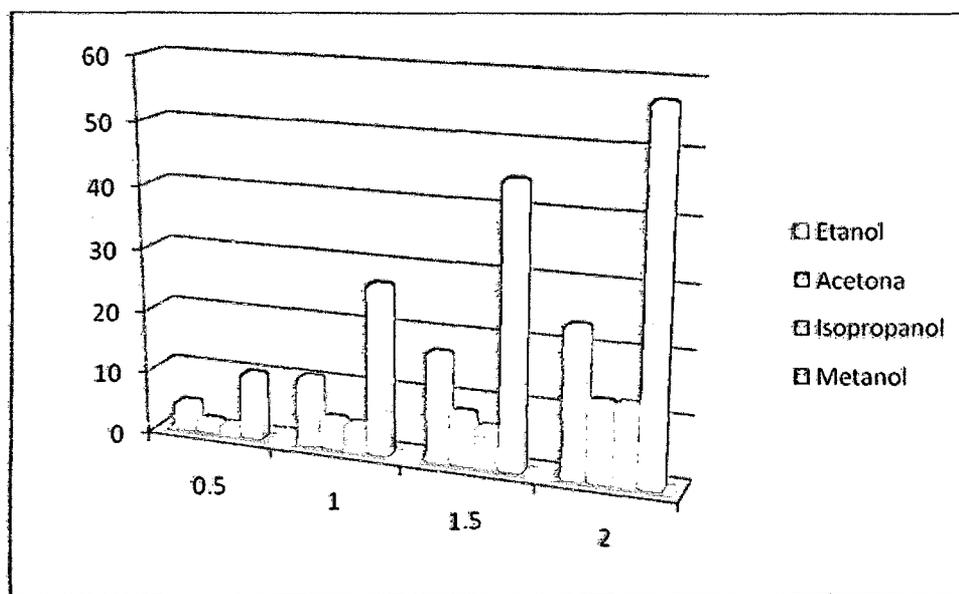
Las sustancias potencialmente interferentes en una matriz biológica incluyen componentes endógenos de la matriz, metabolitos, productos de degradación, impurezas, etc, para el caso de dosaje etílico en muestra de sangre se tomo como posibles interferentes la acetona, isopropanol y el metanol

**CUADRO 4.4.5**  
**Cuadro de concentraciones usadas con sus transmitancias**

| Conc. Interferentes | Etanol |         | Acetona |         | Isopropanol |         | Metanol |         |
|---------------------|--------|---------|---------|---------|-------------|---------|---------|---------|
|                     | X(T%)  | γ (g/l) | X(T%)   | γ (g/l) | X(T%)       | γ (g/l) | X(T%)   | γ (g/l) |
| 0.5                 | 4.6    | 0.4928  | 2.1     | 0.2978  | 1.7         | 0.2666  | 10.7    | 0.9686  |
| 1                   | 11.1   | 0.9998  | 4.9     | 0.5162  | 4.4         | 0.4772  | 27.3    | 2.2634  |
| 1.5                 | 17.5   | 1.49    | 8.4     | 0.7892  | 6.5         | 0.641   | 44.9    | 3.6362  |
| 2                   | 23.9   | 1.9982  | 12.7    | 1.1246  | 12.7        | 1.1246  | 57.4    | 4.6112  |



**GRÁFICO 4.4.5.1: Curvas de Concentraciones contra transmitancias**



**GRÁFICO 4.4.5.2: Barras de transmitancias contra concentraciones**

Los analitos evaluados individualmente a las diferentes concentraciones presentaron poder de reducción y por lo tanto presentan interferencia en la determinación de etanol así la acetona y el isopropanol presentan parecido poder reductor el cuál es aproximadamente la mitad del del etanol por otro lado se determinó también que el poder reductor del alcohol metílico es de aproximadamente el doble aumentando el mismo a mayor concentración como se observa en los gráficos 4.4.5.1 y 4.4.5.2

## ESTABILIDAD

### Resultado del ensayo de estabilidad del patrón y la muestra

| Patrón                                     |        |        |        |       |        |        |       |        |
|--|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|
| Tiempo                                     | 0 min  | 20 min | 45 min | 1h    | 2h     | 3h     | 4h    | 6h     |
| Promedio                                   | 41.466 | 41.666 | 41.533 | 41.8  | 41.733 | 41.633 | 41.5  | 41.433 |
| S <sup>2</sup>                             | 0.023  | 0.053  | 0.123  | 0.07  | 0.093  | 0.083  | 0.16  | 0.163  |
| CV(%)                                      | 0.056  | 0.128  | 0.296  | 0.167 | 0.223  | 0.200  | 0.385 | 0.394  |
| F <sub>exp</sub> ≤ F <sub>tab</sub> = 19   |        | 0.608  | 0.318  | 0.5   | 0.4    | 0.4375 | 0.254 | 0.25   |
| t <sub>exp</sub> ≤ t <sub>tab</sub> = 2.78 |        | 0.279  | 0.778  | 0.131 | 0.247  | 0.426  | 0.899 | 0.900  |

| Muestra                                    |       |        |        |       |       |        |        |       |
|--|-------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|
| Tiempo                                     | 0 min | 20 min | 45 min | 1h    | 2h    | 3h     | 4h     | 6h    |
| Promedio                                   | 36.4  | 36.5   | 36.566 | 36.6  | 36.5  | 36.433 | 36.333 | 36.4  |
| S <sup>2</sup>                             | 0.21  | 0.21   | 0.163  | 0.21  | 0.21  | 0.263  | 0.303  | 0.28  |
| CV(%)                                      | 0.576 | 0.575  | 0.446  | 0.573 | 0.575 | 0.722  | 0.834  | 0.769 |
| F <sub>exp</sub> ≤ F <sub>tab</sub> = 19   |       | 1      | 0.875  | 1     | 0.707 | 0.887  | 0.818  | 0.857 |
| t <sub>exp</sub> ≤ t <sub>tab</sub> = 2.78 |       | 0.802  | 0.661  | 0.621 | 0.802 | 0.937  | 0.879  | 1     |

### ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL PATRÓN

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F         | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.3695833         | 7                  | 0.05279762                | 0.5485466 | 0.78576539   | 2.6571966            |
| Dentro de los grupos      | 1.54              | 16                 | 0.09625                   |           |              |                      |
| Total                     | 1.9095833         | 23                 |                           |           |              |                      |

### ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MUESTRA

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F         | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.1733333         | 7                  | 0.0247619                 | 0.1070785 | 0.99699276   | 2.6571966            |
| Dentro de los grupos      | 3.7               | 16                 | 0.23125                   |           |              |                      |
| Total                     | 3.8733333         | 23                 |                           |           |              |                      |

La comparación estadística de la varianza y la media de las transmitancias del patrón y de la muestra en cada tiempo con la lectura inicial, no arrojó diferencias significativas para un nivel de significancia del 95%. Además al hacer una comparación múltiple entre las medias de las transmitancias a través de un análisis de varianza (ANOVA) se obtiene que la probabilidad asociada al valor de la prueba F fue 0.549 para el patrón y 0.107 para la muestra, ambos resultados son superiores a 0.05; por lo que la media de las medias de las transmitancias son estadísticamente similares entre si. Todo esto demuestra que la lectura de las transmitancias permanece constante durante el periodo de seis horas estudiado y por consiguiente la capacidad reductora del etanol también permanece inalterable en este tiempo

## CONCLUSIONES

- Se evaluó el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases en bebedores sociales y diabéticos abstemios, determinando para el caso de bebedores sociales que existe una diferencia estadística significativa entre las medianas de la primera y segunda toma de muestra, para el caso de diabéticos abstemios se determinó una alcoholemia promedio de 0.14 g/L según el método analítico colorimétrico y por el método de cromatografía en gases se determinó presencia de acetona y trazas de metanol y ausencia de etanol en las muestras de sangre
- Se determinó que los niveles de acetona y metanol presentes en la sangre de sujetos diabéticos abstemios interfieren en el método analítico colorimétrico de dosaje etílico. No se evidenció presencia de isopropanol en las muestras de sangre de sujetos diabéticos abstemios por el método de cromatografía de gases
- Se determinó que el promedio de las concentraciones de etanol en sangre en bebedores sociales no diabéticos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico fue 1.30 g/L con valor de concentración máximo encontrado de 1.89 g/L y un valor mínimo de 1.05 g/L para la primera toma de muestra, un promedio de 1.14 g/L con valor de concentración máximo encontrado de 1.87 g/L y un valor mínimo de 0.47 g/L para la segunda toma de muestra tras la administración de 1.1 g/Kg de etanol.
- Se determinó que el promedio de las concentraciones de etanol en sangre en bebedores sociales no diabéticos por cromatografía de gases fue 1.31 g/L con valor de concentración máximo hallado de 1.56 g/L y un valor mínimo de 1.05 g/L para la primera toma de muestra, un promedio de 1.16 g/L con valor de concentración máximo encontrado de 1.57 g/L y un valor

mínimo de 0.85 g/L para la segunda toma de muestra tras la administración de 1.1 g/Kg de etanol.

- Se comparó los valores de concentración de alcohol etílico en las muestras de sangre en bebedores sociales no diabéticos hallados mediante el método analítico colorimétrico frente a los hallados por cromatografía de gases y se determinó que sus medias no difieren estadísticamente, sin embargo para los resultados por el método analítico colorimétrico existe mayor dispersión de los resultados en comparación con los resultados obtenidos por cromatografía de gases encontrando así una varianza de 0.01 y 0.02 para el método de cromatografía de gases y un valor de varianza de 0.05 y 0.08 para el método analítico colorimétrico para la primera y segunda toma de muestra respectivamente.
- Se realizó el Dosaje Etílico en sangre de sujetos diabéticos abstemios determinando un promedio de 0.15 g/L llegando a una concentración máxima de 0.34 g/L de alcoholemia según el método analítico colorimétrico,
- Se realizó el Dosaje Etílico en sangre de sujetos diabéticos abstemios por cromatografía de gases, no encontrándose cantidad alguna de etanol presente en la muestra de sangre, sin embargo se determinó la presencia de acetona en un valor máximo de 1.07 mg/dL y trazas de metanol en un valor máximo de 0.358 mg/dL en sujetos diabéticos abstemios sometidos a un programa de control de diabetes
- Se comparó los valores de concentración de alcohol etílico en las muestras de sangre de sujetos diabéticos abstemios hallados mediante el método analítico colorimétrico frente a los hallados por cromatografía de gases concluyendo que los resultados hallados por el método analítico colorimétrico se deben a la presencia de sustancias reductoras presentes

en la muestra de sangre de diabéticos abstemios entre estas la acetona y el metanol y no de alcohol etílico, lo que se pudo determinar por el método de cromatografía de gases

- Se determinó que la concentración de acetona y otras sustancias reductoras presentes en las muestras de sangre de sujetos diabéticos abstemios sometidos a un programa de diabetes no influyen en la interpretación médico legal de las cifras de alcoholemia obtenidas por el método analítico colorimétrico, debido a que el límite sancionable en el Perú es igual o superior a 0.5 g/L y en nuestro caso se determinó un máximo de sustancias reductoras expresadas como etanol de 0.34 g/L. empero podría llevar a confusiones en el examen cualitativo preliminar que tiene el mismo mecanismo de oxido reducción.

- Se verificó la validez del método analítico colorimétrico de dosaje etílico. y se determinó que:

El método analítico colorimétrico utilizado para la cuantificación de etanol en sangre en la ciudad del Cusco es lineal, preciso y exacto en el rango del 50 al 150 % de las concentraciones de trabajo, cumpliendo con los límites de aceptación establecidos para estos parámetros

El método es específico a la determinación del etanol presente en muestras de sangre, pero no lo es en presencia de otras sustancias reductoras que pudieran encontrarse en la sangre tales como acetona, metanol, isopropanol, etc.

## **SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES**

### **➤ A LAS AUTORIDADES DE LA UNIDAD DE DOSAJE ETÍLICO DE LA PNP**

- Los resultados de este estudio hacen evidente la necesidad de un mayor control en el desarrollo del dosaje etílico realizado por colorimetría teniendo en cuenta lo inespecífico del método analítico colorimétrico usado rutinariamente para la determinación de la alcoholemia
- Aplicar medidas de control necesarias para minimizar el riesgo de errores en el desarrollo del dosaje etílico por colorimetría teniendo en cuenta los posibles interferentes y las causas de aumento de su concentración.
- Para el caso de muestras dudosas se recomienda utilizar el método por cromatografía de gases como método más confiable para la determinación de alcoholemia
- Implementar y equipar los laboratorios de análisis químico toxicológico de la PNP con equipos tales como cromatografo de gases, HPLC y demás que son necesarios para facilitar y profundizar las investigaciones

### **➤ A LOS DOCENTES DE LA CARRERA**

- Estimular a los estudiantes realizar estudios sobre el control de calidad en el área de Química toxicológica de la ORCRI de la PNP

### **➤ A LOS INVESTIGADORES**

- Realizar estudios sobre control de calidad en el área de Química toxicológica de la ORCRI de la PNP

## BIBLIOGRAFIA

- ATA. Boletín de la Asociación Toxicológica Argentina. Versión gráfica: año 17, N<sup>a</sup> 63. Abril 2004.
- AVILA PARCO, Gustavo y ROJAS CONDORI Raúl. Estudio de la alcoholemia en muertes violentas, evaluación de un método cuantitativo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. LIMA.1990
- BAILEY DAVID N., Detection of Isopropanol In Acetonemic Patients not exposed to isopropanol. Clinical Toxicology, University of California Medical Center 28 ( 4 ), 459-466 (1990)
- BERG J, TYMOCZKO J, STRYER R. Bioquímica, 5<sup>o</sup> Edición , editorial Reverté , 2003
- BERNARD HENRY, M.D. Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio, 8a edición. SALVAT.1998. Canada 1952, vol. 67 pag. 158 – 159
- CEDERBAUM A.I. "Farmacocinética y aspectos Forenses del Alcohol". Boletín de la Academia Nacional de México. Editorial NYU Press. México 2005
- CHRISTOPHER S.M. In: Steven B. K. Drug abuse handbook / editor-in-chief, CRC Press LLC 1998.
- DE PENA, MARIO. "Accidentes de tránsito y alcohol: aspectos legales y éticos". Revista Medica Uruguay Montevideo. 1995
- DEL CARPIO J., C; RAMÍREZ F., V. "Estudio del Coeficiente de etiloxidación en bebedores sociales de la Ciudad del Cusco". 1999. Tesis. C. P. Farmacia y Bioquímica. UNSAAC. Cusco - Perú.
- DIARIO " EL PERUANO". Ley No. 27753. Pág. 226345. Publicada 09/06/02
- EDUCACIÓN VIRTUAL INTERACTIVA: Módulo I. Programa de Peritaje en Ingeniería Forense. 2006.
- ESPINOSA ELIAS, Manuel Alejandro. Determinación del cociente Etiloxidación en Bebedores Sociales de la Ciudad de Lima 1992
- FERRARI LUIS ALBERTO "Análisis toxicológico del etanol y su interpretación forense" Revista Ciencia Forense Latinoamericana, Buenos Aires Argentina 2 (1-2) 20 – 35 2008

- GISBERT CALABUIG, Juan A. Medicina Legal y Toxicología, 4ª edición. Edit Masson S.A.Barcelona-España 1991
- GLASINOVIC, Juan Carlos. “Daño hepático por alcohol”. Curso integrado de ciencias médico quirúrgicas. MEC-246-G-H.
- GUY NADEAU, “the interference of acetone in blood alcohol determinations. A simple method for the determination of blood acetone (ravin modified)” Clinical and Laboratory Notes Canada 1952, vol. 67 pag. 158 – 159
- JONES A. W. “Fifty Years on – Looking Back at developments in Methods of Blood – and Breath – Alcohol analysis” National Board of Forensic Medicine, Department of forensic Chemistry, University Hospital, SE 581 85 Linkoping, Sweden 2000
- JONES ALAN E., AND. SUMMERS RICHARD L, Detection of isopropyl alcohol in a patient with diabetic ketoacidosis The Journal of Emergency Medicine, Vol. 19, No. 2, pag. 165–168, 2000
- JONES ALAN WAYNE AND ANDERSSON LARS ¿What Interfering Substances Are There in Breath of Apprehended Drivers? Experience Using a 5-Filter Infrared Analyzer (the Evidenzer). Journal **breath**, Sweden (2008) 12, 581 33
- JONES ALAN WAYNE AND ANDERSSON LARS “Determination of ethanol in breath for legal purposes using a five-filter infrared analyzer: studies on response to volatile interfering substances”( Sweden 2008) 12, SE-581 33
- JONES AW AND ROSSNER S “False-positive breath-alcohol test after a ketogenic diet” International Journal of Obesity (Sweden 2007) 31, 559–561
- MANUAL MERK DECIMA EDICIÓN
- MOREYRA PACHAS CARLOS A. “Guía de Laboratorio de Toxicología Farmacéutica UNSAAC. Cátedra de Toxicología de la Carrera Profesional de Farmacia Y Bioquímica. Jefe del Laboratorio de la Unidad de Dosaje Etilico de la Sanidad PNP Santa Rosa, Cusco. 2003 Cusco- Perú
- MENDOZA HUERTA JUAN, El azote mundial del alcoholismo, causas consecuencias y tratamiento, 1ra edición, Editorial Amauta, 1985
- BATRES RAÚL. Director del Instituto Hondureño contra la drogadicción y la fármaco dependencia. (IHADFD). Revistazo.com. Edición 25. 2004. Honduras

- SILVA SILVA, HERNAN. “El Delito de manejar en Estado de Ebriedad”. Prof. Derecho Penal y Medicina Legal Decano de la Facultad de ciencias Jurídicas Y Sociales. Universidad Católica de la Santísima Concepción. Colección estudios Jurídicos, segunda edición. 2000. Chile.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

### FICHA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo ....., con DNI No....., haciendo uso pleno de mis facultades y bajo ningún tipo de presión o coacción AUTORIZO al egresado de la Carrera Profesional de farmacia y Bioquímica Yuri Amaru Quispe Quispe, domiciliado en la Urb. Rosaspata B-3-5 del Distrito de Wanchaq Cusco, para que se me haga una entrevista y un Examen de Dosaje Etilico, para el cual es necesario que se me extraiga muestras de sangre. Pudiendo retirarme en cualquier momento de manera voluntaria del estudio.

Mi participación será con la finalidad de generar datos en la realización de este estudio de investigación cuya tesis lleva por título: "Comparación del método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método de cromatografía de gases en bebedores sociales y determinación de interferentes con especial interés en acetona e isopropanol en sujetos diabéticos abstemios de la ciudad del cusco". Para lo cual doy mi autorización poniendo al pie del presente documento mi firma y huella digital

---

Firma y huella digital del paciente

## ANEXO 2

| <b>FICHA DE EVALUACIÓN</b>   |   |
|--|---|
| <b>1.- DATOS PERSONALES</b><br>Nombre.....<br>Edad.....<br>Sexo .....(M) (F)<br>Lugar de nacimiento.....<br>Dirección.....<br>Tiempo de residencia.....  |   |
| <b>2.- DATOS ANTROPOMETRICOS</b><br>- Peso:.....Kg<br>- Talla: .....m<br>- Edad .....Años  |   |
| <b>3.- INGESTA DE ALCOHOL.</b><br>¿CONSUME USTED BEBIDAS ALCOHOLICAS?<br><br>SI ( )                      NO ( )<br><br>Frecuencia de consumo:<br>a) Diario ( )<br>b) Dos a tres veces por semana ( )<br>c) Semana ( )<br>d) Ocasional ( )<br><br>Volumen de bebida alcohólica consumida:<br>1 vaso (100ml) ( )<br>2 vasos (200ml) ( )<br>3 vasos (300ml) ( )<br>4 vasos (400ml) ( )<br>5 vasos (500ml) ( )<br>6 vasos (600ml) ( )<br>7 vasos (700ml) ( )<br>7 ó mas vasos (>700ml) ( )<br><br>• Tipo de bebida alcohólica consumida :<br>..... |   |
| <b>Resultado del dosaje por el método analítico colorimétrico</b>  | <b>Resultado del dosaje por el método analítico de cromatografía de gases</b> |
|  |   |

### ANEXO 3

| <b>FICHA DE EVALUACIÓN PARA PERSONAS DIABÉTICAS</b>  |   |
|--|---|
| <b>1.- DATOS PERSONALES</b>  |   |
| Nombre.....  |   |
| Edad.....  |   |
| Sexo .....(M) (F)  |   |
| Lugar de nacimiento.....   |   |
| Dirección.....   |   |
| Tiempo de residencia.....  |   |
| <b>2.- PADECE DE OTRA ENFERMEDAD. SI ( ) NO ( )</b>  |   |
| CUAL.....  |   |
| <b>3.- CONSUME MEDICAMENTOS SI ( ) NO ( )</b>  |   |
| CUAL.....  |   |
| <b>4.- DATOS ANTROPOMETRICOS</b>   |   |
| - Peso:.....Kg   |   |
| - Talla: .....m  |   |
| - Edad .....Años   |   |
| <b>6.- INGESTA DE ALCOHOL.</b>   |   |
| ¿CONSUME USTED BEBIDAS ALCOHOLICAS?  |   |
| <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <span>SI ( )</span> <span>NO ( )</span> </div> |   |
| Frecuencia de consumo:   |   |
| a) Diario  | ( )   |
| b) Dos a tres veces por semana   | ( )   |
| c) Semana  | ( )   |
| d) Ocasional   | ( )   |
| Volumen de bebida alcohólica consumida:  |   |
| 1 vaso (100ml)   | ( )   |
| 2 vasos (200ml)  | ( )   |
| 3 vasos (300ml)  | ( )   |
| 4 vasos (400ml)  | ( )   |
| 5 vasos (500ml)  | ( )   |
| 6 vasos (600ml)  | ( )   |
| 7 vasos (700ml)  | ( )   |
| 7 ó mas vasos (>700ml)   | ( )   |
| • Tipo de bebida alcohólica consumida :  |   |
| .....  |   |
| <b>Resultado del dosaje por el método analítico colorimétrico</b>  | <b>Resultado del dosaje por el método analítico de cromatografía de gases</b> |
|  |   |

## ANEXO 4

### DETERMINACIÓN DE LA DOSIS ADMINISTRAR.

La administración de la bebida preparada será en dosis única; los volúmenes de bebida alcohólica a ingerir, se determinarán de acuerdo al peso del voluntario, administrando una dosis de 1,5 ml de etanol por kilo de peso (equivalente a 1,185 gr/Kg) en un tiempo de 30 minutos, para alcanzar el periodo II de la intoxicación alcohólica, ebriedad manifiesta.

Así para el individuo de 55 Kg de peso, se administrarán los siguientes volúmenes:

- Cuba libre: Contenido alcohólico del 20% (20 g de etanol en 100 ml de bebida).

$$\text{Entonces: } 55 \text{ Kg} \times 1,185 \text{ g/Kg} = 65,175 \text{ g de etanol.}$$

$$\begin{array}{l} \text{Ahora si en:} \\ \quad 100 \text{ ml de bebida} \text{ ----- } 20 \text{ g de etanol} \\ \quad X \text{ ml de bebida} \text{ ----- } 65,175 \text{ g de etanol} \\ \quad X = 325,8 \text{ ml de cuba libre.} \end{array}$$

### **ANEXO 5**

| <b>Código</b> | <b>T1</b> | <b>GC HS</b> | <b>Colorimétrico</b> | <b>T2</b> | <b>GC- HS</b> | <b>Colorimétrico</b> |
|---------------|-----------|--------------|----------------------|-----------|---------------|----------------------|
| 1             |           |              |                      |           |               |                      |
| 2             |           |              |                      |           |               |                      |
| 3             |           |              |                      |           |               |                      |
| 4             |           |              |                      |           |               |                      |
| 5             |           |              |                      |           |               |                      |
| 6             |           |              |                      |           |               |                      |
| 7             |           |              |                      |           |               |                      |
| 8             |           |              |                      |           |               |                      |
| 9             |           |              |                      |           |               |                      |
| 10            |           |              |                      |           |               |                      |
| 11            |           |              |                      |           |               |                      |
| 12            |           |              |                      |           |               |                      |
| 13            |           |              |                      |           |               |                      |
| 14            |           |              |                      |           |               |                      |
| 15            |           |              |                      |           |               |                      |
| 16            |           |              |                      |           |               |                      |
| 17            |           |              |                      |           |               |                      |
| 18            |           |              |                      |           |               |                      |
| 19            |           |              |                      |           |               |                      |
| 20            |           |              |                      |           |               |                      |
| 21            |           |              |                      |           |               |                      |
| 22            |           |              |                      |           |               |                      |
| 23            |           |              |                      |           |               |                      |
| 24            |           |              |                      |           |               |                      |
| 25            |           |              |                      |           |               |                      |
| 26            |           |              |                      |           |               |                      |
| 27            |           |              |                      |           |               |                      |
| 28            |           |              |                      |           |               |                      |
| 29            |           |              |                      |           |               |                      |
| 30            |           |              |                      |           |               |                      |
| 31            |           |              |                      |           |               |                      |
| 32            |           |              |                      |           |               |                      |
| 33            |           |              |                      |           |               |                      |
| 34            |           |              |                      |           |               |                      |

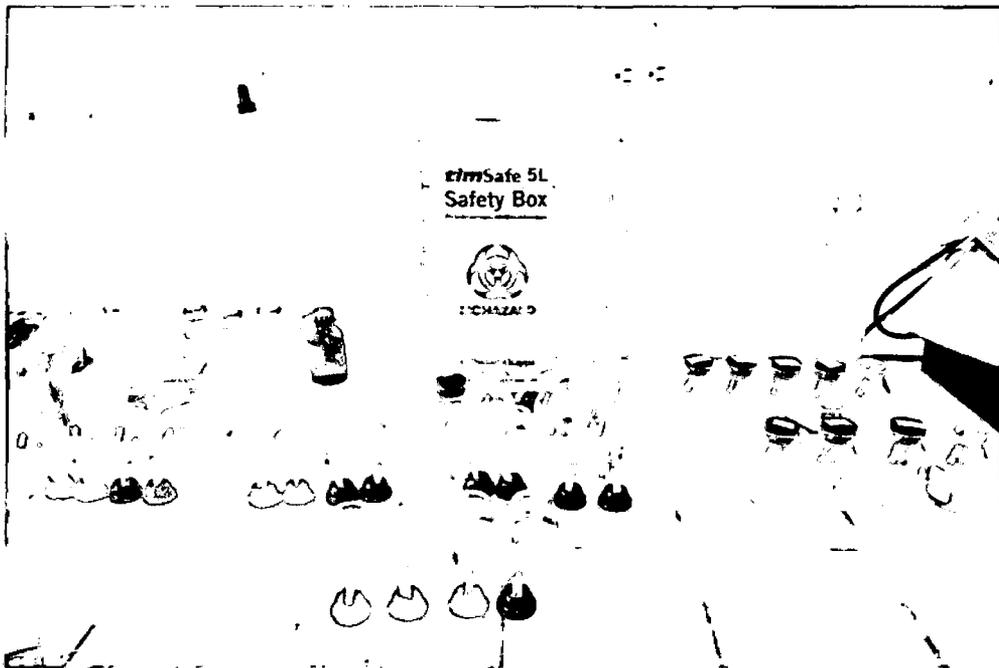
## ANEXO 6



Se colocó exactamente 1.0 mL de la mezcla sulfocrómica en un frasco de 60 mL usando una pipeta graduada, seguidamente se colocó exactamente 0.2 mL de sangre en la tira doblada de papel filtro (método colorimétrico)



Se colocó 200  $\mu$ l de sangre en el frasco que previamente contenía cloruro de sodio para su posterior sellado (método cromatográfico)



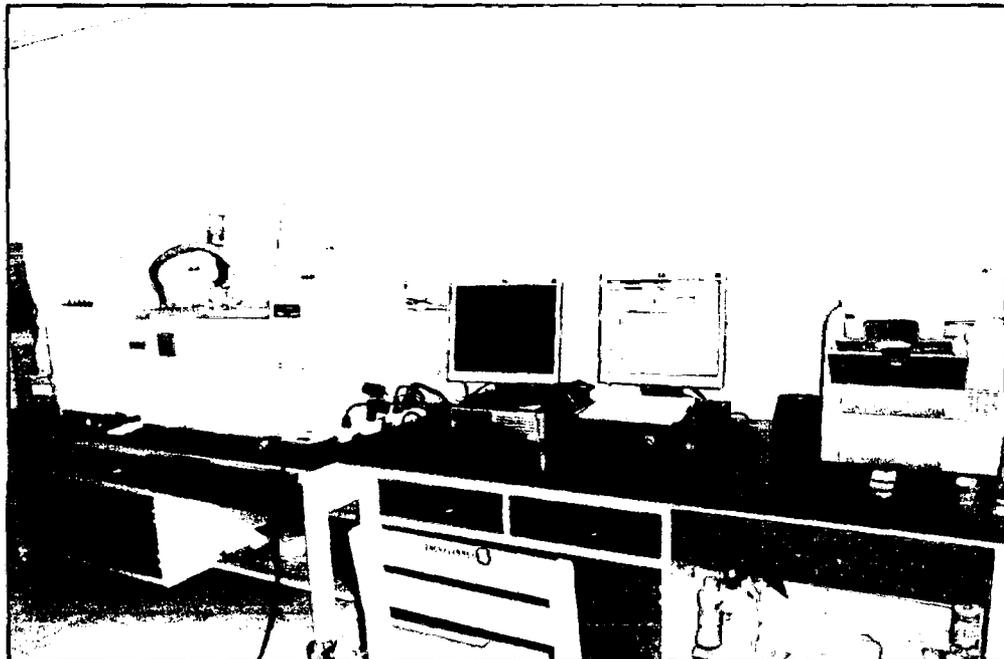
se colocó herméticamente en el frasco que contiene la solución de dicromato de potasio, luego se colocaron las tapas tipo rosca y se llevarán los frascos a baño Maria a ebullición por 10 minutos (método colorimétrico)



Se procedió a sellar el frasco de manera tal que durante el aumento de temperatura, en el equipo, no se pierda cantidad alguna de los analitos (método cromatográfico)



Luego se procedió a su lectura en el espectrofotómetro a 420 nm. Estas se realizaron en comparación con el blanco reactivo (método colorimétrico)



Se toma la muestra con el muestreador espacio cabeza, la muestra se lleva y se inyecta en la columna cromatográfica (método cromatográfico)