



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE
TOXICOLOGIA FORENSE

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-TOX-037

VERSIÓN: 09

Rige desde: 25/07/2023

PAGINA: 1 de 39

| | |
|--|--|
| Elaborado o modificado por: Dra. María de los Ángeles Sancho Brenes Líder Técnico de Sección/Unidad de Confirmatorios y Plaguicidas Dr. Marco Martínez Esquivel Líder Técnico de Sección/Unidad de Trámite Rápido | Revisado por Líder Técnico: Dra. María de los Ángeles Sancho Brenes Líder Técnico de Sección/Unidad de Confirmatorios y Plaguicidas Dr. Marco Martínez Esquivel Líder Técnico de Sección/Unidad de Trámite Rápido |
| Visto Bueno Encargado de Calidad: Dr. Marco Martínez Esquivel Encargado de Calidad de la Sección de Toxicología | Aprobado por: Dr. Diego Arias Alfaro Jefatura, Sección de Toxicología |

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

| Versión | Fecha de Aprobación | Fecha de Revisión | Descripción del Cambio | SCD | Solicitado por |
|----------------|----------------------------|--------------------------|--|------------|-----------------------|
| 01 | 12/06/2017 | 10/04/2018 | Versión Inicial del Procedimiento | 005-2017 | DAA |
| 02 | 10/04/2018 | 15/06/2018 | Cambio en orden de apartado 7. Inclusión de preparación de material de referencia y disoluciones de material de referencia. Ampliación de criterios de identificación en espectrometría de masas. Inclusión de preparación de matrices blanco. | 005-2018 | DAA |
| 03 | 15/06/2018 | 21/05/2019 | Modificación por hallazgo de auditoría interna 2018 | 011-2018 | DAA |



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE
TOXICOLOGIA FORENSE

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-TOX-037

VERSIÓN: 09

Rige desde: 25/07/2023

PAGINA: 2 de 39

| Versión | Fecha de Aprobación | Fecha de Revisión | Descripción del Cambio | SCD | Solicitado por |
|----------------|----------------------------|--------------------------|--|------------|-----------------------|
| 04 | 21/05/2019 | 20/07/2020 | Cambio en referencia por cambio de PONES generales; inclusión de declaración de conformidad y hoja de cálculo relacionada; ampliación de criterios de cuantificación y de identificación de analitos e inclusión de otras matrices blanco. | 011-2019 | DAA |
| 05 | 20/07/2020 | 14/06/2021 | Actualización de referencias del PON, probabilidad de cobertura y definición de control de arrastre. Inclusión de verificación de pH, de reactivos preparados y disoluciones de CRM. | 008-2020 | DAA |
| 06 | 14/06/2021 | 03/08/2021 | Agregar aspectos relacionados con guías y estándares de ANSI/ASB. | 010-2021 | DAA |
| 07 | 03/08/2021 | 05/06/2023 | Cambios por ajuste de documentos generales del SGC | 013-2021 | MME |
| 08 | 05/06/2023 | 25/07/2023 | Cambios por hallazgos de auditoría interna e inclusión de aspectos sobre cuantificación por LCMS | 004-2023 | DAA |
| 09 | 25/07/2023 | | Inclusión de ejemplo de factor de cobertura para una distribución rectangular, modificación de forma de expresar la probabilidad de cobertura y aclaración de criterios de cuantificación generales y por LC/MS. | 008-2023 | DAA |

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

| | | |
|--|-------------------|-------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 3 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

1 Objetivo:

El objetivo de este PON es establecer los criterios de aceptación y procesos de aseguramiento de la calidad en el manejo general de casos recibidos en la Sección de Toxicología, del DCF, del O.I.J. de Costa Rica.

2 Alcance:

El alcance de este procedimiento contempla el manejo de casos relacionados con Investigaciones de causa de muerte, delitos facilitados por drogas (asaltos sexuales, robos, homicidios, lesiones, entre otros), infracción a Ley de Tránsito, infracción a la Ley de Psicotrópicos, causas relacionadas con delitos ambientales, entre otros casos donde se solicitan análisis de alcohol, drogas, medicamentos, plaguicidas, sustancias volátiles, venenos y otras sustancias en matrices biológicas y matrices ambientales; en la Sección de Toxicología, del DCF, del O.I.J. de Costa Rica.

3 Referencias:

- 3.1 ANSI/ASB Standard 017, Standard Practices for Measurement Traceability in Forensic Toxicology, First Edition, 2018.
- 3.2 ANSI/ASB Standard 036, Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology, First Edition, 2019.
- 3.3 ANSI/ASB Standard 037, Guidelines for Opinions and Testimony in Forensic Toxicology, First Edition, 2019.
- 3.4 ANSI/ASB Standard 053, Standard for Report Content in Forensic Toxicology, First Edition, 2020.
- 3.5 Forensic Toxicology Laboratory Accreditation Manual. American Board of Forensic Toxicology (ABFT). May, 2013.
- 3.6 Martínez, M.A. Criterios cualitativos en toxicología forense. Rev Esp Med Legal. 2012; 38(2): 68-75.
- 3.7 Martínez, M.A. Criterios cuantitativos en toxicología forense. Rev Esp Med Legal. 2014; 40(1): 30-38.
- 3.8 Minimum Criteria for Chromatographic-Mass Spectrometric Confirmation of the Identity of Analytes for Doping Control Purposes. WADA Technical Document – TD2015IDCR. WADA Laboratory Expert Group. May, 2015.
- 3.9 Quality Assurance, Toxicology Procedures Manual. Department of Forensic Science. Virginia, USA. DFS Document 220-D100, 21-February-2020.
- 3.10 Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX). 2013. Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. J Anal Toxicol, 37:452–474.
- 3.11 Toxicology Quality Guidelines, Toxicology Procedures Manual. Department of Forensic Science. Virginia, USA. DFS Document 220-D100, 2015.
- 3.12 JCGM 106:2012: Evaluación de Datos de medición. El papel de la incertidumbre de medida en la evaluación de la conformidad. Centro Español de Metrología. Madrid España. Primera edición en español 2015.

| | | |
|--|-------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 4 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

4 Equipos y Materiales:

Agitador de tubos de ensayo por inversión (rotatorio).

Balanza analítica, rango 0,00001 a 30 gramos ($\pm 0,00001$ gramos) y de 30 a 120 gramos ($\pm 0,0001$ gramos), similar o superior.

Balanza granataria, rango de 0 a 600 gramos ($\pm 0,01$ gramos), similar o superior.

Balanza semianalítica, rango 0,001 a 200 gramos ($\pm 0,001$ gramos), similar o superior.

Balones aforados de volumen adecuado para la disolución preparada

Beaker de 2 L.

Cabina de Bioseguridad Clase 2-B2.

Cámara de Bioseguridad tipo I.

Capilla de extracción de gases.

Congelador ($\leq 0^{\circ}\text{C}$).

Formulario Control de Reactivos Críticos

Formulario Para Reactivos Preparados.

Formulario "Registro de condiciones de temperatura de un área de trabajo"

Formulario "Registro de preparación de disoluciones"

Formulario "Registro del respaldo de la información de equipos instrumentales"

Formulario "Registro de temperatura de equipo de congelación"

Formulario "Registro de temperatura de equipo de refrigeración"

Formulario "Registro de uso y control de material de referencia"

Formulario "Registro de uso y preparación de disoluciones madre individuales"

Formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de masa"

Formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de pH".

Formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de temperatura"

Formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de volumen"

Formulario "Análisis y seguimiento de trabajo no conforme, acciones preventivas (NCAP)"

Gabacha.

Guantes desechables.

Hoja de cálculo "Estimación de la probabilidad que un valor se encuentre por debajo o por encima de un límite de tolerancia", versión vigente, elaborada por el Dr. Marco Antonio Martínez Esquivel.

Homogeneizador de tejidos IKA Ultra Turrax T-18 o con tubos mezcladores desechables o similar.

Horno de laboratorio, rango 20-240° C ($\pm 10^{\circ}$ C).

Juegos de Masas clase E2 (OIML) rango de masas de 1 mg a 1 kg o similar.

Lentes de seguridad.

Listado de análisis estándar por tipo de caso de la Sección de Toxicología

| | | |
|--|-------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 5 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGÍA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

Listado de límites administrativos o de decisión (LA) o de reporte de las sustancias analizadas en la Sección de Toxicología.

Listado de reactivos críticos de la Sección de Toxicología.

Listado de tipos de caso de la Sección de Toxicología.

Listado de Tolerancias de los equipos de la Sección de Toxicología

Pinza de disección con punta diente de ratón o similar.

Refrigerador (> 0 a 10°C).

Solicitud de dictamen pericial F083i.

Medidor de temperatura digital de al menos 10 a 40 °C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$).

Termómetro líquido en vidrio de mercurio de inmersión parcial, rango de -8 a $+32^\circ\text{C}$, división de $0,1^\circ\text{C}$, o similar.

Termómetro Testo 175T2, rango dual (interno de -35 a $+55^\circ\text{C}$ y externo: -40 a $+120^\circ\text{C}$), división de $0,1^\circ\text{C}$, o similar.

Tijera de disección.

Tubos plásticos con tapa rosca de 2 mL, o similar.

Tubos plásticos con tapa rosca de 15 mL, o similar.

Tubos plásticos con tapa rosca de 50 mL, o similar.

Tubos al vacío con anticoagulante y NaF como preservante.

Viales de volumen adecuado a la disolución preparada con tapa de teflón.

Vidrio de reloj.

Lave la cristalería y materiales reutilizables de acuerdo con lo indica en el punto 7.1 de este procedimiento.

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

Acetona p.a.r.

Agua de grifo.

Agua desionizada.

Agua tipo I (Milli Q) con resistividad mínima de $18 \Omega/\text{cm}$ o agua calidad LC/MS.

Bandejas o cajas plásticas para transporte de tubos o recipientes con muestras

Contenido gástrico blanco.

Disolución amortiguadora de referencia o certificada de pH, con valores de pH entre 4 a 10, o similar

Etanol al 95% grado reactivo.

Gradillas plásticas para transporte de tubos.

Hígado de vaca (blanco).

Humor vítreo humano o animal (blanco).

Jabón alcalino para lavado de cristalería (Extran® alcalino o similar).

Metanol p.a.r., HPLC o LC/MS.

Músculo de vaca (blanco).

| | | |
|--|-------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 6 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGÍA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

Orina humana (blanco).
 Riñón de vaca (blanco).
 Sangre humana o animal (blanco).

6 Condiciones Ambientales:

| No. | Condición ambiental | Valor mínimo | Valor máximo | Otras características |
|-----|---|-------------------------------|-------------------------------|--|
| 1 | Temperatura en la verificación de volumen | 18 °C | 25 °C | Se documenta durante el proceso |
| 2 | Temperatura en la preparación de matrices blanco | No es crítico para el proceso | No es crítico para el proceso | Se debe utilizar cámara de bioseguridad tipo I o cabina de bioseguridad clase 2-B2 |
| 3 | Temperatura en la preparación de disoluciones a partir de CRM | 18 °C | 30 °C | Se documenta durante el proceso |

7 Procedimiento:

Nota 01: Este procedimiento trata aspectos específicos relacionados con casos de toxicología forense, la forma general de proceder con la solicitud y los indicios de los casos debe realizarse de acuerdo con lo indicado en el PON general GESTIÓN DE SOLICITUDES Y MANEJO DE INDICIOS.

Nota 02: Para definir el o los análisis a realizar en un caso determinado, cuales matrices emplear, la priorización en el uso de diferentes matrices recibidas o la selección de muestras (cuando se reciben varios recipientes de la misma matriz) se debe utilizar la información suministrada en la SOLICITUD DE DICTAMEN PERICIAL PARA EL DCF (formulario F083i) y en el Listado de tipos de caso de la Sección de Toxicología.

Nota 03: El Aseguramiento de Calidad en Toxicología Forense pretende establecer los procesos de monitoreo de los parámetros críticos del proceso de análisis, para mantener la confiabilidad de los resultados analíticos, tratando de prevenir los problemas antes de que sucedan. Dado que la mayoría de las muestras en toxicología forense están limitadas en cantidad o volumen, es altamente deseable minimizar la necesidad de repetir el análisis debido al fallo del equipo, los materiales o los reactivos. Se debe informar cualquier comportamiento inaceptable o anómalo de cualquier sistema analítico inmediatamente a su Líder Técnico, para que las acciones apropiadas se lleven a cabo lo antes posible y se documenten adecuadamente.

7.1 Lavado manual o automático de cristalería y material plástico reutilizable.

7.1.1 Para el lavado de cristalería y materiales para análisis de sustancias volátiles referirse al PON DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE SUSTANCIAS VOLÁTILES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR HS-GC-FID/FID.

| | | |
|--|-------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 7 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- 7.1.2** Lave la cristalería reutilizable con jabón alcalino, enjuague con agua de grifo, tres veces con agua desionizada y una vez con etanol al 95%. Hornee a 140° C por lo menos dos horas.
- 7.1.3** Las probetas y los balones no deben hornearse, deben colocarse invertidas para que escurran y esperar a que estén secas. Para lavado en Lavadora de Cristalería siga las instrucciones del manual respectivo y los programas de lavado.
- 7.1.4** Lave el material plástico o metálico reutilizable con jabón alcalino, enjuague con agua de grifo, tres veces con agua desionizada y una vez con etanol al 95%. Colóquelas invertidas para que escurran y esperar a que estén secas. La jeringa de vidrio solo debe enjuagarse con acetona y metanol de lavado.

7.2 Gestión y requisitos generales de Equipos de Laboratorio.

- 7.2.1** Todos los equipos críticos usados en el laboratorio deben ser calibrados o verificados de la forma establecida en el PON General: Control de instrumentos de medición, aparatos auxiliares y patrones de medición. Las verificaciones intermedias se deben realizar utilizando equipo calibrado.
- 7.2.2** En el Listado de Tolerancias de los equipos de la Sección de Toxicología se pueden observar las tolerancias máximas permitidas para los equipos utilizados en la sección.
- 7.2.3** Si durante la verificación intermedia de un equipo, él mismo no cumple con los criterios de aceptación o tolerancia establecida siga lo indicado en el PON General: Control de instrumentos de medición, aparatos auxiliares y patrones de medición.
- 7.2.4** Siga las instrucciones generales indicadas en este PON y las indicaciones específicas en los formularios de registro de verificaciones intermedias de equipos de medición para realizar las verificaciones de volumen, masa, temperatura y pH.
- 7.2.5** Registre las verificaciones intermedias de los equipos volumétricos realizadas en el periodo entre calibraciones en el formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de volumen".
- 7.2.6** Si se trata de un dilutor, encienda el dilutor y realice el proceso de cebado de las vías con agua desionizada. Si se trata de una micropipeta, solicite la micropipeta a verificar y verifique que cuenta con las puntas requeridas.
- 7.2.7** Para la verificación de los equipos volumétricos debe realizarse la medición de masa de los volúmenes de agua desionizada dispensados por el equipo volumétrico. Utilice una balanza semimicroanalítica para realizar las mediciones de masa.
- 7.2.8** Si la balanza se encuentra apagada, enciéndala aproximadamente media hora antes de la verificación. Verifique que la balanza se encuentra dentro del periodo de calibración vigente.
- 7.2.9** Realice la medición de las masas de los volúmenes dispensados mínimo por triplicado y anote las mediciones. Anote la temperatura del cuarto donde se realiza la verificación antes y después de las mediciones.
- 7.2.10** Anote el dato de la densidad del agua a la temperatura que se realizó las mediciones. Anote además la corrección de la balanza acorde a la masa medida del recipiente y el agua dispensada.
- 7.2.11** Verifique por medio del gráfico, las tolerancias del equipo y los valores obtenidos de la medición de volumen que el equipo se mantiene dentro de la tolerancia establecida.
- 7.2.12** La precisión y la exactitud del equipo volumétrico debe estar idealmente dentro de la tolerancia especificada por el fabricante o presentar una variación máxima de CV% y sesgo% de $\pm 5\%$. Para volúmenes pequeños (menos de 20 μL), la variación máxima de CV% y sesgo% puede ser de $\pm 10\%$.

| | | |
|--|-------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 8 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- 7.2.13** Registre las verificaciones intermedias de las balanzas realizadas en el periodo entre calibraciones en el formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de masa".
- 7.2.14** La verificación de las balanzas debe realizarse pesando masas patrón.
- 7.2.15** Si la balanza se encuentra apagada, enciéndala aproximadamente media hora antes de la verificación.
- 7.2.16** Solicite el juego de masas patrón y verifique que se encuentra dentro del periodo de calibración vigente.
- 7.2.17** Realice la medición de las masas mínimo por triplicado y anote las mediciones.
- 7.2.18** Verifique por medio del gráfico, las tolerancias del equipo y los valores obtenidos de la medición de masa que el equipo se mantiene dentro de la tolerancia establecida.
- 7.2.19** El valor medido de la masa patrón debe encontrarse como máximo dentro de la tolerancia de clase permitida para la balanza evaluada.
- 7.2.20** Registre las verificaciones realizadas a los termómetros en el formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de temperatura".
- 7.2.21** La verificación de los termómetros debe realizarse contra un termómetro calibrado y con trazabilidad certificada, utilizado solo para esta función.
- 7.2.22** El equipo debe verificarse en la temperatura normal de uso (refrigeración, congelación, ambiente, baño temperado, horno, etc.), por medio de una comparación de la medición contra un termómetro patrón que incluya en su ámbito de medición la temperatura verificada.
- 7.2.23** Solicite el termómetro patrón y verifique que se encuentra dentro del periodo de calibración vigente.
- 7.2.24** Coloque ambos termómetros o las sondas en el lugar con la temperatura de verificación correspondiente (refrigeradora, congelador, cuarto con temperatura ambiente, baño temperado, horno, etc.). Deje los termómetros en dicho lugar mínimo aproximadamente 1 hora antes de realizar las mediciones.
- 7.2.25** Realice la medición de las temperaturas de ambos termómetros como mínimo por triplicado y anote las mediciones.
- 7.2.26** Verifique por medio del gráfico, las tolerancias del equipo y los valores obtenidos de la diferencia en la medición de temperatura, que el equipo se mantiene dentro de la tolerancia establecida.
- 7.2.27** La tolerancia máxima permitida para los termómetros es una variación de ± 2 °C. La tolerancia máxima permitida para las temperaturas mostradas en las pantallas digitales de los evaporadores y baños maría es una variación de ± 4 °C.
- 7.2.28** Registre las verificaciones intermedias de los equipos de medición de pH realizadas en el periodo entre calibraciones en el formulario "Registro de verificaciones intermedias de equipos de medición de pH".
- 7.2.29** La verificación del equipo de medición de pH debe realizarse midiendo el valor de pH de disoluciones amortiguadoras de referencia o certificadas de pH. Idealmente debe utilizarse una disolución amortiguadora de referencia o certificada de pH diferente a la utilizada en la calibración del equipo. Como mínimo realice tres mediciones del valor de pH de la disolución.
- 7.2.30** La tolerancia permitida para el valor medido es una variación máxima de $\pm 0,1$ del valor de pH de la disolución de referencia o certificada.

| | | |
|--|-------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 9 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

7.3 Gestión de verificaciones de temperatura en áreas de trabajo y en equipos de refrigeración o congelación.

- 7.3.1** Verifique y registre periódicamente (mínimo una vez por día hábil) la temperatura de un área de trabajo, si se considera un parámetro crítico para la labor desarrollada en esa área.
- 7.3.2** Registre la temperatura del área utilizando el formulario "Registro de condiciones de temperatura de un área de trabajo". Las condiciones de temperatura requeridas de un área de trabajo estarán establecidas en el PON específico de un determinado análisis.
- 7.3.3** Para la medición de la temperatura en un área de trabajo idealmente debe utilizarse un termómetro calibrado y con trazabilidad certificada, o al menos utilizar un termómetro que es verificado periódicamente contra un termómetro calibrado y con trazabilidad certificada.
- 7.3.4** Verifique y registre periódicamente (mínimo una vez por día hábil) la temperatura de los refrigeradores y congeladores utilizados para almacenar muestras o reactivos críticos.
- 7.3.5** Registre la temperatura de los equipos de refrigeración utilizando el formulario "Registro de temperatura de equipo de refrigeración". El rango aceptable de temperatura de refrigeración es de >0 a 10 °C.
- 7.3.6** Registre la temperatura de los equipos de congelación utilizando el formulario "Registro de temperatura de equipo de congelación". El rango aceptable de temperatura de congelación es ≤ 0 °C.
- 7.3.7** Las condiciones de temperatura requeridas para el almacenaje de una muestra particular o reactivo crítico particular estarán establecidas en el PON específico de un determinado análisis.
- 7.3.8** Para la medición de la temperatura de los equipos de refrigeración o congelación idealmente debe utilizarse un termómetro calibrado y con trazabilidad certificada, o al menos utilizar un termómetro que es verificado periódicamente contra un termómetro calibrado y con trazabilidad certificada.
- 7.3.9** El monitor externo digital de temperatura de un refrigerador o congelador puede ser utilizado para el monitoreo de temperatura, siempre y cuando su medición haya sido verificada periódicamente contra un termómetro calibrado y con trazabilidad certificada.
- 7.3.10** Si la temperatura de un equipo de refrigeración está por debajo de 2 °C o supera 8 °C o si la temperatura de un equipo de congelación supera los -2 °C, ajuste el termostato del equipo para prevenir que la temperatura se salga del rango aceptable. Además, realice un monitoreo más estricto de la temperatura de la unidad (diariamente con mediciones mañana y tarde) durante la semana siguiente para asegurar que el ajuste del termostato fue efectivo.
- Si posterior al ajuste del punto anterior la temperatura del equipo mantiene la tendencia a salirse del rango aceptable, o cuando un equipo presenta temperaturas fuera del rango aceptable (ejemplo: congelador por encima de 0 °C, refrigerador por debajo de 0 °C o por encima de 10 °C); comuníquese la situación al Líder Técnico y Jefe de Sección, para que se valore y se tomen las medidas correctivas requeridas.
- 7.3.11** Las medidas correctivas a realizar son:
- Traslade las muestras o reactivos almacenados a otro equipo en buen funcionamiento.
 - Identifique al equipo como fuera de servicio.
 - Gestione la revisión y reparación del equipo.
 - Registre el hallazgo y las medidas correctivas en un formulario NCAP.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 10 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Verifique los reactivos críticos si fueron expuestos a temperaturas muy superiores al rango aceptable (por ejemplo, congelador o refrigerador que llegaron a temperatura ambiente), antes de su uso en el análisis de casos, de la misma manera en la que se verifican los reactivos críticos antes de su primer de uso.
- Si las muestras almacenadas fueron expuestas a temperaturas muy superiores al rango aceptable (por ejemplo, congelador o refrigerador que llegaron a temperatura ambiente) durante cuatro horas o más, registre en el legajo de los casos de las muestras afectadas una anotación que indique lo ocurrido y la referencia del formulario NCAP generado.

7.4 Gestión de reactivos:

- 7.4.1** Los reactivos químicos para análisis cualitativos o cuantitativos deben ser grado reactivo analítico (p.a.) o superior.
- 7.4.2** Los solventes deben ser de alta calidad y de bajos residuos según el análisis donde se utilizarán (ejemplo: grado HPLC, grado LC-MS).
- 7.4.3** El agua para la preparación de los reactivos debe ser desionizada o en el caso de reactivos de LC/MS debe utilizarse agua tipo I (Mili Q).
- 7.4.4** Todos los reactivos críticos recibidos deben ser revisados cuando ingresan en la sección, de detectarse algún inconveniente (por ejemplo: fecha de vencimiento que no cumple, derrames, envase dañado, etc.), proceda a comunicarlo a la jefatura de Sección y actuar según lo descrito en el procedimiento Gestión de compras.
- 7.4.5** Los reactivos críticos utilizados en la sección de toxicología normalmente vienen en presentaciones selladas e identificados por números de lote específicos, no deben ser abiertos ni verificados al ingreso a la sección para evitar deterioro del reactivo. Deben ser verificados al momento del primer uso de un nuevo lote, registre la verificación en el formulario Control de Reactivos Críticos. Verifique el reactivo crítico utilizando el mismo dentro del proceso de montaje de una secuencia de análisis del procedimiento respectivo.
- 7.4.6** En el caso de recibir varios reactivos del mismo lote, solo se registra la verificación inicial del lote en el formulario Control de Reactivos Críticos.
- 7.4.7** El buen funcionamiento de un lote de un reactivo crítico, durante el tiempo de vida del producto, se evidencia con la verificación de los controles de todas las secuencias de análisis del procedimiento respectivo donde es utilizado. Quedando registro en los formularios de trabajo de cada caso y en los registros de análisis en serie la verificación de dichos controles.
- 7.4.8** Los reactivos y materiales deben ser manejados, transportados y almacenados siguiendo las indicaciones del fabricante para mantener la calidad de estos.
- 7.4.9** La forma en la que se preparan y los plazos de vigencia de los reactivos debe ser la establecida en el PON específico de cada metodología.
- 7.4.10** La preparación de un reactivo crítico debe ser registrada en el Formulario Para Reactivos Preparados o en el Formulario "Registro de preparación de disoluciones", indicando los componentes que se requieren para la preparación del reactivo y demás datos del formulario que permitan dar trazabilidad a la preparación de este. En el apartado de observaciones debe registrarse la verificación del funcionamiento del reactivo preparado. Verifique el reactivo preparado utilizando el mismo dentro del proceso de montaje de una secuencia de análisis o curva de calibración del procedimiento respectivo.
- 7.4.11** Como lo indica el Manual de Calidad del DCF, la etiqueta de los reactivos debe indicar o tener una referencia donde se indica: datos como el nombre del reactivo, su concentración (cuando aplica), fecha de preparación y/o vencimiento, identificación de quién lo prepara, condiciones de almacenamiento (si son requeridas), advertencias sobre su uso (cuando es requerido).

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 11 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

Estos dos últimos puntos pueden estar referenciados con el código del reactivo al Listado de reactivos críticos de la Sección de Toxicología.

7.4.12 Todos los reactivos deben ser reemplazados cuando alcancen su fecha de vencimiento o cuando falle el control de calidad de estos.

7.4.13 Cuando un lote de inmunoensayo de flujo lateral (prueba rápida inmunocromatográfica) cumpla su período de vigencia, deberá verificarse su funcionamiento contra controles positivos y negativos de las drogas analizadas, registre esta verificación en el formulario Control de Reactivos Críticos. Posterior a esta verificación, durante el tiempo de uso del producto posterior a su vigencia original, se evidencia el buen funcionamiento del lote con la verificación de los controles de todas las secuencias de análisis del procedimiento respectivo donde es utilizado. Quedando registro en los formularios de trabajo de cada caso y en los registros de análisis en serie la verificación de dichos controles.

7.5 Gestión de Materiales de Referencia.

7.5.1 Los materiales de referencia utilizados para preparar controles y calibradores deben estar certificados (CRM) de tal manera que se garantice la identidad de los analitos que contienen. Existen CRM sólidos, disoluciones o en matriz.

7.5.2 Idealmente, los materiales de referencia deben ser adquiridos de vendedores acreditados (bajo normas como ISO/IEC 17025, ISO Guide 34, ISO 17034 o ISO 13485) y solicitar el Certificado de Análisis para tener datos de tipo de acreditación, trazabilidad, pureza, exactitud, precisión y homogeneidad.

7.5.3 Los materiales de referencia deben ser almacenados de tal forma que se preserve su calidad. En general, los sólidos se mantienen a temperatura ambiente o refrigeración, las disoluciones acuosas se mantienen en refrigeración de 0-10°C y las disoluciones metanólicas se mantienen a menos de 0°C, excepto que se indique otra cosa en el PON específico o en el material específico.

7.5.4 Todos los materiales de referencia deben llevarse a temperatura ambiente antes de iniciar el análisis, al menos de que se indique algo diferente en el PON específico.

7.5.5 La forma en la que se preparan y los plazos de vigencia de los materiales de referencia y sus disoluciones de trabajo debe ser la establecida en el PON específico de cada metodología.

7.5.6 Los materiales de referencia deben estar inventariados. Cada registro debe contener al menos el nombre de la sustancia, código de identificación única interno, número de lote (cuando esté disponible) y fecha de caducidad.

7.5.7 Cuando ingrese un material de referencia complete el formulario de "Registro de Uso y control de Material de Referencia", registrando toda la información solicitada en dicho formulario.

7.5.8 Para análisis cuantitativo idealmente se debe utilizar CRM vigentes, tanto para el control positivo como para la curva de calibración. Si solo se cuenta con una fuente de CRM vigente, esta debe usarse como control y preparar la curva de calibración con el otro material que haya sido previamente comparado con el vigente y muestre una respuesta dentro del $\pm 20\%$ con respecto a la otra fuente.

7.5.9 Para análisis cualitativo es posible utilizar CRM después del período de vigencia siempre y cuando se analice y cumpla con los criterios de identificación de la sustancia para el PON específico.

7.5.10 Cuando se trasvasen materiales de referencia a viales adquiridos en el laboratorio para almacenamiento de estos, se traslada el período de vigencia establecido por el proveedor manteniendo las condiciones especificadas por éste (Refrigeración o congelación).

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 12 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

7.6 Gestión de disoluciones preparadas a partir de CRM.

- 7.6.1** Utilice para la preparación de disoluciones de CRM (calibradores y otros) equipo volumétrico de clase A, calibrado al menos una vez cada 10 años por un proveedor de servicios de calibración acreditado ISO17025. Utilice dicha cristalería exclusivamente para dicho fin y almacénela de tal forma que se proteja su integridad (almacenada en un área destinada únicamente para dicho fin e identificada como tal).
- 7.6.2** La preparación de todas las disoluciones de CRM en el laboratorio ya sean disoluciones individuales o mezclas de analitos deben quedar registrados en los siguientes formularios: Formulario "Registro de uso y preparación de disoluciones madre individuales" y Formulario "Registro de preparación de disoluciones".
- 7.6.3** En los formularios del punto anterior, deben registrarse los datos de todos los CRM y equipos de medición usados durante la preparación de la disolución de CRM: junto a los demás datos del formulario que permitan dar trazabilidad de la preparación. En el apartado de observaciones debe registrarse la verificación del funcionamiento de la disolución de CRM preparada. Verifique la disolución de CRM preparada utilizando la misma dentro de un proceso de análisis del procedimiento respectivo.
- 7.6.4** En el caso de preparación de lotes de disoluciones de CRM que se van a utilizar como controles de un análisis cuantitativo, idealmente deben ser verificadas contra calibradores preparados de otra fuente.
- 7.6.5** Cuando una disolución de CRM cumpla su período de vigencia indicada en el PON específico deberá analizarse y cumplir los criterios de identificación de la sustancia para el PON específico, dando a la disolución una vigencia igual al período original.
- 7.6.6** El descarte debe realizarse según lo indicado en el Manual de Seguridad y Salud ocupacional del DCF.
- 7.6.7** Preparación de disoluciones a partir de CRM sólidos.
- Pese la cantidad necesaria del CRM en un balón aforado. Registre los datos en el formulario anteriormente indicado.
 - Agregue el disolvente indicado en el PON técnico específico. Verifique la total disolución del sólido.
 - Lleve hasta el nivel de aforo con más disolvente.
 - Tape el balón herméticamente y homogenice la disolución.
 - Calcule la concentración utilizando los formularios respectivos (ver fórmulas de cálculo en anexo 1), tomando en cuenta la pureza del material y la especie química (por ejemplo, conversión de hidrocloreuro en droga base si es necesario).
 - Trasvase la solución en viales adecuados con tapa de teflón. Rotule con código único de identificación interno e indique o haga referencia a nombre de la sustancia o mezcla de sustancias, concentración, fecha de preparación, iniciales de quién lo preparó.
 - Almacene el CRM en las condiciones indicadas por el fabricante y la disolución preparada en las condiciones especificadas en el PON técnico específico (refrigeración o congelación).
- 7.6.8** Preparación de disoluciones a partir de CRM líquidos.
- Tome el volumen adecuado del CRM con un equipo volumétrico adecuado y deposítelo dentro del balón. Registre en "Registro de uso y preparación de disoluciones madre individuales" o Formulario "Registro de preparación de disoluciones".
 - Adicione al balón aforado, el disolvente indicado en el PON técnico específico.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 13 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Verifique que los dos líquidos sean miscibles.
- Lleve hasta el nivel de aforo con más disolvente.
- Tape el balón herméticamente y homogenice la disolución.
- Trasvase la solución en viales adecuados con tapa de teflón. Rotule con código único de identificación interno e indique o haga referencia a nombre de la sustancia o mezcla de sustancias, concentración, fecha de preparación, iniciales de quién lo preparó.
- Almacene el CRM en las condiciones indicadas por el fabricante y la disolución preparada en las condiciones especificadas en el PON técnico específico (refrigeración o congelación).
- Calcule la concentración utilizando los formularios respectivos (ver fórmulas de cálculo en anexo 1).

7.7 Gestión de Bases de Datos de Referencia.

7.7.1 Las bases de datos de referencia sean compradas (colecciones de referencia) o creadas en el laboratorio, que son utilizadas para identificación, comparación o interpretación, deben estar identificadas de forma única. Una base de datos de referencia debe tratarse como un patrón de referencia, con acceso limitado del personal.

7.7.2 Las bases de datos compradas (colecciones de referencia) están documentadas e identificadas de forma única. No debe hacerse ningún cambio a estas colecciones de referencia. Ejemplos de bases de datos utilizadas a nivel forense son: GC/MS ENFSI, GC/MS AAFS, GC/MS TIAF, GC/MS Cayman Chemical, GC/MS SWGDRUG. NIST, MFW.

7.7.3 Para las bases de datos creadas en el laboratorio, cada entrada tiene un número único asignado por el software del instrumento. Esas bases de datos pueden ser generadas o modificadas por quien designe el jefe de la Sección.

7.7.4 La información mínima que debe incluirse en cada entrada a la base de datos creada en el laboratorio es la siguiente: nombre del compuesto, identificación o referencia al CRM utilizado, fecha e iniciales de la persona que ingresa el dato.

7.8 Manipulación y almacenamiento de indicios:

Nota 04: Un proceso correcto de selección, recolección, preservación y almacenamiento de las muestras biológicas para el análisis toxicológico es importante para que los resultados analíticos sean precisos y sus interpretaciones posteriores sean científicamente válidas.

7.8.1 Recolección o toma de muestras a pacientes:

- Utilice, en el caso de toma de muestras a pacientes, la información obtenida para el caso (Ver Nota 02 de este procedimiento) y lo estipulado en el PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS EN PACIENTES de la Sección de Toxicología, para recolectar las muestras adecuadas para el caso en cuestión.

7.8.2 Manipulación:

- Manipule las muestras con todos los cuidados que requieren las muestras de origen biológico: uso de guantes, gabachas, lentes de seguridad.
- Evite exponer las muestras a altas temperaturas, como por ejemplo plantillas de calentamiento o mecheros encendidos, o dejarlas cerca de la luz del sol.
- Transporte los tubos o recipientes con muestras dentro del laboratorio o desde un área de recolección de la muestra en las gradillas, bandejas o cajas plásticas destinadas para este uso.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 14 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Cuando se tenga un indicio en custodia durante un proceso de análisis y sea necesario retirarse por un breve período, debe colocarse un rótulo que indique que hay muestras en proceso y no se deben tocar, o pídale a un compañero que las custodie en su ausencia.

7.8.3 Indicios recibidos:

- Utilice la información expuesta en el Listado de tipos de caso de la Sección de Toxicología para identificar, de acuerdo con el tipo de caso, la cantidad y tipo de muestra recomendada a recolectar y enviar en un caso de toxicología forense.
- Priorice los análisis si se recibe poca cantidad de muestra. En estos casos puede ocurrir que no se completen todos los análisis solicitados por lo que hay que definir cuales aportan más información. Ver nota 2. Reporte dicha situación, en caso de presentarse, en el dictamen pericial indicando cuales análisis no se pudieron realizar.
- Documente en la descripción de los indicios el tipo de tubo de las muestras recibidas o recolectadas. Las muestras de sangre para análisis de drogas de abuso y volátiles idealmente deben ser tomadas en tubos con tapón gris (oxalato de potasio y fluoruro de sodio) para preservarlas.
- Documente las horas de toma de muestra en el dictamen cuando las muestras biológicas son recolectados en hospitales o clínicas ya que las diferencias en los tiempos de recolección pueden afectar la interpretación de los resultados.
- Recomiende en el caso de las muestras post-mortem el etiquetado con tipo de muestra (sangre, orina, bilis, etc.) y la localización de la recolección de muestras de sangre (iliaca, intracardiaca, subclavia). La falta de información en la rotulación de las muestras post-mortem limita el valor y la interpretación de los resultados toxicológicos.

7.8.4 Almacenamiento de muestras biológicas:

- Inspeccione toda muestra biológica recibida para verificar que toda la información adjunta concuerda y que el indicio venga en las condiciones adecuadas para el análisis toxicológico. Documente en los registros del caso en el SADCF, si se observa alguna inconsistencia o incongruencia.
- Almacene las muestras líquidas (sangre, orina, entre otras), contenidas en recipientes de vidrio o plástico con volumen \leq a 10 mL, en la bodega de indicios a menos de 10 °C (congelación o refrigeración dependiendo del espacio en los refrigeradores y congeladores de la bodega de indicios). Almacene las muestras líquidas, sólidas o semisólidas (coágulo, riñón, hígado, músculo, etc.) contenidas en recipientes de plástico con volumen mayor a 10 mL en la bodega de indicios en congelación a menos de 0 °C.
- Recuerde que durante el periodo de tiempo que las muestras se encuentren en la sección, deben ser custodiadas dentro de la bodega de indicios con acceso restringido o dentro del área de custodia intermedia. En el caso de custodia intermedia todas las muestras se almacenan en refrigeración.
- Antes de cualquier traslado de muestras (objetos) entre personas funcionarias, utilice una etiqueta que cubra el recipiente y su tapa y firme sobre la etiqueta de manera que pueda evidenciarse la última persona que tuvo en custodia la muestra y que no ha sido abierta.
- Tome en cuenta que a los objetos o indicios en custodia intermedia debe tener acceso solamente la persona que tiene la custodia del objeto o indicio, ya sea porque la refrigeradora cuenta con un mecanismo de cierre y solo la persona en custodia tiene la llave o porque estén dentro de cajas u otros dispositivos que permitan mantenerlos bajo llave.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 15 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Analice las muestras lo antes posible para evitar que algunas sustancias se degraden y no sean detectadas. Para algunas sustancias existen tiempos máximos de preservación de las muestras en los procedimientos específicos.
- Almacene las muestras, posterior a su análisis, en la bodega de indicios, por un periodo de tiempo mínimo de 10 meses desde su recepción hasta su destrucción, la cual debe estar autorizada por la Autoridad Judicial.
- Una vez finalizados los análisis todas las muestras biológicas se convierten en muestras testigo, siempre y cuando tengan el volumen y las características necesarias para ser reanalizadas según el PON específico. Sin embargo, no se les asigna el estado destino "Testigo" sino que se asigna el estado destino "Para destrucción bio-infeccioso", debido a que su permanencia en la sección es limitada y el estado destino "Para destrucción bio-infeccioso" permite que las muestras aparezcan citadas en el dictamen y esta referencia no aparece si se escoge el estado destino "Testigo".

7.9 Muestreo de acuerdo con el tipo de muestra.

Nota 05: En toxicología forense se considera que el muestreo se realiza al 100%, debido a que normalmente se recibe poca cantidad de muestra o en ocasiones una única muestra por matriz. No obstante, el muestreo es un proceso crítico en los análisis, que debe asegurar que lo muestreado es verdaderamente representativo de la muestra total recolectada. El analista debe tomar en consideración el grado de homogeneidad en las diferentes muestras biológicas. Para realizar un análisis toxicológico, debe procurarse tomar una porción representativa de la muestra biológica.

7.9.1 Muestras de fluidos biológicos.

- Coloque los fluidos biológicos (sangre, orina, humor vítreo, entre otros) en agitadores por inversión el tiempo suficiente para asegurar la homogeneidad de la muestra y que esta se encuentra a temperatura ambiente, antes de retirar una alícuota para su análisis. A menos que se haya indicado otra cosa en el PON específico.
- Diluya los fluidos biológicos antes del análisis, si es requerido por alguna razón (ejemplo: poco volumen de muestra o la concentración de analito es mayor al Límite de Cuantificación Superior (LCS)).

Nota 06 Para el análisis de sustancias volátiles no se aplican diluciones, si una muestra sobrepasa el LCS debe reportarse como > LCS.

- Realice el muestreo de un volumen no menor de la mitad del volumen de muestra indicado en el PON específico en el caso de los análisis de escrutinio, si se cuenta con poca muestra.
- En el caso de confirmaciones y cuantificaciones que así lo requieren, diluya mínimo 100 µL del fluido biológico en el blanco de matriz apropiado, sangre blanco, en el caso de muestra de sangre; o agua en el caso de muestras de orina o humor vítreo; a menos que se haya indicado otra cosa en el PON específico.

7.9.2 Muestras de tejidos y coágulos.

- Realice el muestreo y análisis en una porción en el caso de tejidos (hígado, riñón, músculo, cerebro, tejido adiposo, entre otros). Estos generalmente se consideran homogéneos en la muestra recibida. Siga los pasos siguientes:
- Pese una cantidad inicial del tejido como se indica en el PON específico. Adicione el volumen apropiado de agua desionizada para obtener la dilución final (ejemplo: adicione 3 mL de agua a 1 gramo de tejido para obtener una dilución final de 1/4). Homogenice la muestra en un homogeneizador de tejidos. En el caso de análisis de sustancias volátiles, las muestras deben procesarse según se indique en el PON específico.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 16 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Analice la cantidad de tejido homogéneo como se describa en el PON específico.
- En el caso de confirmaciones y cuantificaciones que así lo requieren, diluya mínimo 100 µL del homogenizado del tejido utilizando agua desionizada.
- Para el reporte de la concentración en el refiérase al PON específico.

7.9.3 Muestras de contenidos gástrico (C.G.)

- Los contenidos gástricos no se consideran muestras homogéneas ya que pueden contener píldoras, fragmentos de píldoras o material alimenticio parcialmente digerido.
- Antes de hacer el análisis en contenido gástrico, registre si es posible el volumen de contenido gástrico total. Homogenice el contenido gástrico por agitación manual antes de tomar una muestra.
- Pese o pipetee (en g o mL), la cantidad de contenido gástrico homogenizado necesario y diluya con agua desionizada para obtener la dilución indicada en el PON específico (por ejemplo 0,2 g o mL de contenido gástrico y diluya con 1,8 mL de agua desionizada, para una dilución 1/10).

7.10 Preparación de matrices blanco.

Nota 07: Para preparación de controles negativos o controles positivos en la rutina, así como para los procesos de validación se necesitan matrices blanco, que son fluidos o tejidos biológicos que se presumen libres de los analitos de interés y que una vez analizados para demostrarlo se pueden utilizar en los análisis.

7.10.1 Todas las matrices blanco deben ser analizadas con cada una de las metodologías en las que se van a utilizar, para asegurar su confiabilidad antes de ser utilizadas en el análisis de muestras reales. Esta revisión debe quedar registrada en el Formulario Control Reactivos Críticos.

7.10.2 Matriz sangre blanco (proveniente de donantes vivos)

- Cuando lo que se tiene es sangre total humana o de otra especie contenida en una bolsa de donación, homogenice por agitación manual por inversión el contenido de la bolsa. Transfiera la sangre a tubos de tapón gris (oxalato de potasio/fluoruro de sodio) u otro tubo según sea requerido en un PON específico. Rotule los tubos como "sangre blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Cuando lo que se tiene es sangre total humana o de otra especie contenida en tubos, adicione el volumen total de los tubos de sangre en un recipiente de tamaño apropiado y mezcle. Transfiera la sangre a tubos de tapón gris (oxalato de potasio/fluoruro de sodio) u otro tubo según sea requerido en un PON específico. Rotule los tubos como "sangre blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Cuando lo que se tiene son glóbulos rojos empacados, diluya los glóbulos rojos 1 en 2 con agua desionizada para lograr una consistencia similar a la de la sangre total y transfiera la sangre a tubos de tapón gris (oxalato de potasio/fluoruro de sodio) u otro tubo según sea requerido en un PON específico. Rotule los tubos como "sangre blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene la sangre blanco en refrigeración hasta por un año. Tome en cuenta que en algunos procedimientos específicos se requiere sangre con menos tiempo de preparación.

7.10.3 Matriz sangre blanco (proveniente de muestras post-mortem)

- Seleccione muestras de sangre de casos ya analizados en la Sección y preparados para destrucción que contengan al menos dos tubos con sangre tapón gris con al menos 5 mL

| | | |
|--|-------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 17 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

cada uno, con resultados negativos para las metodologías en las que se va a emplear el blanco de sangre.

- Adicione el volumen total del tubo de sangre con mayor volumen en un recipiente de tamaño apropiado y mezcle.
- Trasfiera porciones de aproximadamente 10 mL en tubos plásticos con tapa rosca de 15 mL. Rotule los tubos como "sangre blanco post mortem" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene la sangre blanco post mortem en refrigeración hasta por un año.

7.10.4 Matriz orina blanco.

- Recolecte muestra de orina de uno o varios funcionarios de la Sección que indiquen no consumo reciente de medicamentos.
- Mezcle el volumen total de la orina en un recipiente de tamaño apropiado.
- Trasvase a tubos de tapón gris (oxalato de potasio/fluoruro de sodio) u otro tubo según sea requerido en un PON específico. Rotule los tubos como "orina blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene la orina blanco en refrigeración hasta por un año.

7.10.5 Matriz riñón blanco.

- Compre en una carnicería un riñón de vaca. Guárdelo en congelación hasta el momento de procesarlo.
- Saque el riñón del congelador y colóquelo en una bandeja plástica pequeña, cubra con papel aluminio y deje que se descongele.
- Cuando esté totalmente descongelado, con ayuda de pinzas con diente de ratón y tijeras de disección, elimínele la cápsula (tejido que lo envuelve) y descártela. Corte en trozos pequeños y colóquelos en un vidrio de reloj, corte estos trozos en trocitos más pequeños y vaya depositándolos en un beaker de 2 L. Elimine cualquier tejido graso.
- Cuando esté todo picado, utilizando balanza granataria, pese porciones de $10,0 \pm 0,1$ g en tubos plásticos con tapa rosca de 50 mL. Un riñón de vaca pesa entre 500 y 700 g, se necesitan de 50 a 70 tubos. Rotule los tubos como "Riñón blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene el riñón blanco en congelación hasta por un año.

7.10.6 Matriz contenido gástrico blanco.

- Seleccione muestras de contenido gástrico de uno o varios casos ya analizados en la Sección y preparados para destrucción que contengan al menos 30 mL, con resultados negativos para las metodologías en las que se va a emplear el blanco de contenido gástrico.
- Adicione aproximadamente 10 mL de cada contenido gástrico en un recipiente de tamaño apropiado y mezcle.
- Transfiera porciones de aproximadamente 10 mL en tubos plásticos con tapa rosca de 50 mL. Rotule los tubos como "contenido gástrico blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene el contenido gástrico blanco en congelación hasta por un año.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 18 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

7.10.7 Matriz hígado blanco.

- Compre en una carnicería un hígado de vaca. Guárdelo en congelación hasta el momento de procesarlo.
- Descongele el hígado para la preparación. Cuando esté totalmente descongelado, con ayuda de pinzas con diente de ratón y tijeras de disección, corte el tejido en trozos pequeños.
- Utilizando balanza semianalítica, pese porciones de $1 \pm 0,01$ g en tubos plásticos con tapa rosca de 15 mL. Rotule los tubos como "Hígado blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene el hígado blanco en congelación hasta por un año.

7.10.8 Matriz músculo blanco.

- Compre en una carnicería un músculo de vaca. Guárdelo en congelación hasta el momento de procesarlo.
- Descongele el músculo para la preparación. Cuando esté totalmente descongelado, con ayuda de pinzas con diente de ratón y tijeras de disección, corte el tejido en trozos pequeños.
- Utilizando balanza semianalítica, pese porciones de $1 \pm 0,01$ g en tubos plásticos con tapa rosca de 15 mL. Rotule los tubos como "Músculo blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene el músculo blanco en congelación hasta por un año.

7.10.9 Matriz humor vítreo blanco

- Seleccione muestras de humor vítreo de casos ya analizados en la Sección y preparados para destrucción que tengan al menos dos muestras de humor vítreo que contengan al menos 0,5 mL, con resultados negativos para las metodologías en las que se va a emplear el blanco de humor vítreo.
- Adicione el volumen total de una de las muestras en un recipiente de tamaño apropiado y mezcle.
- Transfiera porciones de aproximadamente 1 mL en tubos plásticos con tapa rosca de 2 mL. Rotule los tubos como "humor vítreo blanco" y fecha de preparación. El número de lote corresponde a la fecha de preparación.
- Almacene el humor vítreo blanco en congelación hasta por un año.

7.11 Selección, verificación y uso de controles de análisis.

7.11.1 En Toxicología Forense se utilizan diferentes tipos de controles en los análisis, existen diferentes tipos de controles: control negativo, control positivo, control normal y control inhibido.

7.11.2 Dentro de los controles negativos se tienen:

- Blanco de reactivos: Control que contiene todos los reactivos utilizados en la preparación, extracción, dilución o derivatización de las muestras, pero no contiene matriz blanco.
- Blanco de matriz: contiene matriz blanco, además de todos los reactivos utilizados en la preparación, extracción, dilución o derivatización de las muestras. Se nombra según la matriz que contiene (blanco de sangre, blanco de orina, blanco de riñón, blanco de contenido gástrico)
- Blanco de corrida: consiste en la inyección de disolvente o espacio de cabeza en un sistema cromatográfico para evidencia ausencia de sustancias.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 19 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Control normal: Es una muestra cuya concentración es conocida y se encuentra dentro de rango de referencia normal para una población, como en el caso de actividad enzimática o parámetros bioquímicos.

7.11.3 Dentro de los controles positivos se tienen:

- Blanco enriquecido de matriz: corresponde a un control preparado utilizando matriz blanco y enriquecido con los analitos, al que se aplican todos los procesos de una muestra incógnita o real (preparación, extracción, dilución o derivatización). Se nombra según la matriz que contiene (blanco enriquecido de sangre, blanco enriquecido de orina, etc.).
- Material de referencia certificado (CRM) en matriz: Material de referencia certificado comercial en matriz que tiene una concentración esperada del analito en la matriz y una incertidumbre asociada o rango aceptable. Ejemplo: Material de referencia certificado de sangre total humana con concentración conocida y rango aceptable de etanol.
- Disolución de CRM: Corresponde a una disolución de un CRM que contiene uno o varios analitos.
- Control de arrastre (en análisis cualitativos): Disolución de CRM de una concentración alta del analito (por ejemplo, aproximadamente de 10 a 30 veces el LA), que se inyecta en el equipo antes de un control negativo para demostrar que no hay arrastre.
- Control de arrastre (en análisis cuantitativos): Disolución de CRM de una concentración igual o superior al LCS, que se inyecta en el equipo antes de un control negativo para demostrar que no hay arrastre.
- Control inhibido: Es una muestra cuya concentración es conocida y se encuentra por debajo de rango de referencia normal para una población, como en el caso de actividad enzimática o parámetros bioquímicos.

7.11.4 Se debe utilizar al menos un control negativo y un control positivo en cada análisis. Los controles pueden ser comprados o preparados en el laboratorio. El orden y la frecuencia de los controles se indica en los procedimientos específicos.

7.11.5 Los controles preparados en el laboratorio para análisis cuantitativo deben provenir de un CRM de una casa comercial o de un lote diferente al CRM de los calibradores. Si esto no es posible, deben prepararse de disoluciones o patrones intermedios distintos a los calibradores, preparados preferiblemente por otro analista a partir del CRM original.

7.11.6 Los resultados de los controles positivos cuantitativos deben llevarse idealmente en gráficos de control para detectar fácilmente tendencias por el deterioro de los reactivos, calibradores o controles.

7.11.7 Los gráficos de control deben ser revisados periódicamente por el encargado de la pericia, quien debe comunicar al líder técnico cualquier tendencia o desviación de los resultados que pudiera afectar el análisis.

7.11.8 La concentración de los controles positivos en general debe variar en $\pm 20\%$ de la concentración establecida para ese control o lo establecido en un PON específico (ejemplo rangos variables de criterios de aceptación de acuerdo con la concentración en el análisis de etanol).

7.11.9 El CV% de las réplicas de los controles debe ser $<15\%$ (en valores cercanos al LC se permite $<20\%$).

7.11.10 Una nueva preparación del control de un análisis cuantitativo rutinario debe verificarse y cumplir los criterios de aceptación de este.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 20 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

7.11.11 Las concentraciones del analito en el control positivo deben estar dentro del ámbito de cuantificación. Si se utiliza sólo un control positivo éste debe estar preferiblemente en una concentración cercana a la mitad de la curva.

7.11.12 Si se usan varios controles idealmente deben estar distribuidos en el ámbito de cuantificación (bajo, medio y alto). En el caso de análisis en serie frecuentes y con muchas muestras, como por ejemplo etanol, pueden utilizarse controles de varios niveles de concentración (bajo, medio y alto) en diferentes combinaciones dentro de las secuencias de análisis (solo un nivel, dos niveles o los tres niveles) de tal manera que a través del tiempo se dé una rotación de los controles y se estén analizando controles de los tres niveles de concentración.

7.11.13 Idealmente cada análisis en serie debe contener un 10% de controles. Si un control no cumple los criterios de aceptación cuantitativos deberá repetirse las muestras que dieron positivas y que están entre ese control y el siguiente, o reportar los resultados de manera cualitativa, si aplica.

7.11.14 El control negativo puede presentar una señal del analito de interés siempre que se encuentre por debajo de la señal para la concentración del LD o del LA.

7.12 Selección y uso de estándares internos en los análisis.

7.12.1 Idealmente el estándar interno debe ser un homólogo del analito, si no es posible, se elegirá un compuesto con características fisicoquímicas muy similares. En el proceso de validación se demuestra la no interferencia del estándar interno sobre analitos y viceversa.

7.12.2 Para mantener la confiabilidad del método, la recuperación del estándar interno debe ser revisada en cada muestra. Si no se da la recuperación del estándar interno en una muestra deben tomarse las siguientes medidas correctivas al respecto:

- Si es posible, re-inyecte la muestra que presentó la baja recuperación del estándar interno para determinar si la causa fue una mala inyección del equipo. Documente lo ocurrido en el legajo del caso e identifique el cromatograma como una re-inyección.
- Re-analice la muestra si todavía no hay recuperación del estándar interno. Documente lo ocurrido en el legajo del caso e identifique el nuevo cromatograma como una repetición o re-análisis y solicite la autorización del Líder Técnico y Jefe de Sección para realizar una de las acciones siguientes (documente la situación y la acción realizada):
- Re-analice la muestra con otro estándar interno.
- Reporte la sustancia como presente, si ha sido confirmada y realice una anotación en el dictamen indicando que no se reportará un resultado cuantitativo.
- Reporte que la muestra en particular es insatisfactoria para el análisis y realice una anotación en el dictamen indicando dicha situación.

7.13 Directrices para el análisis en serie (análisis por lotes):

Nota 08: Para maximizar la eficiencia dentro de los laboratorios de Toxicología Forense, es común el análisis de grupos de muestras o análisis en serie. En los siguientes puntos se mencionan las directrices para el manejo general de análisis en serie. En un PON para un análisis específico podría indicarse algún otro aspecto particular a seguir.

7.13.1 Elabore en el SADCF un Registro de Análisis en Serie (RAS) donde queden documentados todos los registros relacionados con el análisis en serie (por ejemplo: funcionario que realizó el análisis, equipo y PON utilizado, datos de controles, revisiones, verificaciones, condiciones ambientales, identificación y resultados de las muestras, reactivos y materiales, entre otros).

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 21 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- 7.13.2** Incluya en cada análisis en serie el tipo y número suficiente de controles para asegurar la validez del análisis, la cantidad de controles va a depender del tamaño del análisis en serie y de la naturaleza del ensayo. Ver procedimiento específico.
- 7.13.3** Incluya en un análisis en serie presuntivo cualitativo como pruebas rápidas o inmunoensayos, al menos un control negativo y un control positivo. En los escrutinios instrumentales idealmente un control negativo, y un control positivo cada 10 muestras reales.
- 7.13.4** Incluya en un análisis en serie cuantitativo, al menos un control negativo (blanco de matriz o blanco de reactivos) y un control positivo idealmente cada 10 muestras reales (es recomendable en los análisis en serie frecuentes y con muchas muestras, el uso de un 10% de controles en cada serie cuantitativa, en diferentes niveles de concentración como lo indica el punto 7.11.12 de este procedimiento). En el caso de análisis por LC/MS se pueden tener análisis en serie con propósitos tanto cualitativos como cuantitativos, en ese caso aplican los criterios establecidos en el punto 7.16.3.
- 7.13.5** Analice un control de arrastre y un blanco para evidenciar arrastre (blanco de corrida, de matriz u otro control negativo) para evidenciar un posible arrastre en el análisis. Si en la metodología no se colocan blancos entre inyecciones de muestras, incluya el blanco después del control de arrastre. Si en la metodología se utilizan blancos de corrida entre inyecciones de muestras, incluya el blanco para evidenciar arrastre en la posición siguiente al blanco de corrida posterior al control de arrastre.
- 7.13.6** Si en el blanco para evidenciar un posible arrastre se detecta algún analito con una señal igual o superior al LA debe corregirse el problema de arrastre antes de inyectar las muestras. Las medidas para corregir el arrastre se definen en el Pon específico de cada metodología.
- 7.13.7** Si una muestra incógnita o real da un resultado positivo con una señal menor al 10% de la muestra que la precede y esta a su vez tiene una señal superior al control de arrastre para ese analito, la muestra debe reanalizarse.
- 7.13.8** Para los análisis en serie realizados en equipos que utilizan automuestreadores verifique que:
- Los resultados de las muestras de los casos se encuentren aprobados por controles o calibradores aceptables.
 - La identificación y la posición de cada vial en el automuestreador fue verificada por un analista independiente al proceso de análisis, contra una lista de las muestras y/o contra la secuencia del equipo, esta verificación debe quedar documentada en el Registro de Análisis en Serie (RAS) en el SADCF.
- 7.13.9** Si un análisis en serie no cumple los criterios de aceptación, documente en el RAS la razón por la que el análisis falló. Incluya el RAS en cada uno de los legajos de los casos.
- 7.13.10** Realice, como un analista independiente al proceso de análisis, una revisión y aprobación del RAS en el SADCF. En la revisión debe verificarse los siguientes puntos:
- Que la identificación y los resultados de las muestras se registraron en forma correcta.
 - Que los controles se registraron y pasaron los criterios de aceptación.
 - Que la verificación de los viales en el automuestreador se registró.
 - Que se registraron, si aplica para el análisis en serie, las condiciones ambientales, los reactivos y materiales.
 - Que se incluyeron, en caso necesario las anotaciones a los objetos de análisis.
 - Que se incluyeron los cromatogramas y los registros de resultados de hojas de cálculo de los controles a los legajos de todos los casos.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 22 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Que se incluyeron los cromatogramas y los registros de resultados de hojas de cálculo de cada muestra al legajo del caso.
- Que se registró el PON específico con el que se realizó el análisis.
- Que se verificó la transferencia de los datos incluidos en las hojas de cálculo utilizadas para cálculos de concentración y/o estimación de incertidumbre (si aplica).
- Que la aprobación del RAS se realizó y que el RAS se incluyó en los legajos de los casos.

7.13.11 Si un RAS después de aprobado, presenta un error en algún dato del registro y no puede corregirse, realice en el SADCF una anotación aclaratoria dentro los casos relacionados con el error registrado.

7.14 Criterios generales de los métodos de escrutinio

7.14.1 Utilice como métodos de escrutinio inmunoensayos, métodos instrumentales u otros, que permiten la detección de varios analitos o grupos de analitos en las muestras analizadas.

7.14.2 Utilice controles cualitativos que le permiten valorar la detección de los analitos incluidos en el escrutinio.

7.15 Criterios generales para la identificación y confirmación de sustancias.

7.15.1 Reporte el carácter presuntivo o preliminar de la identificación de una sustancia cuando no se aplique un método confirmatorio.

7.15.2 Confirme la detección de sustancias tóxicas (siempre que sea posible) con una segunda técnica basada en un principio químico diferente, idealmente sobre una segunda muestra u otra matriz o sobre una nueva alícuota de la misma muestra. Este se considera el criterio principal para asegurar la confirmación en toxicología forense.

7.15.3 Confirme la identificación de una sustancia en una segunda muestra, o en segunda alícuota, empleando una técnica con el mismo principio químico, si no se dispone de una segunda técnica.

7.15.4 Utilice (siempre que sea posible), una prueba confirmatoria más específica y sensible que la primera prueba utilizada para el analito objetivo. Se recomienda la espectrometría de masas como técnica de confirmación por excelencia. Las excepciones incluyen analitos que no son fácilmente analizados por espectrometría de masas tales como monóxido de carbono, hidrocarburos volátiles, alcoholes y otros.

7.15.5 Utilice los siguientes criterios confirmatorios para identificar y reportar una sustancia tóxica (se presentan en orden de mayor a menor importancia, al menos una condición debe cumplirse):

- Identificación presuntiva de la clase de la sustancia e identificación específica de la sustancia en una alícuota o muestra diferente por un principio químico diferente. Ejemplo: inmunoensayo seguido por GC/MS en modo SIM.
- Identificación de la sustancia en dos alícuotas o muestras diferentes y con dos principios químicos diferentes. Ejemplo: escrutinio en GC/MS y cuantificación en GC/NPD.
- Identificación de la sustancia en diferentes matrices biológicas por uno o más principios químicos. Ejemplo: inmunoensayo positivo por opiáceos en sangre seguido por detección de morfina en humor vítreo por LC/MS/MS.
- Identificación de la sustancia usando dos alícuotas de la misma muestra y un mismo principio químico. Esto es válido para sustancias de bajo peso molecular como monóxido de carbono, hidrocarburos volátiles, alcoholes y otros. Ejemplo: análisis de etanol en Headspace GC/FID.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 23 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Identificación de la sustancia utilizando LC/MS/MS en una matriz con un resultado que está por encima del LA e identificación en otra matriz en la cual el valor no sobrepasa el LA, pero sí cumple los criterios de identificación (tiempo de retención y similitud en el espectro de iones producto). Es válido utilizar el hallazgo en la segunda matriz para la confirmación del analito en la matriz donde sobrepasa el LA (Por ejemplo, una sustancia se detecta en sangre por encima del LA y en un humor vitreo está presente por debajo del LA pero cumple los criterios de identificación) La utilización de este criterio debe indicarse en el RAS.
- Identificación de una sustancia de forma incidental en una alícuota por GC/MS o LC/MS/MS y la historia del caso es congruente con la identificación.

7.15.6 Utilice además los siguientes criterios para valorar un análisis como confirmatorio en toxicología forense:

- La utilización de un segundo inmunoensayo para confirmar los resultados obtenidos con otro inmunoensayo no es aceptable, aunque ambos inmunoensayos estén basados en principios diferentes.
- La detección de un analito mediante inmunoensayo seguido por confirmación por GC/NPD o GC/FID con una sola columna cromatográfica no proporciona suficiente especificidad en el ámbito forense. Para aumentar la especificidad se pueden usar dos columnas y dos detectores en estos equipos.
- En el caso del etanol, aunque los falsos positivos desde el punto de vista analítico son improbables, se recomienda usar un segundo sistema analítico confirmatorio. Una solución alternativa consiste en utilizar una segunda columna cromatográfica, de manera que haya un cambio en el tiempo de retención y en el orden de elución de los volátiles más usuales (etanol, acetona, metanol e isopropanol). El segundo análisis debe realizarse sobre una segunda alícuota tomada de la muestra o sobre otra muestra del caso.
- No se recomiendan los métodos enzimáticos para el análisis de etanol y congéneres en el ámbito forense, dados los falsos positivos que pueden obtenerse y la falta de precisión y exactitud de esta técnica presuntiva.
- La confirmación en otro sistema GC, con detectores tradicionales, con una columna analítica similar no es adecuada porque los tiempos de retención resultan muy similares.

7.16 Directrices de aseguramiento de la calidad en análisis cuantitativos:

7.16.1 Criterios generales de cuantificación

- Según el listado de tipos de caso de la Sección de Toxicología, para realizar una cuantificación de drogas o medicamentos, el caso debe estar clasificado como C11, C21 ó C22 y se puede valorar en los casos C10.
- Lo ideal es realizar el análisis cuantitativo de drogas o medicamentos en una muestra o alícuota distinta a la que se empleó para realizar el análisis cualitativo de la muestra.
- Las drogas de abuso no son fármacos, no existiendo por lo tanto niveles terapéuticos, tóxicos o letales, ya que en ausencia de alguna circunstancia que justifique la causa de muerte, la sola presencia de una droga de abuso puede ser compatible con la misma por una reacción adversa, por lo que, aunque se cuantifiquen no se puede desprender de estos resultados el grado de afectación tóxica
- Se cuantificarán únicamente las drogas o medicamentos detectadas en muestras de sangre. En general, en muestras de orina y vísceras no se realizan cuantificaciones de drogas o medicamentos.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 24 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- En los procedimientos de operación normados específicos, se definirán las matrices a utilizar en la cuantificación de un analito o grupo de analitos y otros aspectos particulares.
- En casos de toxicología forense post mortem, se debe utilizar la muestra de humor vítreo para confirmar la presencia de alcohol en sangre, pues permite dilucidar si la presencia del etanol es debida a ingesta ante mortem o a procesos de contaminación o putrefactivos post-mortem.
- En medicamentos o drogas de abuso que sufren redistribución post-mortem (volumen de distribución mayor a 3 L/kg o que exista publicación específica para la sustancia que así lo indique) se debe informar en el dictamen esta posibilidad y que idealmente se deben enviar muestras de sangre tanto centrales (sangre de corazón, sangre subclavia) como periféricas (femoral) para una mejor interpretación.
- La cuantificación de la sustancia detectada debe realizarse a la mayor brevedad posible para evitar la degradación del analito de interés.
- Se debe contar con una metodología que cumpla los criterios técnicos cuantitativos e idealmente con material de referencia de dos fuentes distintas para el analito que se requiere cuantificar.

7.16.2 Realización de una curva de calibración de un análisis cuantitativo (excepto cuantificación por LC/MS):

- Para elaborar y verificar la curva de calibración de un analito pueden utilizarse niveles de calibración y controles adquiridos comercialmente con concentraciones certificadas del analito (CRM) o niveles de calibración y controles preparados en el laboratorio a partir de CRM.
- Los calibradores deben prepararse en la matriz objeto del análisis cuantitativo, a menos que el PON específico indique lo contrario (ejemplo la cuantificación de etanol y congéneres).
- La curva de calibración debe elaborarse con 5 niveles de calibración de cada sustancia como mínimo (idealmente dos de ellos preparados cerca de la concentración del LC) o los que establezca el Procedimiento de Operación Normado específico para la sustancia.
- Cada nivel de calibración debe analizarse por duplicado como mínimo.
- El ámbito de cuantificación, para la mayoría de los ensayos cromatográficos en toxicología, se define por conveniencia como el ámbito comprendido entre el Límite de Cuantificación (LC) (o límite de decisión, LA) y el Límite de Cuantificación Superior (LCS), asumiendo como LC la concentración del calibrador más bajo y como LCS la concentración del calibrador más alto de la curva de calibración.
- El ámbito de cuantificación de la curva de calibración, en la medida de lo posible, debe contener las concentraciones del analito que son objetivo de la cuantificación en las muestras.
- Los controles positivos para verificar la curva deben tener concentraciones dentro del ámbito de cuantificación.
- Para poder utilizar la concentración del calibrador más bajo como el LC, la respuesta de este calibrador debe ser por lo menos tres veces mayor que la respuesta del control negativo, debe cumplir con los criterios de identificación (relaciones de iones, tiempo retención) y al ser evaluado contra la curva de calibración debe tener una variación de $\pm 30\%$ de la concentración asignada (excepto para etanol donde se prefiere una variación de $\pm 20\%$).
- Si el calibrador no satisface estos criterios, debe establecerse un nuevo LC escogiendo al calibrador más bajo que si los cumple. En este caso puede ser necesario repetir el análisis

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 25 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

de muestras incógnitas cuyas concentraciones sean menores al nuevo LC establecido en una secuencia determinada.

- Para poder utilizar la concentración del calibrador más alto como el LCS, la respuesta de este calibrador debe cumplir los criterios de identificación y al ser evaluado contra la curva de calibración debe tener una variación de $\pm 20\%$ de la concentración asignada (excepto para etanol donde se prefiere una variación de ± 10).
- Para aceptar a los demás calibradores como parte de la curva de calibración se deben evaluar contra la curva y deben presentar una variación de $\pm 20\%$ de la concentración asignada (excepto para etanol donde se prefiere una variación de $\pm 10\%$).
- La curva de calibración se construye utilizando la relación de las respuestas (área o altura) del analito y el estándar interno (si es necesario) obtenidas como valor de "Y" (eje de ordenadas o variable dependiente) versus la concentración del nivel de calibración como valor de "X" (eje de abscisas o variable independiente).
- La curva de calibración puede ser creada mediante el software del instrumento o utilizando hojas de cálculo independientes al software del equipo.
- La concentración del analito de una muestra o control se calcula por la interpolación de su señal o respuesta en la curva de calibración.
- Se debe determinar si la calibración corresponde a un modelo lineal, cuadrático u otro. Idealmente se utiliza el modelo de calibración lineal como primera opción.
- Los modelos lineales se aplican para grupos de datos homocedásticos, es decir que tienen homogeneidad de varianzas en todo el rango de calibración. Esto debe esperarse para rangos de calibración que no excedan un orden de magnitud.
- La mayor parte de los métodos de análisis toxicológicos exceden 2 o 3 órdenes de magnitud, lo cual lleva implícito un grado significativo de heterocedasticidad, la cual puede compensarse con una calibración basado en el ajuste ponderado de mínimos cuadrados. A pesar de que el sistema sea heterocedástico, se puede utilizar en la práctica del día a día el modelo de regresión lineal simple, si se determina que los controles de sesgo y precisión siguen siendo aceptables de acuerdo a los criterios establecidos en el procedimiento específico.
- En el caso de adoptarse el modelo lineal, debe comprobarse siempre que existe una relación lineal entre la respuesta y la concentración a lo largo de todo el rango de calibración establecido.
- Algunos ensayos son no lineales inherentemente (por ejemplo, en LC/MS/MS) y utilizar modelos cuadráticos u otros pueden ser lo más apropiado.
- El modelo utilizado para generar la curva de calibración debe ser verificado utilizando controles de niveles bajo, medio y alto dentro del ámbito de cuantificación.
- Para la mayoría de las aplicaciones en toxicología forense un coeficiente de determinación (r^2) mayor a 0,99 y por tanto un coeficiente de correlación (r) mayor a 0,995 en la curva es aceptable, a menos que se indique otra cosa en el Procedimiento de Operación Normado específico para la sustancia.
- No pueden eliminarse más del 20 % de los calibradores en la curva. Si es necesario eliminar más del 20 % de los calibradores de la curva, debe hacerse una justificación y esta debe ser aprobada por el líder técnico. La excepción y justificación apropiada debe adjuntarse al legajo del caso y al RAS.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 26 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Es recomendable usar un estándar interno con extracción, derivatización y propiedades cromatográficas similares al analito de interés. Es deseable utilizar estándares internos deuterados, pero no es un requisito indispensable.
- La recuperación del estándar interno debe monitorearse en los calibradores, controles y muestras incógnitas mediante el área, altura del pico o la abundancia de los iones.

7.16.3 Cuantificación por LC/MS

- Se puede cuantificar los analitos que estén incluidos en el "Listado sustancias susceptibles de cuantificación por LC-MS". Los analitos incluidos en este listado son sustancias que están incluidas en el alcance del método de escrutinio por LC/MS y que además cumplen con criterios pre-establecidos para efecto de la matriz sobre la ionización (entre -30 y 30%), estabilidad en la muestra (pérdida menor a 30% en sangre post-mortem en refrigeración por 30 días) y precisión (un C.V.% estimado con la desviación estándar de la media menor al 15%). Además, son sustancias sobre las que existe interés en ofrecer resultados cuantitativos. Puede haber otros analitos que se cuantifiquen previa autorización del Jefe de Sección.
- La cuantificación de drogas por LC/MS se realiza dentro de la rutina de análisis de escrutinio por LC/MS para muestras de sangre post-mortem incluidas en un análisis en serie que tiene propósitos cualitativos y cuantitativos.
- Se utilizan como calibradores los blancos enriquecidos en sangre post mortem de al menos 3 niveles de concentración (LA, 10 veces el LA y 20 veces el LA).
- Idealmente debe incluirse controles positivos con concentraciones dentro del ámbito de cuantificación.
- La curva de calibración debe ser creada mediante el software del instrumento utilizando el modelo que mejor se ajuste para el analito (cuadrático, lineal u otro)
- Aunque en el proceso de extracción se utiliza siempre estándares internos, estos pueden no utilizarse en el cálculo de la concentración del analito si la precisión de este es mejor sin el ajuste por estándar interno.
- La concentración obtenida solo puede ser reportada si se encuentra en una concentración entre el LA y 20 veces el LA. Si se presenta una señal mayor a 20 veces el LA para un analito, debe repetirse el análisis de la muestra utilizando una dilución apropiada en agua. Por ejemplo, dilución 1/10 tomando 200 µL de la muestra en un balón de 2 mL y aforando con agua desionizada). Idealmente en esa repetición de la muestra diluida debe incluirse la muestra por duplicado.
- Cuando después del análisis de la muestra diluida se siga obteniendo una señal mayor a 20 veces el LA (Blanco enriquecido II) se debe valorar si se debe repetir el análisis con una dilución mayor o reportar como una concentración mayor a 20 veces el LA.

7.17 Utilice las siguientes directrices en los análisis cromatográficos:

Nota 09: En algunos casos toxicológicos puede haber múltiples drogas o coeluir productos de descomposición que pueden evitar que se cumplan algunos de los siguientes criterios cromatográficos o de detección por espectrometría de masas. Estas excepciones deben quedar documentadas en el RAS y en el legajo del caso.

7.17.1 Para cromatografía de gases el tiempo de retención absoluto (TR) tanto del analito como del estándar interno debe estar en $\pm 2,0\%$ del tiempo de retención obtenido para el promedio de los calibradores (el tiempo de retención relativo (TRR) debe estar en $\pm 1,0\%$). En cromatografía líquida se aceptan variaciones mayores: TR de $\pm 5,0\%$ y TRR de $\pm 2,5\%$

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 27 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

(ensayos particulares que presentan programas de fase móvil no isocráticos podrían presentar variaciones aceptables de TR de $\pm 10,0\%$ y TRR de $\pm 5,0\%$).

7.18 Utilice las siguientes directrices en los análisis en espectrometría de masas:

7.18.1 En la identificación de espectro de masas por impacto electrónico utilizando el modo SCAN (Escaneo completo o Full Scan) no se deben definir criterios rígidos de probabilidad de comparación contra bibliotecas para identificar un analito. Un analista competente debe tener flexibilidad en los criterios de la interpretación de los resultados, porque los criterios rígidos pueden conducir a la identificación errónea, así como a la subidentificación de sustancias. Este analista basará la identificación en una serie de factores, tales como tiempo de retención, iones únicos, abundancia de iones, señal/ruido y referencias bibliográficas, así como probabilidades de comparación contra bibliotecas, análisis de otras matrices, presencia de metabolitos, entre otros.

7.18.2 En la identificación con el modo SCAN por impacto electrónico se debe tomar en cuenta lo siguiente:

- En la medida de lo posible, la identificación de una droga debe estar basada en la comparación espectral contra una biblioteca o una comparación contra un material de referencia. Este material de referencia permite verificar el espectro de masas y el tiempo de retención.
- La comparación con datos bibliográficos o con bases de datos sin contar con el tiempo de retención del analito, no permite establecer la identidad absoluta de la sustancia. El hallazgo se reporta o no según se establece en el procedimiento específico.
- Para la identificación cualitativa, el analito debe ser comparado contra un control positivo o un calibrador provenientes de un CRM y un control negativo.
- El pico del analito en la muestra incógnita idealmente debe estar bien resuelto (separación a línea base), debe coincidir con el tiempo de retención del material de referencia (calibrador o control) y debe tener todos los iones característicos del espectro del material de referencia.
- Para todos los iones diagnósticos con una abundancia relativa igual o mayor al 10% debe haber concordancia en intensidad relativa con el patrón de referencia analizado en la misma secuencia.
- No puede haber iones presentes con una abundancia relativa igual o mayor al 50%, que no estén presentes en el patrón de referencia analizado en la misma secuencia.

7.18.3 Cuando se utiliza el modo SIM (monitoreo de ion selectivo) en impacto electrónico para la identificación de un analito, sea en un análisis cuantitativo o cualitativo, además de la comparación del tiempo de retención, deben estar presentes 3 iones diagnósticos para el analito, en algunos casos se acepta la presencia de sólo 2 iones diagnósticos para el analito. El ion molecular debe ser preferiblemente uno de los iones diagnósticos seleccionados. La relación señal ruido debe ser mayor de 3:1 para los iones seleccionados.

7.18.4 Para análisis en SIM las intensidades relativas de los iones calificadores y iones producto respectivamente, no deben presentar una variabilidad mayor a lo establecido en los siguientes criterios (WADA, 3.4), al menos que se acepte un criterio diferente en el PON de la metodología específica:

- Para iones con intensidad relativa $>50\%$ la ventana máxima permitida de variación es de $\pm 10\%$ absoluto.
- Para iones con intensidad relativa entre 25% a 50% la ventana máxima permitida de variación es de $\pm 20\%$ relativo.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 28 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Para iones con intensidad relativa entre 1% a <25% la ventana máxima permitida de variación es de $\pm 5\%$ absoluto.

7.18.5 En el caso de análisis de MS/MS utilizando trampa de iones donde se adquiere el espectro de los iones producto se puede utilizar la similitud del espectro de iones producto contra una base de datos o biblioteca para hacer la identificación. El criterio de similitud mínimo aceptable para la identificación debe estar claramente establecido en la validación del método. También puede utilizarse la abundancia relativa de dos iones de este espectro contra el espectro del patrón para la identificación. En ambos casos, también se debe utilizar como criterio el tiempo de retención.

7.18.6 Cuando se desarrollan nuevos métodos para cuantificación o identificación, debe evitarse el uso de isótopos o iones aductos del analito como iones calificadores o productos.

7.19 Utilice las siguientes directrices en los análisis y comparación espectral en HPLC/DAD.

7.19.1 Cuando se utiliza un detector con arreglo de diodos y comparación espectral UV contra la biblioteca, la similitud en la comparación contra la biblioteca debe ser idealmente mayor de 990 en el caso del algoritmo de comparación utilizado por el software. Sin embargo, la identificación de espectro UV no se deben definirse con criterios rígidos. Un analista competente debe tener flexibilidad en los criterios de la interpretación de los resultados, porque los criterios rígidos pueden conducir a la identificación errónea, así como a la sub-identificación de sustancias. Este analista basará la identificación en una serie de factores, tales como tiempo de retención, señal/ruido y referencias bibliográficas, así como lo característico del espectro UV.

7.19.2 Re-inyección o re-análisis de muestras.

Nota 10: En análisis de toxicología forense utilizando equipo cromatográfico se presentan situaciones por las cuales los calibradores, controles o muestras incógnitas deben re-inyectarse o re-analizarse.

7.19.3 Identifique la causa de re-inyección o re-análisis y la acción a realizar, en una situación particular presentada, dentro de las siguientes causas comunes:

- Mala recuperación del analito o del estándar interno. Acción: re-inyecte o re-analice la muestra.
- Muestra presenta alta concentración del analito en análisis cuantitativo (nivel mayor al LCS). Acción: realice una dilución de la muestra (disminuyendo el volumen de inyección, disminuyendo el volumen de preparación, agregando solvente o matriz blanco a la muestra) y re-inyecte o re-analice. (En el caso de sustancias volátiles reporte el valor como >LCS)
- Si una muestra que resulta positiva fue inyectada directamente después de una muestra que presente una concentración del analito mayor al LCS o al control de arrastre. Acción: re-analice la muestra si la concentración es menor al 10 % de la muestra precedente.
- Mala cromatografía o interferentes (las causas pueden ser muy variadas desde problemas de condiciones del equipo o problemas con los solventes utilizados). Acción: sin importar la causa, comuníquese al líder técnico para que valore la situación y tome las medidas correctivas requeridas. Las medidas correctivas pueden incluir: la revisión de los resultados, un análisis de causa-raíz de la situación, generación de un formulario de registro de NCAP y la re-inyección con nuevos solventes o el re-análisis parcial o total de las muestras.
- Presencia de arrastre en una secuencia de análisis (el arrastre puede ocurrir debido al uso de sistemas cromatográficos de inyección automática o por el amplio rango de concentraciones de drogas detectadas en muestras toxicológicas). Acción: sin importar la causa, comuníquese al líder técnico para que valore la situación y tome las medidas correctivas

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 29 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGÍA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

requeridas. Las medidas correctivas pueden incluir: la revisión de los resultados, un análisis de causa-raíz de la situación, generación de un formulario de registro de NCAP y la re-inyección con blancos de solvente entre las muestras o el re-análisis parcial o total de las muestras.

7.19.4 Anote en la lista de objetos de análisis o en el RAS correspondiente que los resultados no son aceptables y la razón. Incorpore los cromatogramas en el legajo del caso correspondiente.

7.19.5 Identifique los cromatogramas producto de un re-análisis o re-inyección e incorpore los mismos en el legajo del caso correspondiente.

7.19.6 Documente en el RAS involucrado (realizando una anotación al objeto) la re-inyección o re-análisis.

7.19.7 Reporte de resultados aspectos técnicos.

7.19.8 Utilice la lista de límites administrativos o de decisión (LA) de la Sección de Toxicología para decidir si se reporta una sustancia como detectada o no. Para los analitos definidos en esta lista se debe utilizar el criterio establecido como LA, este puede ser igual o superior al LD o LC. Si la sustancia no está en esta lista, utilice como criterio el LD o LC obtenido en la validación respectiva. Reporte el resultado de un análisis en el SADCF y en el Dictamen Criminalístico como:

- “No se detectó”, cuando se tiene un resultado con un nivel de detección menor al LA o LD.
- “Se detectó”, cuando se tiene un resultado cualitativo con un nivel de detección mayor o igual al LA o LD.
- “Positivo presuntivo”, cuando en un inmunoensayo se tiene un resultado interpretado como positivo o con un valor mayor al límite administrativo y dicho resultado no se confirma por los criterios establecidos en la nota 2. Para resultados identificados como “Positivo presuntivo” incluya su definición en el apartado 7 del dictamen (SECCIÓN TÉCNICA: Terminología) para facilitar su comprensión.
- “Se detectó en una concentración menor a (valor del LC)”, cuando se tiene un resultado de una metodología cuantitativa, mayor al LD, pero menor al LC.
- “Se detectó en una concentración de (valor obtenido y su incertidumbre)”, cuando se tiene un resultado cuantitativo mayor o igual al LC y menor o igual al LCS.
- “Se detectó en una concentración mayor a (valor del LCS)”, cuando se tiene un resultado cuantitativo mayor al LCS.

7.19.9 En los casos analizados con la metodología de escrutinio por LC/MS cuando se obtengan concentraciones de analitos siguiendo los criterios establecidos en 7.16.3 Reporte el resultado de un análisis en el SADCF y en el Dictamen Criminalístico como:

- “Se detectó en una concentración de (valor obtenido y su incertidumbre)”, cuando se tiene un resultado cuantitativo mayor o igual al LA (Blanco enriquecido I) y menor o igual a 20 veces el LA (Blanco enriquecido II).
- “Se detectó en una concentración mayor a (valor de 20 veces el LA)”, cuando se tiene un resultado cuantitativo mayor al blanco enriquecido II y no se valore necesario repetir el análisis con una mayor dilución.

7.19.10 Reporte la concentración de las sustancias en $\mu\text{g/mL}$ o ng/mL a menos que el PON específico indique otra cosa (ejemplo: sustancias volátiles en g/L).

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 30 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

7.19.11 Los registros de los resultados de las hojas de cálculo para la estimación de la incertidumbre de medición deben adjuntarse al legajo del caso.

7.19.12 Los resultados cuantitativos deben ser redondeados utilizando las reglas de redondeo convencionales y debe reportarse el valor redondeado correspondiente a utilizar dos cifras significativas en la incertidumbre expandida, a menos que el PON específico indique otra cosa. Ejemplo: valor obtenido 1,23 µg/mL e incertidumbre expandida \pm 0,12 µg/mL.

7.19.13 La incertidumbre de los análisis cuantitativos debe estimarse de acuerdo con lo establecido en el PON General del DCF: Procedimiento para la Estimación de Incertidumbre de los Análisis Forenses. La incertidumbre expandida debe calcularse utilizando el factor de cobertura correspondiente a la distribución utilizada con una probabilidad de cobertura mínima de 95,45% ($p=0,9545$). Por ejemplo:

- factor de cobertura $k= 2$; asumiendo una distribución normal y una probabilidad de cobertura de 95,45% ($p= 0,9545$)
- factor de cobertura $k= 3,29$; asumiendo una distribución normal y una probabilidad de cobertura de 99,9% ($p= 0,999$) (ejemplo: análisis de etanol)
- factor de cobertura $k= 1,653$; asumiendo una distribución rectangular y una probabilidad de cobertura de 95,45% ($p= 0,9545$)

7.19.14 En el apartado de resultados y conclusiones del dictamen reporte el valor promedio calculado como la concentración detectada, la incertidumbre expandida y la probabilidad de cobertura, como lo muestra el siguiente ejemplo:

- Si los datos obtenidos en un caso de cuantificación de un analito son: "Concentración calculada = 1,23 µg/mL e incertidumbre expandida \pm 0,12 µg/mL ($k= 2$; $p= 0,9545$; normal)". El promedio obtenido es 1,23 µg/mL y el intervalo de confianza obtenido con la incertidumbre expandida estimada se encuentra entre 1,11 µg/mL y 1,35 µg/mL. Se debe realizar el reporte de la siguiente manera:
- En el dictamen se reporta: "Nombre del analito": SE DETECTÓ en una concentración de $1,23 \pm 0,12$ µg/mL (probabilidad de cobertura 95,45%)".

7.19.15 Cuando en un caso se solicite explícitamente realizar una declaración de conformidad contra una especificación o norma, a partir de un valor determinado por una cuantificación realizada, estime la probabilidad que el valor exceda o no un límite de tolerancia establecido utilizando la "Hoja de cálculo: Estimación de la probabilidad que un valor se encuentre por debajo o por encima de un límite de tolerancia" y reporte en el dictamen la probabilidad que el resultado se encuentre por encima o por debajo del límite de tolerancia especificado.

7.19.16 La estimación del punto anterior se puede realizar cuando se cumplan los siguientes criterios:

- que la autoridad solicite explícitamente la declaración de conformidad contra una norma específica. (por ejemplo: "Reglamento de Vertido y Reúso de Aguas Residuales Decreto Ejecutivo N.º 33601-MINAE-S")
- que se cuente con un valor cuantitativo del parámetro determinado y el valor estimado de la incertidumbre asociada al mismo.
- que las características de la muestra recibida permitan comparar el valor del parámetro determinado contra la norma, ley o reglamento específico (en el caso de la determinación de etanol en sangre no se puede realizar una comparación directa de los valores obtenidos contra la ley, debido a que la muestra no es obtenida al momento del hecho).

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 31 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- 7.19.17** La estimación de incertidumbre de un análisis cuantitativo de rutina debe ser recalculada al menos una vez al año.
- 7.19.18** Las réplicas de las muestras deben presentar una variabilidad menor a $\pm 20\%$ del promedio de las réplicas, a menos que el PON específico indique otro criterio (ejemplo para etanol que se presenta un criterio variable según nivel de concentración).
- 7.19.19** Si un ensayo se repite más de una vez, y la variabilidad de las réplicas no está dentro del rango aceptable, se puede hacer una excepción y aceptar las réplicas con una variabilidad mayor a lo normal. Dicha excepción debe quedar documentada en el RAS y en el legajo del caso.
- 7.19.20** Si se analizan diluciones múltiples de una muestra, se reporta la muestra menos diluida que se encuentre dentro del ámbito de cuantificación del análisis.
- 7.19.21** Si se utiliza una dilución para el análisis de fluidos biológicos, multiplique los resultados obtenidos, redondeados según el punto 7.19.12 de este procedimiento, por el factor de dilución.
- 7.19.22** Los resultados en orina se reportan de manera cualitativa porque la concentración tiene poco valor interpretativo a menos que se indique lo contrario en el procedimiento específico respectivo.
- 7.19.23** Los resultados de los analitos pueden ser reportados de forma cualitativa, debido a alguna de las siguientes situaciones: que el método utilizado en el análisis sea cualitativo, por directrices específicas de reporte en un PON, porque el método cuantitativo no está desarrollado o disponible, porque en un análisis en serie los criterios de aceptación no fueron satisfactorios y no es posible o práctico el re-análisis de las muestras. En estos casos se reporta la presencia de la sustancia "se detectó ..."
- 7.19.24** Las sustancias confirmadas incidentalmente por un escrutinio que no están solicitadas específicamente por el cliente o mencionadas en la historia del caso pueden ser reportadas como presentes (se detectó) sin ser necesaria la comunicación previa con el cliente.
- 7.19.25** El reporte de la presencia de una sustancia en varias matrices puede ser usado para dar soporte a resultados analíticos que lo requieran. Ejemplo: metadona en sangre (resultado cuantitativo en NPD) y metadona en hígado y orina (resultado de un escrutinio cualitativo).
- 7.19.26** En caso de resultados presuntivos en los que no hay metodología para confirmar, indíquelo en el reporte: "La confirmación de ... no está actualmente disponible".
- 7.19.27** Cuando se utiliza métodos que incluyen la captura de señales no dirigidas (Full Scan en LC/MS o GC/MS) y se encuentra una sustancia mediante comparación espectral que no puede ser confirmada (no se tiene un CRM), se puede reportar como "se detectó una sustancia con características similares (mencionar cuales) al "analito que se sospecha" siempre y cuando se considere importante en la interpretación toxicológica del caso. Por ejemplo: "Se detectó una sustancia con espectro de fragmentación de masas similar a la ibogaína".
- 7.19.28** Proceda de la siguiente manera para el registro de información o generación del reporte (dictamen) en cuanto a los siguientes aspectos administrativos
- 7.19.29** Registre el sexo y fecha de nacimiento (o edad) de la persona involucrada en la solicitud de dictamen pericial (persona ofendida, imputada, interesada u otra) en el SADCF, por medio de una anotación, de ser requerido para algún aspecto de lo solicitado por la Autoridad Judicial y si dicha información está disponible.

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 32 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

7.19.30 Registre en el apartado de notas del dictamen cualquier información interpretativa de considerarlo necesaria para el reporte de resultados, de una forma clara y comprensible para la autoridad solicitante, además de una nota en la que se indique:

- que la misma no es necesariamente exhaustiva ni pretende abarcar todos los escenarios toxicológicos,
- si la información interpretativa brindada es de manera general o hace referencia a estudios específicos,
- si la información interpretativa es referente a la matriz analizada o no, en caso de requerirse,
- que esta se incluye como una guía para el lector,
- que para cualquier caso dado se requiere la consulta con un toxicólogo forense.

Nota 11: Entienda como información interpretativa las Declaraciones sobre los analitos detectados que pueden incluir, entre otros: información farmacológica; farmacocinética o toxicocinética; farmacodinámica o toxicodinámica; o información sobre factores que pueden afectar la detección o cuantificación del analito.

7.19.31 Proceda a registrar la referencia bibliográfica respectiva en el SADCF que respalda la información interpretativa incluida en el dictamen. La misma no representa ni un resultado, ni una interpretación, ni una conclusión u ni una opinión.

7.19.32 Indique en los dictámenes periciales el listado de los analitos incluidos en los esquemas de análisis realizados. El cual es actualizado anualmente o de presentarse un cambio en el procedimiento de operación normado. Para un caso determinado de este listado puede eliminarse los analitos para los que no se cuenta con los controles que garanticen la detección de estos, así como los que no cumplieron con los criterios de aceptación para los controles utilizados en dicha metodología.

7.19.33 Proceda en los casos de analitos detectados presuntivamente y no confirmados por los criterios establecidos en la nota 2, a indicar a la Autoridad Judicial en el dictamen pericial como proceder si requiere solicitar los análisis no realizados.

7.19.34 En la Sección de Toxicología del Departamento de Ciencias Forenses no se reporta resultados preliminares (inconclusos) de un caso en un dictamen pericial. Ni se emiten resultados, interpretaciones u opiniones de forma verbal, salvo que lo anterior sea solicitado en un Tribunal y que se cuente con lo requerido para tal fin. Ver Procedimiento de Atención y Servicio al Cliente.

7.19.35 Proceda a indicar en el dictamen pericial o ampliación los resultados, interpretaciones y opiniones (ver apartado de terminología de este procedimiento) según se indica en el procedimiento de operación normado Gestión de Solicitudes y Manejo de Indicios. Las redacciones específicas para las diferentes metodologías de la sección se encuentran en los catálogos del SADCF.

Nota 12: Tome en cuenta que la opinión técnica no es parte del dictamen (reporte) inicial, solo se emite a solicitud expresa de la Autoridad Judicial, de manera escrita mediante una ampliación del dictamen pericial o de manera verbal mediante testimonio en corte.

7.19.36 Indique en el dictamen pericial o ampliación mediante una nota que las interpretaciones u opiniones pueden estar sujetas a cambios en función de nueva información que esté disponible en un momento dado.

7.19.37 Verifique o indique según sea el caso en el dictamen pericial o ampliación que la interpretación u opinión toxicológica experta:

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 33 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGÍA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Se expresa de manera clara y coherente
- Se basa en principios y fundamentos científicos establecidos y en la totalidad de la información disponible
- Incluye información sobre documentos y registros específicos del caso
- Tiene referencias que la apoyan
- Se indica cualquier limitación conocida de la misma
- Se indican las suposiciones realizadas

7.19.38 Emita una ampliación a un dictamen pericial haciendo referencia al número de dictamen original emitido anteriormente, incluyendo los resultados adicionales, siguiendo lo establecido en el procedimiento de operación normado de gestión de solicitudes y manejo de indicios.

7.19.39 Siga lo establecido en el documento ANSI/ASB Standard 037 Guidelines for Opinions and Testimony in Forensic Toxicology, First Edition, 2019 (3.3) para la emisión de testimonio en corte u opiniones en toxicología forense previa solicitud de la autoridad judicial, teniendo presente lo siguiente.

- A un toxicólogo se le puede requerir expresar una opinión experta o testimonio como testigo experto o testigo de hecho.
- El testigo de hecho testifica sobre el trabajo realizado en el laboratorio que incluye principios científicos, instrumentación, procedimientos de aseguramiento de la calidad y/o cadena de custodia.
- El testigo experto testifica generalmente sobre su propia interpretación de resultados u opiniones.

7.19.40 Se considera apropiado para la expresión de opiniones toxicológicas expertas orales o escritas lo siguiente:

- Discutir un informe de laboratorio y cualquier trabajo analítico que soporte el informe, abordando las limitaciones respectivas.
- Calificar una concentración reportada en el contexto de un caso dado como subterapéutica, terapéutica, tóxica o letal cuando esa declaración pueda estar respaldada por referencias, bases de datos u otra información relevante.
- Abordar la farmacocinética y toxicocinética, así como la farmacodinámica y toxicodinámica de drogas u otros químicos.
- Discutir el impacto toxicológico de la presencia, ausencia o estabilidad de drogas y otros químicos.
- Abordar el deterioro para el individuo promedio en la medida que los efectos sean consistentes con propiedades farmacodinámicas y toxicodinámicas documentadas de la sustancia y dentro del contexto de un caso dado.
- Realizar o discutir cálculos toxicológicos que son generalmente aceptados en el campo y que pueden ser soportados por investigaciones y referencias, indicando las limitaciones respectivas. Por ejemplo, pueden ser realizados cálculos de extrapolación retrospectiva de etanol.

7.19.41 Se considera inapropiado para la expresión de opiniones toxicológicas expertas orales o escritas lo siguiente (ya que actualmente carecen de consenso dentro de la comunidad científica o generalmente están más allá del alcance de la experiencia del toxicólogo):

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 34 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

- Un toxicólogo no debe opinar sobre la causa absoluta de muerte de un individuo. Esto no impide que un toxicólogo aborde el impacto toxicológico de cualquier sustancia encontrada en el análisis toxicológico de las muestras del caso.
- Un toxicólogo no debe abordar el comportamiento mostrado basándose únicamente en la concentración de un fármaco.
- Un toxicólogo no debe opinar sobre el grado de deterioro de un individuo específico basándose únicamente en un resultado cuantitativo.
- Un toxicólogo no debe implicar un deterioro de un individuo basado en hallazgos analíticos de orina, cabello u otras matrices a menos que esté respaldado por la literatura.
- Un toxicólogo no debe opinar sobre la causa absoluta de un accidente.
- Un toxicólogo no debe realizar cálculos de extrapolación para drogas distintas al etanol.
- Un toxicólogo no debe calcular la dosis de una droga basándose en una concentración de droga post mórtem en sangre.
- Un toxicólogo no debe calcular la dosis de una droga (con la excepción del etanol) mediante cálculos de carga corporal.
- Un toxicólogo no debe opinar sobre los efectos de una droga o una combinación de drogas en un individuo específico sin el contexto de un caso determinado. Esto no impide que un toxicólogo aborde los efectos generales de drogas en concentraciones variables.
- Un toxicólogo no debe usar palabras como "certeza científica" o "grado razonable de certeza científica", a menos que lo requieran las regulaciones jurisdiccionales.

7.20 Validación de métodos de análisis

- 7.20.1** Siga lo indicado en el procedimiento de operación normado para la validación de métodos de análisis forenses y lo señalado en el documento ANSI/ASB Standard 036, Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology, First Edition, 2019 (3.1); para llevar a cabo las validaciones y generar los registros respectivos de dichas validaciones.
- 7.20.2** Valide los parámetros de los métodos de toxicología forense (métodos de escrutinio, métodos cualitativos de identificación y confirmación y métodos cuantitativos) de acuerdo con lo indicado en el documento ANSI/ASB Standard 036. (3.1)
- 7.20.3** Realice la validación con las mismas condiciones y técnicas analíticas que el método desarrollado final y en condiciones similares al trabajo rutinario de casos, teniendo presente que los equipos instrumentales cumplan con los mismos requisitos establecidos para dicha labor.
- 7.20.4** Utilice material de referencia del analito o analitos de interés en la determinación y optimización de los parámetros instrumentales y de procesamiento de datos.
- 7.20.5** Utilice material de referencia del analito o analitos de interés en la preparación de las muestras, por medio de la utilización de matrices blanco-enriquecidas o de un material de referencia en la matriz de estudio. Lo anterior con el fin de demostrar que los pasos de preparación de la muestra permiten una extracción, detección, identificación y/o cuantificación adecuada de los analitos contra los criterios de validación establecidos.
- 7.20.6** Realice las validaciones utilizando muestras enriquecidas para cada tipo de matriz al que aplique un método analítico, al menos que se indique lo contrario en un procedimiento de operación normado específico. Realice la preparación de dichas muestras idealmente a partir de materiales de referencia que sean de fuente diferente (por ejemplo, proveedor o número de lote) que los utilizados para preparar los calibradores. De utilizarse la misma fuente utilice

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 35 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

pesadas o disoluciones diferentes para la preparación de estas. Puede utilizarse muestras humanas o de origen animal previamente caracterizadas.

7.20.7 Mantenga registros de la validación de los métodos de análisis, incluidos los resultados de la evaluación de parámetros durante el desarrollo del método, independientemente de que los mismos generen resultados aceptables o no. Los registros de validación son los establecidos en el documento ANSI/ASB Standard 036. (3.1)

7.20.8 Los métodos validados antes de la adopción del documento ANSI/ASB Standard 036, son revalidados con base a los requisitos establecidos en dicho documento, demostrándose que los mismos son aptos para su uso. Utilizando para lo anterior de ser posible datos históricos de calibraciones y controles de la metodología analítica específica.

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

Este procedimiento, en su mayor parte, no es un procedimiento de aplicación directa en el laboratorio, sino que contiene políticas, directrices, criterios y acciones correctivas específicas de la Sección de Toxicología, que son aplicables en los demás procedimientos. Por lo anterior, los criterios de aceptación y rechazo y las posibles acciones correctivas, se encuentran en el punto específico del apartado 7 del procedimiento para que sea más fácil su lectura y comprensión.

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

N/A

10 Reporte de Análisis y Resultados:

N/A

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

- Las muestras deben manipularse con todos los cuidados que requieren las muestras de origen biológico. Utilice siempre gabacha, anteojos de seguridad y guantes desechables al manipular las muestras.
- Los tubos con muestras deben transportarse dentro del laboratorio en las gradillas destinadas para este uso.
- Siempre que salga del área de laboratorios, deseche los guantes, lávese las manos y deje la gabacha en la entrada.
- No abra ningún recipiente con disolventes volátiles fuera de la capilla de extracción de gases.
- Si ocurre un derrame de algún reactivo o material biológico, refiérase al Manual de Seguridad y Salud Ocupacional del Departamento de Ciencias Forenses.
- Informe cualquier accidente donde se presuma contacto con material bio-infeccioso al Jefe de Sección o quién este encargado del laboratorio en ese momento para que se le indique el procedimiento a seguir.
- Si ocurre contacto de algún reactivo con los ojos, acuda inmediatamente a la ducha para ojos que se encuentra en el laboratorio.
- Si ocurre algún derrame importante de disolventes o ácido en la ropa o la piel utilice la ducha que se encuentra en el laboratorio.

| | | |
|--|-------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 36 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

12 Simbología:

| | |
|------------------|--|
| AAFS: | American Academy of Forensic Science |
| ANSI: | American National Standard Institute |
| ASB: | AAFS Standard Board |
| C.G.: | Contenido Gástrico. |
| CRM: | Material de Referencia Certificado (del inglés Certified Reference Material), también denominado como MRC. |
| CV%: | Coeficiente de variación porcentual (siglas en inglés: RSD%) |
| DCF: | Departamento de Ciencias Forenses |
| GC/FID: | Cromatografía de gases con detección de ionización de llama |
| GC/MS: | Cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas |
| HPLC/DAD: | Cromatografía líquida con detección de arreglo de diodos. |
| LA: | Límite Administrativo o de decisión. |
| LC/HRMS: | Cromatografía líquida con detección de espectrometría de masas de alta resolución. |
| LC/MS/MS: | Cromatografía líquida con detección masas en tandem. |
| LC/MS: | Cromatografía líquida con detección de espectrometría de masas |
| LC: | Límite de cuantificación (siglas en inglés: LOQ) |
| LCS: | Límite de cuantificación superior (siglas en inglés: ULOQ) |
| LD: | Límite de detección (siglas en inglés: LOD). |
| MS/MS: | Espectrometría de masas en tándem. |
| N/A: | No aplica |
| NCAP: | Formulario de Análisis y seguimiento de trabajo no conforme, acciones preventivas. |
| NPD: | Detector nitrógeno fósforo |
| O.I.J.: | Organismo de Investigación Judicial |
| O.I.M.L.: | Organización Internacional de Metrología Legal. |
| PON: | Procedimiento de Operación Normado |
| r: | Coeficiente de correlación |
| r ² : | Coeficiente de determinación |
| RAS: | Registro de análisis en serie, registrado en el SADCF. |
| RPM: | Redistribución post mortem. |
| SADCF: | Sistema Automatizado del Departamento de Ciencias Forenses |
| SCAN: | Monitoreo de escaneo completo |
| SCD: | Solicitud de cambio documental |

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 37 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

| | |
|-------|----------------------------------|
| SGC: | Sistema de Gestión de Calidad |
| SIM: | Monitoreo de ion selectivo |
| SRM: | Monitoreo de reacción selectiva. |
| THC: | Tetrahidrocannabinol. |
| TR: | Tiempo de retención absoluto |
| TRR: | Tiempo de retención relativo |
| UGC: | Unidad de Gestión de Calidad |
| UV: | Ultravioleta. |
| WADA: | World Anti-Doping Agency. |

13 Terminología:

Información interpretativa: Declaraciones sobre los analitos detectados que pueden incluir, entre otros: información farmacológica; farmacocinética o toxicocinética; farmacodinámica o toxicodinámica; o información sobre factores que pueden afectar la detección o cuantificación del analito.

Interpretación: Es una explicación de los resultados a partir de observaciones de análisis o inspección, datos y cálculos, la cual se puede apoyar en información de referencia. Por ejemplo, ante la presencia de benzoilecgonina en sangre la interpretación sería: "A partir de los resultados obtenidos puede asegurarse que hubo exposición a la cocaína".

Opinión técnica: Juicio, razonamiento, inferencia, valoración o creencia que se forma una persona respecto de algo o de alguien, tomando en cuenta por ejemplo las observaciones, los datos, experiencia en casos similares y cualquier otra información relevante. La opinión no es parte del dictamen (reporte) inicial, solo se emite a solicitud expresa de la Autoridad Judicial, de manera escrita mediante una ampliación del dictamen pericial o de manera verbal mediante testimonio en corte. La opinión técnica es sinónimo de opinión toxicológica experta u opinión.

Resultado: Producto del proveedor de servicios forenses que se indica mediante un dato o un conjunto de datos, observaciones o inferencia a partir de análisis o inspecciones que son efecto y consecuencia de un hecho, operación o deliberación, tal como la aplicación de un procedimiento analítico o de inspección o el producto de cálculos realizados a partir de dichos datos. Por ejemplo, si se detectó o no una sustancia, o la concentración de etanol en sangre y su incertidumbre.

Conclusión: Término utilizado en la legislación nacional atinente a los servicios forenses. En el DCF se entiende como conclusión tanto la interpretación de un análisis o inspección como la opinión técnica.

14 Anexos

| No. de Anexo | Nombre del Anexo |
|--------------|--|
| 1 | Fórmulas utilizadas en el cálculo de la concentración de una disolución de acuerdo con el CRM utilizado y el tipo de preparación |

| | | |
|--|-------------------|--------------------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES | VERSIÓN 09 | PAGINA: 38 de 39 |
| MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE | P-DCF-ECT-TOX-037 | |

ANEXO NÚMERO 1

Fórmulas utilizadas en el cálculo de la concentración de una disolución de acuerdo con el CRM utilizado y el tipo de preparación

CRM en forma de líquido puro (preparación utilizando masa por densidad)

$$C_f = \frac{d \times (p/100) \times V_i \times 1000}{V_f}$$

Donde:

C_f = Concentración final del analito en g/L en la disolución madre

d = Densidad del material de referencia (líquido puro) del analito en kg/L

p = Porcentaje de pureza del material de referencia

V_i = Volumen agregado del material de referencia del analito

V_f = Volumen final de la disolución madre

CRM en forma de disolución (preparación utilizando masa por concentración)

$$C_f = \frac{C_i \times V_i}{V_f}$$

Donde:

C_f = Concentración final del analito en la disolución preparada (unidades= C_i)

V_f = Volumen final de la disolución preparada del analito en mL

C_i = Concentración del analito en la disolución inicial

V_i = Volumen agregado de la disolución inicial del material de referencia del analito en mL

CRM en forma de sólido puro (preparación utilizando masa por medición)

$$Cn_{madre} = \frac{M_{MR} \times \frac{P_{MR}}{100} \times \frac{PM_{ANA}}{PM_{MR}}}{V_f} \times 10^3$$

Donde:

Cn_{madre} = Concentración de la disolución madre en mg/mL.

M_{MR} = Masa del material de referencia en g.

P_{MR} = Porcentaje de pureza del material de referencia.

PM_{ANA} = Peso molecular del analito (en g/mol).

PM_{MR} = Peso molecular del material de referencia en g/mol.

V_f = Volumen final de la disolución en mL.

COPIA NO CONTROLADA