



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

CARRERA: QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

**TESINA: "DETERMINACIÓN DE PARACETAMOL EN
CASO DE INTOXICACIÓN"**

QUE PRESENTA MARÍA DE LOURDES ZAPATA BUENDÍA

No. DE CUENTA: 9365714-9

ASESOR: MTRO. VALENTÍN ISLAS PERÉZ

CIUDAD DE MÉXICO

ABRIL 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres e Hijos

Agradecimiento:

Agradezco a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza U.N.A.M. por brindarme la oportunidad de cursar la carrera con excelentes maestros en mi generación y formar el carácter que nos identifica como egresado.

Agradezco a la empresa que elaboro por la confianza, el apoyo y el impulso, permitiendo la superación personal, emocional para finalizar mi titulación,

Agradezco al ser divino que está dentro de mí, quien me ha permitido en conocer personas tan profesionales y me han ayudado a reafirmar la carrera y no soltar la ilusión de este momento y los que vienen

Agradezco a mis diferentes jefes de trabajo que ayer como hoy han visto la formación de la carrera, enriqueciendo de su experiencia: QFB Esperanza Dávila, QFB Lorena Herrera, QFB Brenda, QFB Joanna Villanueva, QFB Ruth Valles Apolonio, QFB Leticia Gordo.

Agradezco a los maestros sinodales que me orientaron y apoyaron en revisar la elaboración de la tesis, de su paciencia y tolerancia: Mtro. Valentín Islas, Mtra. Griselda Fuentes, Mtra. María del Rosario Benítez, Mtra. Verónica Martínez y Mtro. Osvaldo Garrido.

Agradezco a mis amigos y amigas, de carrera, del trabajo y del alma que en cada retroceso me daban ese empujón con más fuerza, cuando estaba en la derrota, sugiriendo otras opciones para no rendirme: Guadalupe, Irala, Fabiola, Martín Alberto, Brenda, Daniel, Odette, Lili, Lizbeth, Erika, Miguel, Ruth, Eduardo, Laura, Javier, Sergio, Erick, Monserrat, y varios más que no quiero omitir y los llevo en mi corazón, porque aprendí, la verdadera amistad, jamás envejece.

Agradezco, a mis familiares por su admiración y respeto a mi profesión: Abuelita tíos, primos, sobrinos, suegros y cuñados

Agradezco a las personas que creyeron que no lograría, porque me hicieron sacar mi ser, mi esencia, mi carácter, mi terquedad y fortaleza

Dedicatoria:

Dedico este logro a mi Madre Rosa Buendía Cruz, por el apoyo incondicional, en sus enseñanzas de crecer emocional y profesional.

Dedico este logro a mi Padre Manuel Zapata López, por brindarme es carácter de no rendirme, de no quitar el dedo del renglón, de cerrar círculos

Dedico este logro a mi Hijo Alfredo Martínez Zapata porque el me volvió la fuerza de voluntad, el coraje, el sentido de responsabilidad, quien ha estado a mi lado compresivo en mi desarrollo profesional

Dedico este logro a mi Hijo Carlos Iván Martínez Zapata, por ser en mi vida el remolino de sueños, ilusiones, esperanza y fuerza para seguir adelante, permitiéndome ser su ejemplo de superación

Dedico este logro a mis hermanas del alma: Belem Guerrero y Verónica Martínez que el pasar de los años siempre me motivaron en continuar, apoyando, aconsejando, siempre atenta y preocupadas en mi trayectoria de vida.

Dedico al amor que en cierto momento fue egoísta, celoso, impotente para comprenderme en mi inquietud de superación Alfredo.

GRACIAS.

ÍNDICE	PÁGINA
ABREVIATURAS	9
DEFINICIONES	10
RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	14
1. MARCO TEÓRICO	15
1.1. PROPIEDADES QUÍMICAS	17
1.2. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS	18
1.2.1. Liberación	19
1.2.2. Absorción	20
1.2.3. Distribución	22
1.2.4. Metabolismo	23
1.2.5. Eliminación	31
1.3. INTOXICACIÓN POR PARACETAMOL	32
1.3.1. Dosis tóxica aguda	32
1.3.2. Dosis tóxica crónica	33
1.4. LAS FASES DE LA INTOXICACIÓN POR PARACETAMOL	36
1.5. HEPATOXICIDAD	38
1.6. DIAGNÓSTICO	40
1.6.1. NOMOGRAMA RUMACK – MATHEWS.	44
2. PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA	48
3. OBJETIVOS	49
3.1. Objetivo General	49
3.2. Objetivo Particular	49

ÍNDICE	PAGINA
4. DETERMINACIÓN DE PARACETAMOL	50
4.1. Ensayos Cualitativos	54
4.1.1. Reacción de Orto-Cresol	56
4.1.2. Reacción Cloruro ferrico	58
4.1.3. Reacción Folin-Ciocalteu	59
4.1.4. Reacción de Liebermann	61
4.1.5. Reacción de Nessler	63
4.2. Ensayo Cuantitativos	65
4.2.1. Espectrofotometría UV y Visible	66
4.2.2. Inmunoensayo	73
4.2.3. Cromatografía	80
4.3. EPIDEMIOLOGÍA	89
5. RESULTADOS	90
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	93
7. CONCLUSIÓN	95
8. PROPUESTA	96
9. BIBLIOGRAFÍA	97

ABREVIATURAS

IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada

FDA: Food and Drug Administration

EE.UU: Estados Unidos de America

PAP, p-aminofenol: para aminofenol

mg: miligramos

min: minutos

Vol: volumen

°C: grados centigrados

g: gramos

ml: mililitros

kg: kilogramos

hrs: horas

C.S.G.: Consejo de Salubridad General

Vd: Volumen aparente de distribución

AINE: Antiinflamatorio No Esteroide

NAPQI: N-acetil-p- benzoquinonimina

CYP450: Citocromo P450 hepática

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

PTP: Permeabilidad transitoria de poro

ANT: Adenina neucleotido translocasa

t_{1/2}: Semivida de eliminación vida

AZT: Zidovudina

NAC: N-acetilcisteína

SGOT: Transaminasas glutámico oxalacética

SGPT: Transaminasa glutámica pirúvica

FR: Factores de Riesgo de hepatotoxicidad

GHB: Gamma-hidroxi-butirato

LOD: Límite de detección

DEFINICIONES

Volumen aparente de distribución (Vd): Volumen en que debería distribuirse la cantidad de medicamento administrada para alcanzar la misma concentración que en la sangre.

Hepatotoxicidad: Es la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos.

Factores de riesgo de hepatotoxicidad: Se considera a las personas alcohólicos crónicos, consumidores de medicamentos, inductores hepáticos, pacientes con anorexia nerviosa o caquexia de cualquier origen

RESUMEN

La advertencia de una sobredosis no es considerada como relevante para quien lo consume como para quien prescribe, algunos subestiman los posibles efectos mortales del paracetamol. El diagnóstico precoz es vital, pero frecuentemente se dificulta por el retraso en la aparición de los primeros síntomas (hasta 48 hrs), elevando el significado de la mortalidad. El objetivo es realizar una revisión bibliográfica sobre la determinación de paracetamol en caso de intoxicación durante los últimos 10 años. Con el fin de resaltar los diferentes métodos existentes para auxiliar al Químico y al Médico. Se realiza un estudio retrospectivo de tipo descriptivo de los últimos 10 años.

El papel que tiene la medición de los niveles séricos de paracetamol en todos los casos de sobredosis, la posibilidad de realizar pruebas de determinaciones cualitativas y cuantitativas de paracetamol, permite confirmar o descartar su presencia con el fin de un diagnóstico oportuno. La gran variedad de métodos, específicos para la determinación en caso de intoxicación con paracetamol se ordenaron por la facilidad de elaborar de acuerdo a adquirir el equipo, eficacia y tiempo. Las diferentes técnicas analíticas propuestas resultan útiles y rápidas para la identificación de las sustancias tóxicas que originen una hepatotoxicidad. En conclusión, algunos autores recomiendan que se deba incluir una prueba cualitativa para la búsqueda rápida del paracetamol pero no es efectiva y puede haber falsos positivos. La determinación por espectroscopia es un método muy usado en los laboratorios clínicos, se puede utilizar suero u orina del paciente;

INTRODUCCIÓN

El paracetamol es un medicamento muy popular, con propiedades contra el dolor y la fiebre, puede conseguirse en las farmacias sin receta médica; es eficaz y seguro a las dosis terapéuticas recomendadas, pero al mismo tiempo, pertenece a un grupo de medicamentos que al ser consumidos a dosis mayores de las que se recomiendan, pueden ser tóxicos para el hígado. Esto ocurre tanto en personas sanas como en pacientes con algunos factores de riesgo y se debe a que durante el proceso de transformación del paracetamol en el hígado, se producen sustancias tóxicas en pequeña cantidad. En cambio, cuando se consume el paracetamol a dosis demasiado altas, se produce también una gran cantidad de sustancias tóxicas que el hígado no puede depurar, produciéndose así el daño en el propio hígado. No es considerada como relevante, algunos subestiman los posibles efectos mortales del paracetamol^{1, 2}.

Datos clínicos sugieren que la toxicidad del paracetamol ocurre con ingestiones agudas superiores a los 150 mg/kg en niños menores de 12 años o 750 mg totales en adultos y niños mayores de 12 años. La medida de la concentración plasmática del paracetamol es esencial para la identificación de la sobredosis, del riesgo de hepatotoxicidad y de la necesidad de iniciar terapia³. El objetivo es realizar una revisión bibliográfica sobre la determinación de paracetamol en caso de intoxicación durante los últimos 10 años. Con el fin de resaltar los diferentes métodos existentes para auxiliar al Químico y al Médico.

1. MARCO TEÓRICO

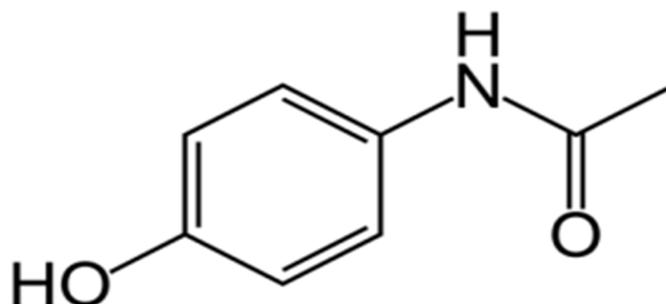


Figura 1. Estructura química del paracetamol

Fue introducido en la medicina en 1893 por Von Mering, es uno de los analgésicos y antipiréticos de mayor uso clínico y domiciliario debido a su libre comercialización, su alta efectividad y su bajo costo, lo cual hace más fácil que sea uno de los principales agentes causantes de sobredosis accidentales e intencionales que conllevan a consultar a los servicios de urgencias. Este medicamento fue aprobado por la **FDA** (*Food and Drug Administration*) en 1960, como tableta de 325 mg de liberación inmediata, las cápsulas y tabletas de 500 mg fueron aprobadas en 1973 y 1975 respectivamente. A partir del año 1993, la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (**IUPAC**), nombró al paracetamol como **N-(4-hidroxifenil)etanamida**. El nombre de paracetamol o acetaminofén, procede de la nomenclatura orgánica tradicional, N- acetil- para- aminofenol, y para- acetil- aminofenol (Figura 1)⁴.

Los medicamentos que contienen paracetamol se encuentran disponibles en muchas formas, tales como gotas, jarabes, cápsulas, píldoras, soluciones y suspensiones, etc. Las presentaciones para administración por vía oral es en comprimidos con dosis de 500, 650 y 1000 mg, en jarabes a concentración de 100 a 150 mg/ml en presentaciones de 30, 60 o 90 ml según las marcas comerciales y es posible también su administración rectal con supositorios a dosis de 150, 300 y 600 mg. También se encuentra en combinación con otros ingredientes activos, lo que se denomina medicamentos combinados y sirven para tratar afecciones como: síntomas de resfríos y gripe, alergias e insomnio. Basados en la literatura disponible, la **FDA** en Estados Unidos de América (EE.UU) ha determinado que el paracetamol es seguro y efectivo a una dosis máxima diaria de 4 gramos (g) en 24 horas (hrs). En la tabla 1 son las diferentes presentaciones del paracetamol en el cuadro básico 2014 del Cuadro básico del Consejo de Salubridad General (C.S.G)⁵.

CLAVE	DESCRIPCIÓN	INDICACIÓN	VÍA DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIS
0104	TABLETA Cada tableta contiene: Paracetamol 500 mg Envase con 10 tabletas	Fiebre Dolor agudo o crónico	Oral. Adultos: 500 mg cada 4 ó 6 hrs
0106	SOLUCIÓN ORAL Cada ml contiene: Paracetamol 100 mg Envase con 15 ml, gotero calibrado a 0.5 y 1 ml, integrado o adjunto al envase que sirve de tapa		Oral. Niños: De 10 a 30 mg/kg de peso corporal, cada 4 ó 6 hrs
0105	SUPOSITORIO. Cada supositorio contiene: Paracetamol 300 mg Envase con 3 supositorios		Rectal. Adultos: 300 – 600 mg cada 4 ó 6 hrs
0514	SUPOSITORIO. Cada supositorio contiene: Paracetamol 100 mg Envase con 3,6 ó 10 supositorios		Rectal. Niños: Mayores de 6 meses a 1 año 100 mg cada 12 hrs De 2 a 6 años: 100 mg cada 6 u 8 hrs De 6 a 12 años: 300 mg cada 4 ó 6 hrs

Tabla 1. Presentaciones del paracetamol en el cuadro básico 2014 C.S.G⁵.

1.1. PROPIEDADES QUÍMICAS

El paracetamol son cristales incoloros o polvo cristalino o blanco, inodoro y de sabor ligeramente amargo. Es una sustancia de bajo peso molecular y de mediana hidrosolubilidad y con un pK de 9.5. Prácticamente insoluble en éter de petróleo, diclorometano, pentano, benceno. Funde de 168 a 172° C, tiene un pH en solución acuosa saturada de 5.3 a 6.5, en la tabla 2 describe las propiedades químicas del paracetamol. Es incompatible con agentes oxidantes fuertes; se descompone en presencia de óxidos de nitrógeno, nitrógeno, monóxido y dióxido de carbono, gases y vapores tóxicos e irritantes⁶.

NOMENCLATURA IUPAC N-(4-HIDROXIFENIL) ETANAMIDA	
Fórmula química	C ₈ H ₉ NO ₂
Peso molecular	151,17 g/mol
Biodisponibilidad	Aproximadamente 100%
Metabolismo	90 a 95% hepático
Semivida	1 – 4 hrs
Excreción	Renal

Tabla 2. Propiedades Químicas del paracetamol⁶

Las reacción del para- acetil- aminofenol (p-aminofenol) con anhídrido acético, produce la acetilación del primero, obteniéndose como productos el paracetamol y ácido acético (figura 2). Por ello es un derivado del p-aminofenol al igual que la fenacetina con efecto antipirético y analgésico, pero poco efecto antiinflamatorio. No se considera un **AINE** (Antiinflamatorio No Esteroide), ya que no muestra significativa actividad anti-inflamatoria ⁶.

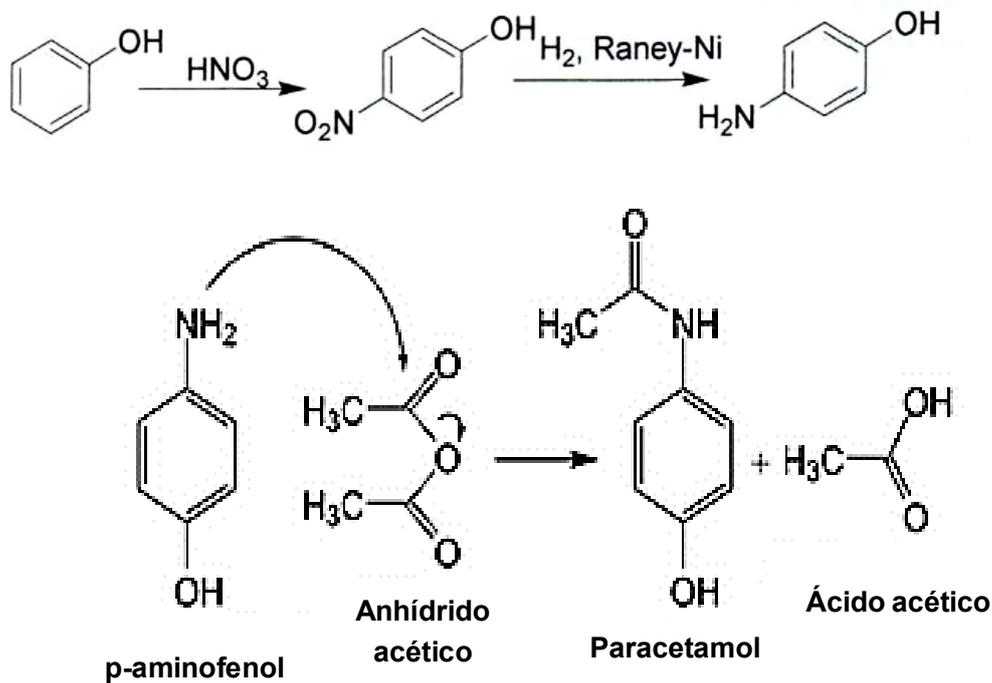


Figura 2. Síntesis del paracetamol⁶

1.2. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

El paracetamol se absorbe por vía digestiva de forma rápida alcanzando un pico plasmático a los 40-60 min (minutos) (30 min en preparados líquidos). En sobredosis la mayor parte de paracetamol se absorbe en 2 hrs pero no alcanza el pico plasmático hasta las 4 hrs, aunque puede ser a las 6 ó más hrs⁷.

El paracetamol no es tóxico, su toxicidad es debida a la acción del metabolito intermedio N-acetil-p-benzoquinonimina (**NAPQI**) generado al biotransformarse a través de la vía oxidativa hepática. A dosis terapéuticas, el NAPQI generado se une

al glutatión intracelular y a otros compuestos tiólicos formándose un conjugado atóxico tal como se ha mencionado en el apartado anterior (figura 3)⁷.

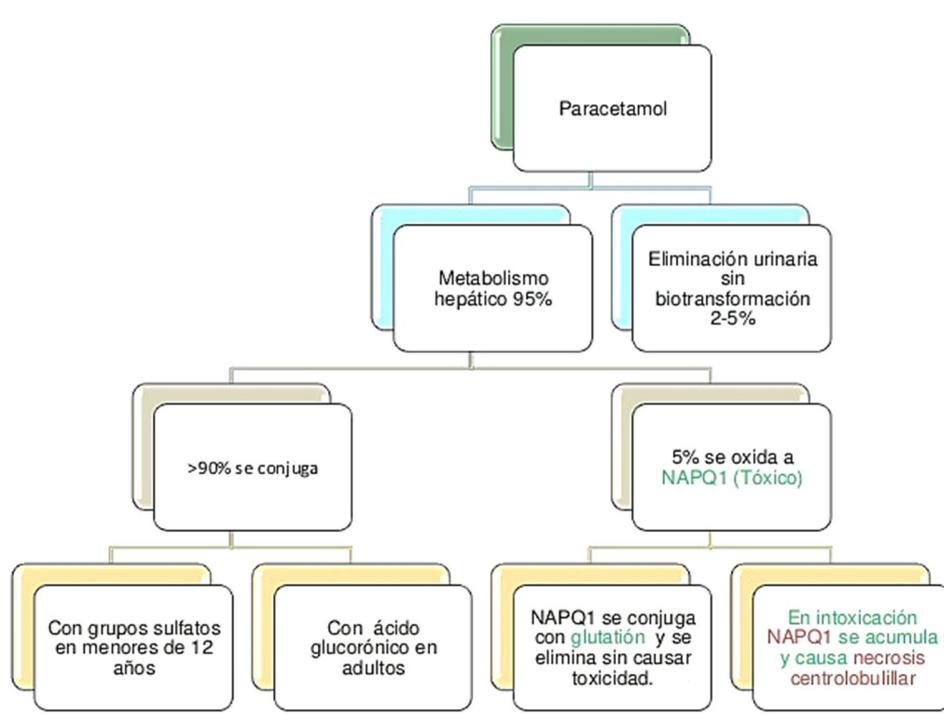


Figura 3. Biotransformación del paracetamol⁷

1.2.1. Liberación. Es el proceso mediante el cual el paracetamol presente en una forma farmacéutica queda libre para ser absorbido. La liberación del paracetamol se realiza en el sitio de administración oral, el paracetamol debe separarse del vehículo o del excipiente con el que ha sido preparado y dependiendo de la forma de presentación, comprende tres procesos ⁷:

- Desintegración del paracetamol
- Desagregación del paracetamol
- Disolución del paracetamol

Es un eficaz antipirético y analgésico que ejerce su acción clínica por similares mecanismos a los salicilatos. Reduce la fiebre por acción sobre el centro que regula la temperatura en el hipotálamo y produce analgesia por elevación del umbral del dolor. Es eficaz para el tratamiento de una amplia gama de cuadros artríticos y reumáticos que cursan ya sea con dolor muscular o musculoesquelético como también para el dolor de cefaleas, dismenorreas⁷.

- No inhibe la activación de neutrófilos como lo hacen otros antiinflamatorios no esteroideos.
- No irrita el estómago. No produce cambios acido-básicos, no causa erosión ni hemorragia.
- No genera efecto alguno en plaquetas, tiempo de sangrado ni en la excreción de ácido úrico⁷.

1.2.2. Absorción. La absorción se define como la cantidad y velocidad con la que la sustancia activa pasa al compartimento intravascular. La vía de administración del paracetamol (oral, intravenosa, rectal...) es el principal determinante de la fracción de sustancia que alcanza la circulación sistémica y de la velocidad de absorción⁷.

La absorción digestiva es rápida en el intestino delgado debido a su grupo hidroxilo aromático del paracetamol, acepta una vida media de absorción de 30 min – 60 min, consiguiendo concentraciones pico en plasma y efecto clínico entre

0,5-2 hrs. consiguiéndose niveles terapéuticos (10-20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) y efecto clínico entre 30 min y 2 hrs después de una dosis (10-15 mg/Kg cada 4 hrs). La velocidad de absorción depende fundamentalmente de la velocidad de vaciamiento gástrico: se retrasa con los alimentos (especialmente aquéllos ricos en carbohidratos) y medicamentos que demoren el vaciamiento (opioides y anticolinérgicos), y se facilita con aquellos que lo aceleren (metoclopramida) (Figura 4)⁷.

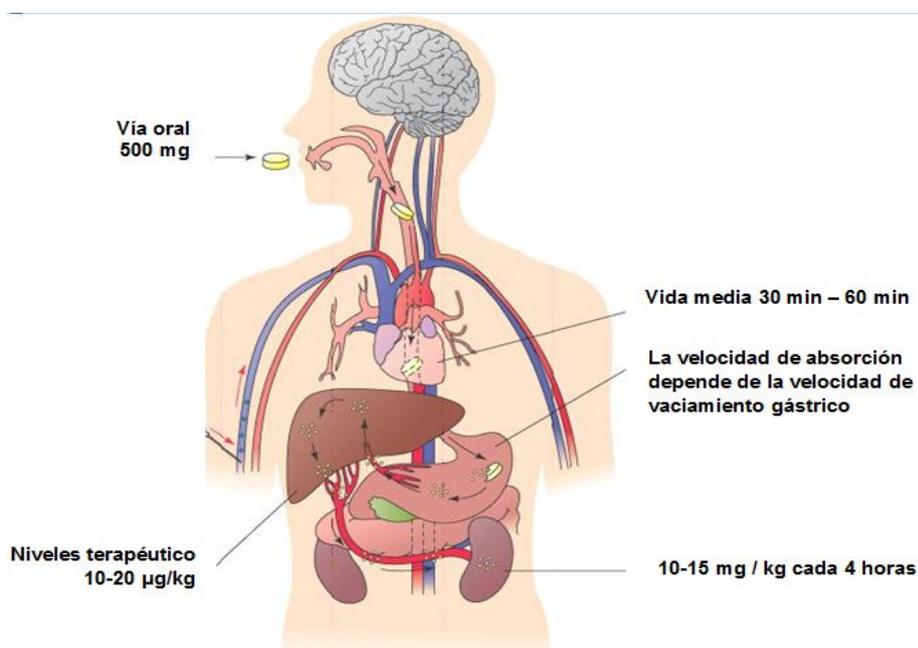


Figura 4. Absorción del paracetamol en el organismo⁷

Se absorbe bien por vía rectal, aunque más lentamente que en el tubo digestivo alto. Su administración vía intravenosa evita el efecto del primer paso hepático que puede observarse tras la administración por vía oral, alcanza el pico máximo entre 15 – 20 min ⁷.

1.2.3. Distribución. El paracetamol se distribuye uniformemente en casi todos los tejidos y líquidos corporales, el volumen de distribución es 0,9-1 l/kg, y la unión a proteínas transportadoras es insignificante; la distribución del paracetamol es bastante uniforme en la mayoría de los líquidos orgánicos. En la **figura 5** representa la distribución del paracetamol⁷.

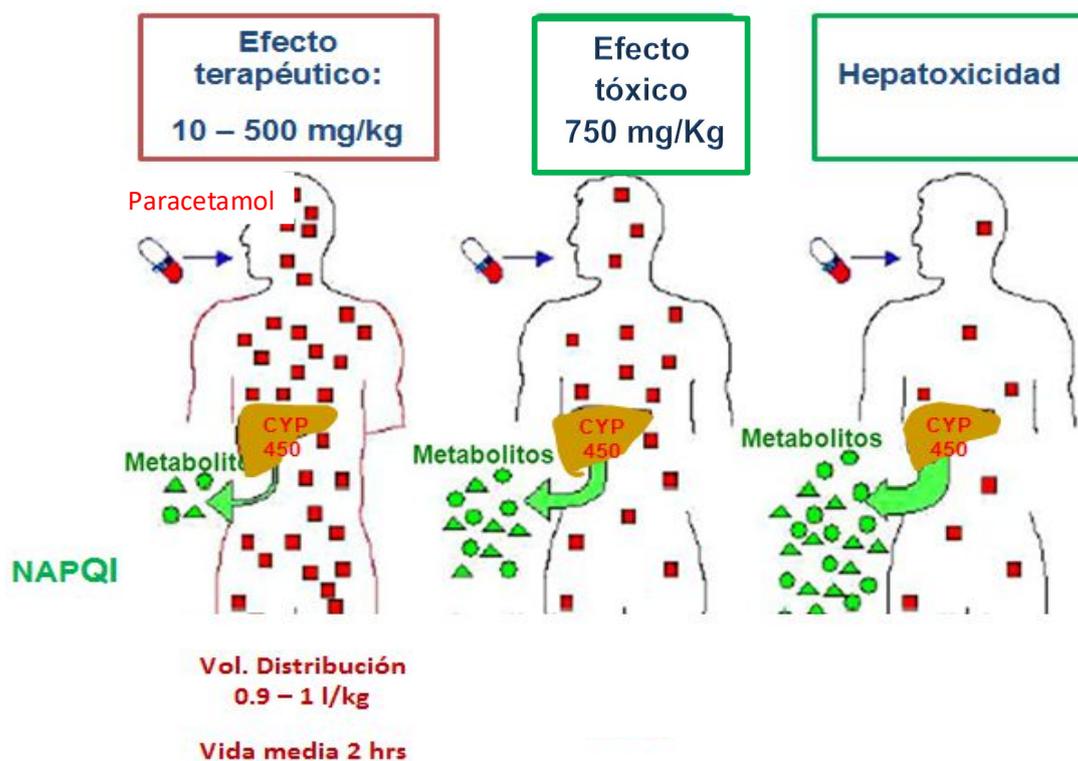


Figura 5. Distribución del paracetamol⁷

Por lo anterior, en caso de extracción de muestras de sangre para la determinación plasmática de paracetamol debe realizarse transcurridas 4 hrs desde la ingesta, si se ha alcanzado la concentración máxima del paracetamol. Si la concentración plasmática se determina antes de pasadas 4 hrs desde la ingesta, no puede interpretarse y debe realizarse una segunda determinación pasadas 4 hrs tras la ingesta⁷.

La unión del principio activo con las proteínas plasmáticas es variable; solo un 20% a un 50% puede unirse en las concentraciones encontradas durante la intoxicación aguda. En la leche materna puede alcanzar concentraciones de 10-15 µg/ml, 2 hrs después de la ingestión materna de una simple dosis de 650 mg. El **Volumen aparente de distribución (Vd)** es el volumen en que debería distribuirse la cantidad de medicamento administrada para alcanzar la misma concentración que en la sangre⁸.

1.2.4. Metabolismo. El paracetamol se metaboliza en el hígado principalmente por las enzimas microsomales hepáticas; aproximadamente, 90% de este medicamento sufre un proceso de conjugación: 40 a 60% con glucurónido y 20 a 40% con sulfato, para ser convertido en metabolitos solubles. El paracetamol actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, mediadores celulares responsables de la aparición del dolor. Además, tiene efectos antipiréticos⁹.

Aproximadamente, 5% de la dosis terapéutica de paracetamol presenta N-hidroxilación por oxidación con la enzima citocromo P450 hepática (**CYP450**) a **NAPQI**, es el principal responsable de los efectos tóxicos; normalmente es detoxificado (reducido) por el glutatión y la unión a grupos sulfidrilos. Este compuesto es un metabolito extremadamente tóxico (no soluble), posiblemente como resultado de la unión covalente a las proteínas y a los ácidos nucleicos, pero es rápidamente bioinactivado al combinarse con glutatión y convertido en un metabolito soluble que se elimina por vía renal (figura 6)^{9,10}.

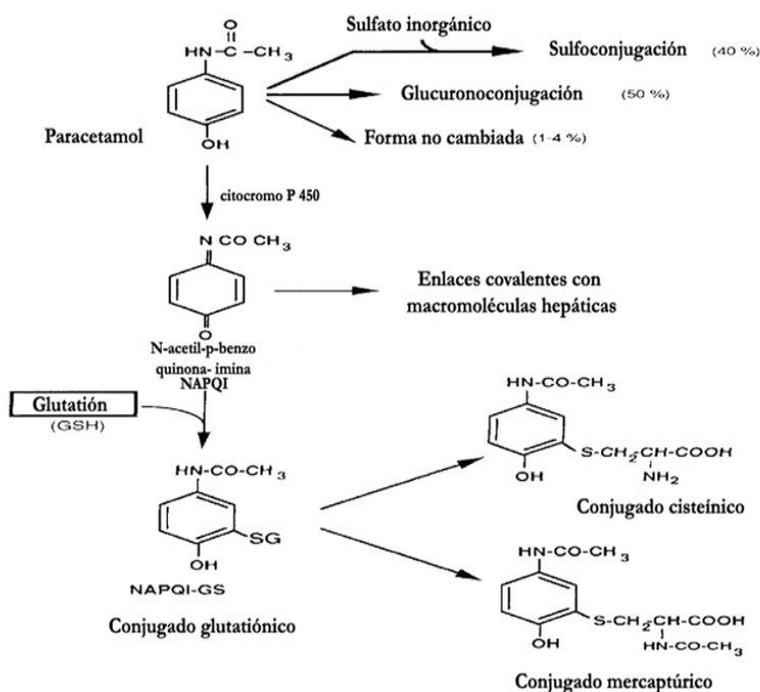


Figura 6. Bioactivación del paracetamol^{9,10}

Dentro de los factores de riesgo que aumentan la toxicidad del medicamento se encuentran el consumo de sustancias inductoras del citocromo P450 (carbamazapina, fenitoína, zidovudina, rifampicina, fenobarbital etc.), el consumo de medicamentos que compiten por la conjugación con el glutatión (morfina, estrógenos, salicilatos, prednisona etc), los mecanismos que causen **depleción de glutatión** (malnutrición, HIV, fibrosis quística) y el consumo crónico de etanol (21 U/semana en hombres y 14 U/semana en mujeres). El consumo de etanol altera el metabolismo del paracetamol por dos mecanismos: uno es agotar las reservas de glutatión y el otro, inducir al citocromo P450 y entonces se aumentan la proporción de NAPQI¹¹.

La toxicidad es mayor cuando se asocian inductores del citocromo p450, con medicamentos que compiten en la conjugación del paracetamol incrementando la formación del metabolito no solubles y cuando están reducidas las reservas de glutatión (alcoholismo, malnutrición) ¹².

Su mecanismo de acción es a nivel de sistema nervioso central y esta acción se relaciona con la inhibición de la producción de prostaglandinas aunque hay autores que sugieren un mecanismo serotoninérgico por estimulación de las vías descendentes serotoninérgicas y su acción antipirética la realiza inhibiendo la síntesis de las mismas a nivel hipotalámico¹³.

Existen enzimas localizadas en el retículo endoplasmático, conocidas en conjunto como el *complejo citocromo P450*, las enzimas más importantes en el metabolismo enzimático del hígado. El citocromo P450 es el componente de las oxidasa presentes al final de la cadena de transporte de electrones. No es una sola enzima, sino una familia de unas 50 isoformas relacionadas entre sí estructuralmente, de los cuales 6 de ellos metabolizan un 90% de las drogas. Existe una gran diversidad en los genes individuales que codifican a los P450 individuales y esta heterogenicidad le permite al hígado realizar reacciones de oxidación¹³.

Se ha establecido que la base de la toxicidad por paracetamol es el consumo de altas dosis, que hace que el citocromo **P450** produzca cantidades de **NAPQI** capaces de agotar las reservas hepáticas de glutatión. Esto permite que este

metabolito tóxico se une a macromoléculas y genera radicales libres, alterando la homeostasis e iniciando la apoptosis de las células del tejido hepático como las del tejido renal, produciéndose necrosis tisular y disfunción orgánica. El desarrollo de la necrosis hepática se produce en 12 hrs¹³.

Por otro lado el paracetamol aumenta el umbral al dolor inhibiendo las ciclooxigenasas en el sistema nervioso central, enzimas que participan en la síntesis de las prostaglandinas; pero no inhibe las ciclooxigenasas en los tejidos periféricos, razón por la cual carece de actividad antiinflamatoria. No altera la función plaquetaria. El paracetamol también parece inhibir la síntesis y/o los efectos de varios mediadores químicos que sensibilizan los receptores del dolor a los estímulos mecánicos o químicos. Bloqueando el pirógeno endógeno en el centro hipotalámico regulador de la temperatura inhibiendo la síntesis de las prostaglandinas. El calor es disipado por vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo periférico y sudoración¹⁴.

En la sobredosis, las vías de conjugación con sulfato y glucurónido se saturan, por lo que el paracetamol empieza a metabolizarse por el (CYP2E1), incrementando la formación de su metabolito intermediario reactivo **NAPQI** (bioactivación). Este es un metabolito muy reactivo, que reacciona y se une covalentemente con componentes celulares y macromoléculas y al no ser detoxificado por el glutatión (**GSH**) por agotamiento de los depósitos, induce estrés oxidativo. Así, la sobredosis de paracetamol, induce depleción de

glutación, seguido de oxidación y arilación de residuos de cisteína en proteínas celulares y macromoléculas¹⁵.

La arilación de proteínas mitocondriales de carácter covalente, es decir de carácter prácticamente irreversible, es de gran importancia desde el punto de vista toxicológico, porque indica una alteración permanente de las moléculas endógenas. La formación de aductos covalentes es frecuente entre sustancias electrofílicas (como lo es el metabolito tóxico del paracetamol) y una sustancia nucleofílica, las cuales se encuentran en abundancia en los sistemas biológicos, como proteínas y ácidos nucleicos¹⁵.

El glutatión (H-γ-Glu-Cys-OH) es un tripéptido que actúa como antioxidante celular. Reduce las especies reactivas del oxígeno (como el peróxido de hidrógeno) gracias a la enzima glutatión peroxidasa la cual cataliza la siguiente reacción¹⁵:



La arilación de proteínas, como ya se expuso, principalmente mitocondriales, generan metabolitos reactivos, que conducen a disfunción mitocondrial y generación de especies reactivas de oxígeno y peroxinitrito, que a su vez van a unirse a proteínas, lípidos, el Ácido Desoxirribonucleico (**DNA**) y carbohidratos. Al aumentar la formación de especies reactivas de oxígeno y de especies reactivas de óxido nítrico y agotarse los mecanismos de defensa antioxidante, se genera un daño oxidativo, lo que llamamos estrés oxidativo¹⁵.

Entonces de esta forma se genera daño a nivel del **DNA** donde se producen rompimientos de cadena, alteraciones en las bases, aductos con el DNA y mutaciones. Una consecuencia de la oxidación del DNA, es su unión a proteínas por enlaces de radicales carbono con carbono de cadenas de aminoácidos, induciendo errores en la replicación, adicional a la alteración en la estructura y función de la proteína. Se pueden generar mutaciones en regiones de enzimas antioxidantes, incrementando de esta forma el estrés oxidativo. La oxidación de proteínas va generar formación de uniones proteína-proteína y fragmentación de proteínas. Ante la oxidación de proteínas se van a generar mecanismos de defensa¹⁵:

A nivel de la membrana celular la bomba representa un transporte activo primario, ya que utiliza ATP y va en contra de un gradiente de concentración. Esta bomba es de tipo B, la cual tiene dos subunidades, la subunidad alfa y la beta, siendo la primera catalítica con sitio de unión al ATP y la segunda se comporta como la subunidad reguladora. Al alterarse la Ca ATPasa, el calcio va dejar de dirigirse en contra del gradiente de concentración (es decir desde el citosol al espacio extracelular) y se va a acumular en el citosol. Adicionalmente, desde el retículo endoplásmico, donde se encuentra otra bomba Ca ATPasa, al verse inhibida esta, se liberará calcio desde el retículo. De esta manera incrementa el calcio intracelular¹⁵.

Ya que el calcio es un modulador determinante de la **PTP** (permeability transition pore), de la membrana mitocondrial, el incremento de la concentración de calcio citosólico, genera un cambio conformacional del ANT (adenine nucleotide translocase), lo que conduce a apertura del poro¹⁵.

La apertura de PTP conduce a pérdida de la impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial, de esta forma hay flujo de agua y solutos a la matriz mitocondrial, que conduce a edema celular. A la vez, se liberan proteínas proapoptóticas al citosol como el citocromo c¹⁵.

La liberación del citocromo c al citosol, por pérdida de la impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial, Sin embargo, la pérdida de ATP previene la muerte celular por apoptosis y se induce la muerte celular por necrosis, debido a daño mitocondrial irreversible y pérdida significativa de ATP. A altas concentraciones, los electrófilos y oxidantes (**ROS**) pueden reaccionar con la cisteína, inhibiendo la apoptosis y estimulando la necrosis. Finalmente, el calcio media la expresión de ligandos que activan la vía Fas death receptor, la cual induce apoptosis y de esta manera el aumento de calcio citosólico tiene varios mecanismos por los cuales induce apoptosis y muerte celular¹⁵.

Existe un mecanismo de respuesta ante la presencia de electrófilos, en este caso ante la presencia del NAPQI. Generando respuestas dirigidas a la eliminación del xenobiótico, de sus metabolitos activos, y eliminación de ROS¹⁵.

En síntesis, el NAPQI es un metabolito reactivo que arila proteínas y macromoléculas, también es un intermediario de especies oxidantes y causa daño mitocondrial por formación de aductos con proteínas mitocondriales y estrés oxidativo mitocondrial. Secundario al daño mitocondrial se produce disminución de ATP e incremento de la concentración de calcio intracelular, el cual participa en la activación de endonucleasas, causando daño a nivel del DNA y muerte celular (**Figura 7**)¹⁶.

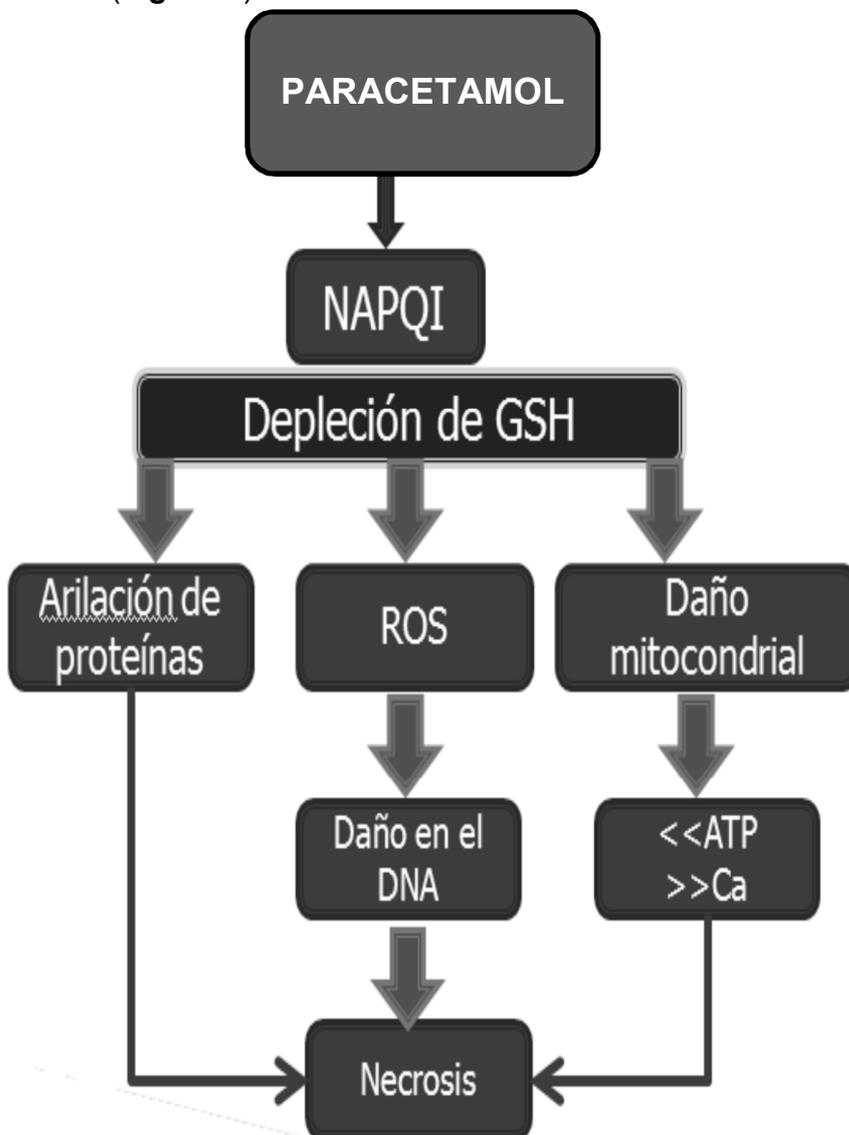


Figura 7. Mecanismos de hepatotoxicidad del paracetamol NAPQI: N-acetil-p-benzo-quinona imina, GSH: Antioxidante de Glutación intracelular, ROS: ¹⁶

1.2.5. Eliminación. Aproximadamente un 60% del paracetamol se excreta por vía renal como glucurónido de paracetamol, 30% como sulfato de paracetamol, cerca del 4% es eliminado sin cambio y del 8 al 10 % del fármaco es convertido, por una reacción de N-hidroxilación dependiente del citocromo P450 microsomal (CYP1A2, CYP2E1 y CYP3A4), a un metabolito activo el N-Acetil p-benzoquinonaimina, el cual es inactivado por conjugación con el glutatión hepático y luego excretado por la orina como derivados de cisteína y de ácido mercaptúrico, dosis terapéutica puede recuperarse un 90% a 100% del principio activo en la orina en el primer día., su vida media de eliminación es de alrededor de 1.5 a 3 hrs. La semivida de eliminación vida ($t_{1/2}$) es de unas 2 hrs, y se alarga en niños (110-150 min), ancianos y pacientes con disfunción hepática (figura 8)

17, 18.

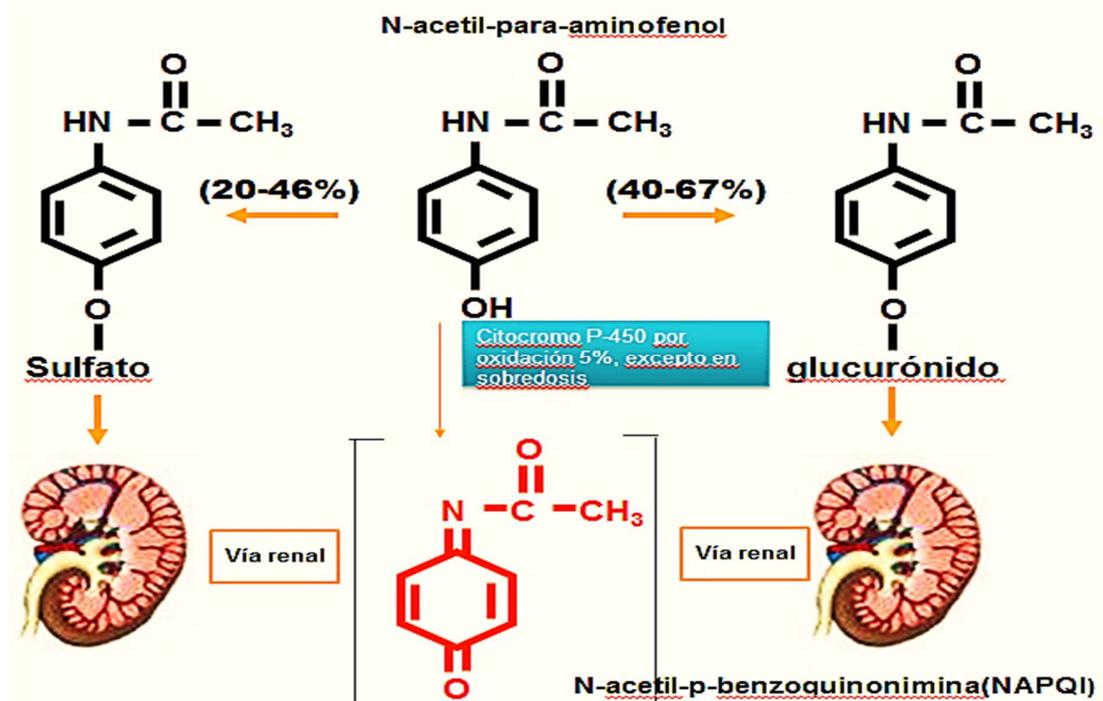


Figura 8. Eliminación del paracetamol ^{17,1}

1.3. INTOXICACIÓN POR PARACETAMOL

Dosis es la cantidad de sustancia que se absorbe en el organismo en un tiempo determinado y generalmente depende del peso del individuo. El tiempo es un parámetro importante en la actuación del tóxico sobre el organismo¹⁹.

Existen algunos reportes de hepatotoxicidad inducida por paracetamol asociada con el ayuno durante enfermedades febriles o enfermedades crónicas, aunque estos factores de riesgo no parecen jugar un papel relevante en las ingestiones agudas, pero sí los son en los casos de sobredosificación crónica^{20, 21}.

1.3.1. Dosis tóxica aguda. Entre los pacientes pediátricos con alto riesgo para hepatotoxicidad por paracetamol se incluyen aquellos con escasas reservas de glutatión, por ejemplo, en el caso de desnutrición, el alcoholismo crónico, la anorexia nerviosa. Aquello, administración simultánea de fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, rifampicina e isoniazida, y aquellos con daño hepático previo (**Tabla 3**). La toxicidad se ha asociado en menores de 6 años de edad a dosis ≥ 200 mg/kg/día y en personas mayores a esta edad a dosis ≥ 150 mg/kg/día. Una dosis única de 7.5- 8 g puede causar toxicidad aguda²².

MEDICAMENTOS	EFEECTO / INTERACCIÓN
<i>Propranolol</i>	↓ Depuración paracetamol
<i>Barbitúricos, fenitoína, imipramina, haloperidol, fenilbutazona, tolbutamida, carbamacepina, rifampicina, isoniacida, zidovudina (AZT), consumo crónico de alcohol</i>	Inductores enzimáticos isoformas citocromo P ₄₅₀ y conjuntamente paracetamol → exceso NAPQI → depleción reservas de glutatión
<i>Dicumarol, testosterona, morfina, hidroxizina, estrógenos, salicilatos, cloranfenicol, prednisolona, tetraciclina y vitamina C</i>	Favorecen toxicidad hepática al ↓ capacidad glucurono-conjugación → ↓ conjugación hepática
<i>Metoclopramida</i>	↑ Absorción paracetamol
<i>Anticonceptivos orales</i>	↓ Potencia analgésica paracetamol

Tabla 3. Interacción del paracetamol con otros medicamentos ²²

1.3.2. Dosis tóxica crónica. Una dosis mayor de 150mg/kg/dosis administrada de 2 a 4 días, a pacientes que reciben por equivocación dosis supraterapéuticas de forma repetida, y adolescentes o adultos que toman dosis excesivas para diversas dolencias. La toxicidad hepática puede presentarse, aunque ya de forma muy poco frecuente durante la ingestión crónica de dosis terapéuticas de paracetamol, sobre todo en pacientes alcohólicos, pero esta afirmación está muy discutida y se desconoce qué cantidad y que frecuencia en la dosis podría dar lugar a este tipo de toxicidad. **Tabla 4**²³.

PARACETAMOL INDICADO	VÍA DE ADMINISTRACIÓN Y PRESENTACIÓN	DOSIS TERAPÉUTICA ⁴ - 6 hrs en 2 - 5 DÍAS	DOSIS TÓXICA 75 min- 4 hrs	DOSIS LETAL
Niños (6- meses a 11 años)	10mg / 100ml solución gotas de 30 ml 100mg/ml gotas de 15ml 100mg / ml en solución oral de 15ml	10 – 15mg/kg/ dosis 1000 mg (1 g) 40 -60 mg / kg X día 15 mg/4-6hrs I.V	70 mg – 150 mg / kg X día >60 mg / kg I.V	150 – 350 mg / kg
Adulto (mayores de 12 años)	500 mg envase con 10 tabletas 1 – 2 g/ dosis I.V.	4 g o 8 comprimidos /día 4 – 5g/ día 500mg – 1g / 6 hrs rectal	6 – 8g / día 125 mg/ kg	10 – 15 g/ día 350 mg/ kg
Individuos con factores de riesgo	Misma presentaciones en niños y adultos	100mg /kg	4 g u 8 comprimidos /día	6g/ día

Tabla 4. Niveles de intoxicación en paracetamol²³

Tomar paracetamol durante varios días seguidos puede provocar una peligrosa acumulación del fármaco en el organismo, tiene más probabilidades de causar toxicidad hepática con dosis casi normales cuando se consume alcohol. De hecho, los bebedores habituales pueden ser más propensos a sufrir daños hepáticos con el paracetamol aun si no beben al mismo tiempo que toman el fármaco. El riesgo parece aumentar más incluso si se toma paracetamol unas horas antes o después de beber²⁴.

El paracetamol tiene menos toxicidad total que la fenacetina, por eso se le prefiere. Además, el paracetamol es el metabolito activo de la fenacetina pero, al contrario que ésta, causa nefrotoxicidad más raramente y no causa metahemoglobinemia ni anemia hemolítica. A diferencia de la aspirina, el paracetamol no posee efecto lesivo sobre la barrera mucosa del tracto gastrointestinal, no produce disfunción plaquetaria, posee mayor rango terapéutico y no ha sido implicado con la misma frecuencia con el síndrome de Reye²⁴.

Las intoxicaciones representan cuadros clínicos que muchas veces se convierten según las circunstancias, en situaciones difíciles de manejar. A su vez los signos y síntomas, además de ser variados, pueden carecer de especificidad. Por todo lo anterior la evaluación de este tipo de pacientes requiere tanto un examen físico exhaustivo, como una historia clínica a partir de una buena fuente. Se puede presentar a dosis terapéuticas (adultos: hasta 4 g/día; menores de 6 años: 10 a 15 mg/kg cada 4 a 8 hrs) luego de 2 a 8 días de consumo. La sobredosis en embarazo ha sido asociada con muerte fetal y aborto espontáneo. En general, no se recomienda en ninguna edad prescripciones superiores a 5 días del producto

²⁴.

1.4. LAS FASES DE LA INTOXICACIÓN POR PARACETAMOL

Las primeras 24 hrs se consideran la primera fase de la intoxicación por paracetamol; se caracteriza por hallazgos inespecíficos, principalmente síntomas gastrointestinales, como náuseas, vómito, anorexia y epigastralgia; también, puede presentarse malestar general y diaforesis. Posteriormente, el paciente puede sentirse mejor o presentar alteración del estado de conciencia (letargia) .Este cuadro puede ser dividido en cuatro etapas clínicas bien diferenciadas según el intervalo de tiempo que transcurre desde el momento de ingestión (**tabla 5**)²⁵.

ETAPAS	CARACTERISTICAS
I. Primeras 24 hrs	<u>Síntomas inespecíficos</u> : malestar general, palidez, náuseas, vómito, diaforesis. Pruebas de función hepática dentro de límites normales
II. Entre 24 y 48 hrs después de la ingestión	<u>Mejoría sintomática</u> : Las pruebas de función hepática comienzan a alterarse
III. 72 a 96 hrs después de la ingestión	Reaparecen síntomas con mayor severidad, ocasionalmente acompañados de ictericia o alteraciones en el estado de conciencia. Puede evidenciarse compromiso renal o pancreático y el paciente puede evolucionar a falla hepática fulminante. Elevación importante de pruebas de función hepática
IV. Después de 96 hrs	<u>Mejoría sintomática completa</u> recuperación clínica y de la función hepática si el paciente recibe una adecuado manejo

Tabla 5. Etapas de intoxicación del paracetamol²⁵.

Etapa I

Es generalmente un periodo latente. Se considera entre las 0 y 24 hrs tras la ingestión. Los enfermos suelen encontrarse completamente asintomáticos pero también es habitual la aparición de náuseas, vómitos y malestar general, que pueden acompañarse de palidez y sudoración. No existe, de todas formas, correlación alguna entre la aparición de síntomas menores en un principio y el desarrollo posterior de una mayor o menor lesión hepática, sino más bien parece un proceso idiosincrásico ²⁵.

Etapa II

Entre las 24 y 48 hrs post-ingestión. Suponen el comienzo de la Hepatotoxicidad, son típicos de hepatitis e incluyen dolor en hipocondrio derecho, náuseas, cansancio y malestar general. En la exploración física a menudo se palpa Hepatomegalia. La elevación de las transaminasas comienza entre las 24 y 36 hrs, pero en algunos casos puede ocurrir a las 16 hrs o antes. En los estudios de laboratorio la bilirrubina y el tiempo de protrombina son normales o se encuentran ligeramente elevados ²⁵.

Etapa III

Es la fase de mayor lesión hepática. Comprende el tiempo transcurrido entre las 48 y 96 hrs tras la ingesta. Los marcadores de fallo hepático se hacen más evidentes. Sin embargo, cuando el tratamiento ha sido exitoso el pico de transaminasas puede ocurrir antes. El fallecimiento ocurre de tres a siete días tras la ingestión y se produce por alteraciones metabólicas intratables,

complicaciones secundarias como edema cerebral y arritmias, o hemorragia por coagulopatía, a lo que se puede sumar fracaso renal agudo. El fracaso renal anúrico u oligúrico suele deberse a necrosis tubular aguda y con frecuencia se acompaña de dolor en flancos. Aunque el fallo renal sea severo, éste también es casi siempre reversible. La gran mayoría de pacientes se recuperará completamente ²⁵.

Etapa IV

Comprende el periodo entre el cuarto día y las 2 semanas. La recuperación es a menudo completa en 5-6 días en pacientes poco afectados, pero si la toxicidad ha sido importante, la recuperación se prolonga dos semanas o más. El hígado se regenera, si suficientes hepatocitos permanecen viables y el paciente sobrevive. Existen, sin embargo, pacientes en los cuales persisten de forma crónica algunas alteraciones hepáticas ²⁵.

1.5. HEPATOXICIDAD

La hepatotoxicidad se define como la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos. Existen dos tipos de hepatotoxicidad: intrínseca e idiosincrásica. La hepatotoxicidad intrínseca, o dosis dependiente, es predecible y reproducible y ocurre con una minoría de medicamentos. Mientras algunas de estas hepatotoxinas actúan directamente sobre el hepatocito, otras lo hacen a través de un compuesto tóxico generado durante su metabolismo cuyo ejemplo más característico es el paracetamol²⁶.

La hepatotoxicidad idiosincrásica, en cambio, ocurre de modo impredecible, no se relaciona con la dosis y no es reproducible en animales de experimentación. Cuanto mayor es el riesgo de sufrir hepatotoxicidad; el paracetamol es un ejemplo conocido de hepatotoxicidad en dosis supraterapéutica o en pacientes susceptibles. Se incrementa su vida media a más de 4 hrs en caso de hepatotoxicidad. El hecho por el cual la prolongación de la vida media se correlaciona con la toxicidad del medicamento no es exclusivo del paracetamol y el mecanismo que subyace en este incremento del $t_{1/2}$ es la saturación de los mecanismos de eliminación del medicamento²⁷.

La mayor parte de la gente solamente corre riesgo de sufrir hepatotoxicidad si sobrepasa la dosis recomendada. Casi todos los casos de daños hepáticos se producen entre personas que han tomado al menos 10-15 g (la dosis máxima recomendada es de 4 g al día en una persona con cirrosis). Muchas de las visitas a urgencias y muertes causadas por intoxicación con paracetamol son consecuencia de sobredosis accidentales o intencionadas (por ejemplo, intentos de suicidio). Pero algunas personas son más sensibles a la intoxicación por paracetamol, y pueden sufrir daños en el hígado incluso con la dosis recomendada²⁸.

Un estudio realizado por la Agencia del Medicamento estadounidense (**FDA**) demostró que cerca del 20% de las personas con hepatotoxicidad provocada por paracetamol habían tomado una cantidad inferior a la dosis diaria recomendada. Para otros sujetos, la dosis peligrosa no es mucho más alta que la recomendada,

es decir, el umbral entre una dosis terapéutica y una dosis tóxica es más pequeño con el paracetamol que con muchos otros medicamentos (**Figura 9**)²⁸.

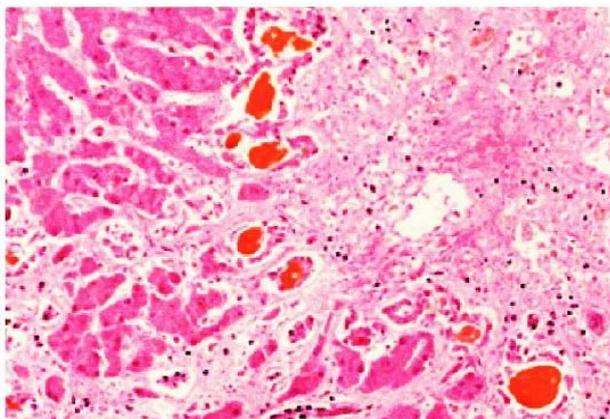


Figura 9. Necrosis hepática submasiva (hematoxilina- eosina 20x)²⁸

1.6. DIAGNÓSTICO

Ante un paciente con probable intoxicación por paracetamol, se debe plantear dos preguntas básicas que van a condicionar nuestra actitud diagnóstico-terapéutica: ¿Cuál es la probable dosis ingerida? ¿Qué tiempo ha transcurrido desde la ingesta? Algunas medidas clásicas para evitar la absorción (lavado gástrico, catárticos...), el uso de *carbón activado* por vía oral está, su administración estaría justificada en aquellos casos en que se tenga constancia de una dosis claramente tóxica (>140 mg/kg) y no hayan transcurrido más 75 min desde la ingesta y esperar a la determinación de niveles en sangre a las 4 hrs para decidir la conducta terapéutica a partir de ese momento²⁹.

El análisis de la concentración sérica de paracetamol es la exploración básica para confirmar el diagnóstico. El resultado no sólo tiene valor de certeza diagnóstica sino que, evalúa el riesgo de hepatotoxicidad indicando si debe administrarse o no el antídoto específico. Para ello se utiliza el Nomograma de Rumack-Matthew que indica si debe administrarse el antídoto N-acetilcisteína (**NAC**)²⁹.

El análisis toxicológico tiene valor diagnóstico y pronóstico si se realiza entre las 4 hrs y las 24 hrs post-ingesta. Antes de las 4 hrs continúa teniendo valor para el diagnóstico pero carece de valor pronóstico ya que la absorción no es completa. En el extremo opuesto, transcurridas 24 horas, el paracetamol se habrá metabolizado por lo que será indetectable en la analítica, no pudiendo negar ni confirmar ningún diagnóstico. En cuanto al perfil hepático, la elevación de las transaminasas glutámico oxalacética y transaminasa glutámica pirúvica sérica (**SGOT y/o SGPT**) que se produce entre las 24-48 hrs post-ingesta en los casos que cursan con hepatotoxicidad, pueden confirmar el diagnóstico en las intoxicaciones atendidas transcurridas más de 24 hrs donde el paracetamol sérico, como ya se ha mencionado, no es de utilidad al ser indetectable (**Figura 10**)³⁰.

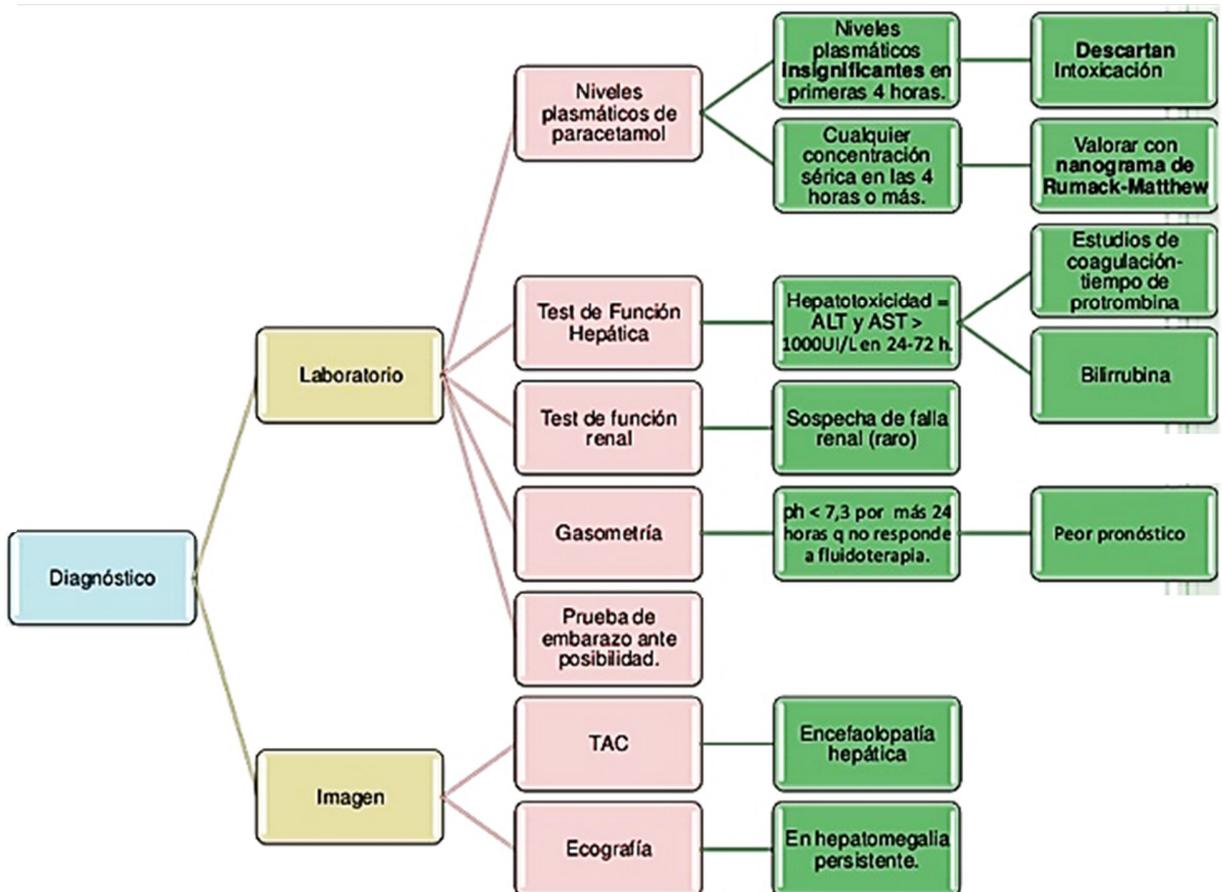


Figura 10. Intoxicación aguda con intervalo conocido³⁰

En los enfermos que desarrollan lesión hepática severa deben tenerse en cuenta diversos factores pronósticos³¹:

1. Alteraciones de la coagulación. Desde finales de la década de los 80 se ha descrito la importancia del alargamiento del tiempo de protrombina. Harrison y col. indican que un pico de tiempo de protrombina mayor de 180 en los cuatro primeros días post-ingestión sólo implica un 8 % de supervivencia, frente al 80 % de aquellos que no llegan a un tiempo mayor de 90³¹.

2. Alteración del estado ácido-base. En aquellos enfermos con intoxicación severa el pH después de las 24 hrs tras la sobredosis se relaciona con la supervivencia, apareciendo sólo un 15 % de supervivencia si el pH es menor de 7 ³¹

3. Creatinina plasmática. La supervivencia cuando los valores son menores de 100 micromoles/L es del 65 %, bajando al 23 % cuando los niveles superan los 300 micromoles/L. Cuando se encuentran entre 100 y 300 la supervivencia se queda en el 40 % ³¹.

4. Hipofosfatemia y fosfaturia. Tanto si existe lesión hepática como si no la hay, Jones observa que en la intoxicación por paracetamol se produce hipofosfatemia, de forma que este descenso de nivel se correlaciona con otros índices de severidad del envenenamiento por paracetamol³¹

5. Bilirrubina sérica. El pico plasmático se correlaciona con la supervivencia, ya que se asocia a fracaso hepático, como el edema cerebral y la hipotensión³¹.

6. Edad y grado de encefalopatía al ingreso. Como es de esperar los pacientes jóvenes tienen mayor supervivencia que los ancianos. El grado de encefalopatía, además, se correlaciona con el grado de lesión hepática, y la mortalidad aumenta al 76 % en pacientes con grado IV ³¹.

7. Hipoglucemia. Es reflejo de un severo fallo hepático. La hepatotoxicidad severa se ha definido como el ascenso de transaminasas mayor de 1000 U/L, y se presenta en mayor porcentaje de enfermos conforme éstos presentan mayor nivel pico sanguíneo, siendo la muerte una complicación poco frecuente, sobre todo en pacientes que han recibido pautas de NAC oral o intravenoso. En conjunto, la mortalidad global no supera el 2 %, aunque puede alcanzar el 47 % si ocurre fallo hepático³¹.

8. Elaboración de Nomograma para determinar hepatotoxicidad por paracetamol; a continuación se describe el Nomograma Rumack – Mathews.

1.6.1. NOMOGRAMA RUMACK – MATHEWS.

Este nomograma fue establecido por Rumack y Mathew en los años 70 (Figura 11 y tabla 6). En él se proponía, como línea que delimitaba la ausencia de riesgo hepatotóxico en la población general, la que colocaba el pico plasmático en 200 µg/mL a las 4 hrs de la ingesta. La excelente correlación de la concentración plasmática en función del tiempo transcurrido desde la ingesta tóxica con la probabilidad de aparición del efecto hepatotóxico ha permitido establecer el correspondiente nomograma, de gran utilidad para sentar la indicación del tratamiento. Para que el resultado sea aplicable a este fin la muestra de sangre debe obtenerse a partir de las 4 hrs de la ingesta tóxica. Sin embargo este criterio se ha rebajado a la línea correspondiente a un nomograma es trazado

semilogarítmico de los niveles de paracetamol en plasma con relación al tiempo. Para las poblaciones de riesgo ya mencionadas se utiliza la recta a 100 µg/mL. Las muestras más predictivas son las obtenidas entre las 4 y las 12 hrs³².

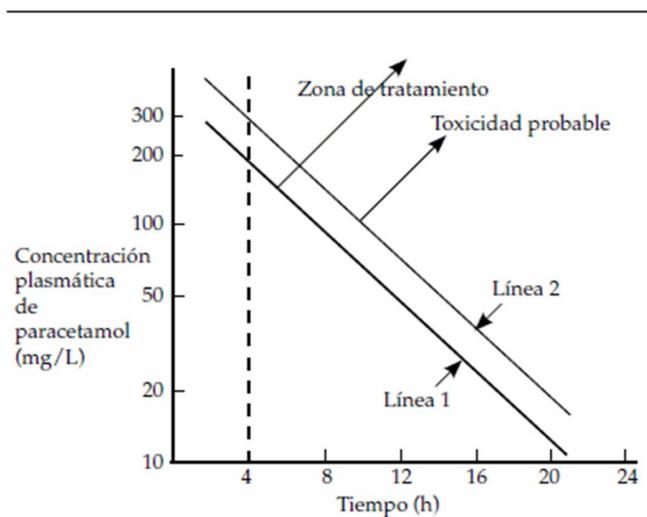


Figura 11. Nomograma de Rumack-Matthew³².

TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA INGESTA	USAR NAC SI LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PARACETAMOL ES:
4 horas	> 150 µg/mL
6 horas	> 100 µg/mL
8 horas	> 80 µg/mL
10 horas	> 50 µg/mL
12 horas	> 30 µg/mL
14 horas	> 20 µg/mL
16 horas	> 10 µg/mL
18 horas	> 7 µg/mL
20 horas	> 6 µg/mL
22 horas	> 5 µg/mL
24 horas	> 4 µg/mL

Tabla 6. Tabla de Concentraciones plasmáticas de paracetamol contra tiempo de ingesta de paracetamol³²

Si se hace la cuantificación plasmática de paracetamol entre hasta las 24 hrs después de la ingesta para la administración de N-acetilcisteína, son las cifras de paracetamol:

- Mayores de 150 µg/ml a las 4 hrs,
- Mayores de 75 µg/ml a las 8 hrs,
- Mayores de 37,5 µg/ml después de 12 hrs,
- Mayores de 20 µg/ml a las 16 hrs.

Se utiliza para indicar el tratamiento con el antídoto N-acetilcisteína NAC en la intoxicación por paracetamol, pero tiene varias limitaciones de uso. La semivida de eliminación ($t_{1/2}$) del paracetamol, que con dosis terapéuticas es de unas 2hrs, se incrementa hasta más de 4hrs en caso de hepatotoxicidad. Durante la etapa I es muy importante determinar la cantidad ingerida y el tiempo desde la ingesta³².

El Nomograma de Rumack es la herramienta de elección para predecir el riesgo de hepatotoxicidad en la intoxicación aguda por paracetamol. Sin embargo, su utilización precisa que se cumplan tres requisitos:

- a) Una única ingesta.
- b) Que se conozca el tiempo transcurrido desde la ingesta y
- c) Que hayan transcurrido un mínimo de 4 hrs.

Aunque el nomograma de Rumack es en la actualidad la herramienta clave en la toma de decisión terapéutica para el uso del antídoto en la intoxicación por paracetamol, proponemos que se complemente el mismo con la estimación de la $t_{1/2}$ en todos los casos de intoxicación por paracetamol, al menos en aquéllos en los cuales existan dudas o se desconozca el tiempo transcurrido de la ingesta, o la misma haya sido fraccionada³².

Haber superado las 4 hrs del tiempo de distribución del medicamento (fase alfa) y estar en fase de eliminación. No es necesario repetir posteriormente otra determinación (a modo de control), ya que la terapéutica está guiada por el nivel inicial obtenido. Un nivel de paracetamol sérico superior a 150 mg/ml 4 hrs después de la ingesta es tóxico en todo paciente³².

En el nomograma se trazan dos líneas según la concentración y el tiempo transcurrido; todas las concentraciones séricas de paracetamol que estén por encima del trazo superior correspondiente a la hora transcurrida se correlacionan con “probable toxicidad hepática”, lo que indica el uso de antídoto terapia. La brecha existente entre el trazo superior e inferior indica concentraciones con “posible toxicidad. Teniendo el resultado podemos realizar una estimación del riesgo de desarrollar toxicidad hepática.

Después 24-48 hrs es cuando el paciente presenta manifestaciones de una hepatitis tóxica con ictericia, dolor en hipocondrio derecho, náusea, vómito y en casos severos progresan a una falla hepática aguda: elevación de transaminasas, acidosis metabólica, sangrados, prolongación del PT, falla renal, encefalopatía, edema cerebral y muerte, que corresponde a niveles séricos un 25% menores a los esperados que causen toxicidad hepática; sin embargo, recomendamos utilizar igualmente antídotos en estas concentraciones³².

2. PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las formas farmacéuticas que contiene el paracetamol son analgésicos y antipiréticos utilizados ampliamente por la población., se administran sobre todo a la población infantil y se encuentran bajo la condición de expendio de venta libre. Debido a que están destinados a aliviar dolencias que no exigen en la práctica una intervención médica, además su uso en la forma, condiciones y por su amplio margen de seguridad, no es considerado peligroso para el consumidor.

Sin embargo, la sobredosis aguda puede ocasionar daño hepático fatal. El diagnóstico precoz es vital, pero frecuentemente se dificulta por el retraso en la aparición de los primeros síntomas (hasta 48 hrs), elevando el significado de la mortalidad. La intoxicación suele ocurrir dentro de distintos contextos, y el más frecuente en los adultos es la intencionalidad suicida. Otras formas de sobredosificación son el cálculo erróneo de la dosis (particularmente con jarabes), la excesiva automedicación por parte del enfermo, el uso de fórmulas de adultos para niños u otros errores en el reconocimiento de las distintas formas de presentación del medicamento. Pero ¿Hay información documentada, manuales o guías para determinar en ensayo cualitativo o cuantitativo? ¿Cuáles son aplicables para diagnóstico definitivo?, se realizará la revisión bibliográfica sobre la determinación de paracetamol en caso de intoxicación durante los últimos 10 años.

3. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo General.

2.1.1. Revisar y analizar los métodos establecidos bibliográficos en la determinación de paracetamol en caso de intoxicación.

2.2. Objetivo Particular

2.2.1. Realizar una revisión bibliográfica sobre la intoxicación con paracetamol.

2.2.2. Establecer bibliográficamente los diferentes métodos de análisis cualitativos y cuantitativos para la identificación de paracetamol en caso de intoxicación en un periodo de 10 años.

2.2.3. Analizar las características de cada método para su aplicación dependiendo del tiempo transcurrido después de la ingesta de paracetamol.

2.2.4. Describir cada uno de los métodos establecidos.

4. DETERMINACIÓN DE PARACETAMOL

Debido a su importancia se han desarrollado diferentes métodos para su determinación en muestras de plasma y en orina, como técnicas cuantitativas y cualitativas. La determinación de los niveles plasmáticos de paracetamol por el laboratorio de urgencias juega un papel destacado a la hora de predecir la probabilidad de necrosis hepática, así como de establecer la necesidad del tratamiento con el antídoto. Se puede determinar su concentración plasmática por colorimetría/ espectrofotometría, técnicas inmunoenzimáticas o técnicas de cromatografía líquida o gas - líquida.³³

Análisis cualitativos en orina: En la actualidad existen estudios que demuestran la eficacia del *screening* de paracetamol en orina para la valoración de niños con ingesta tóxica de paracetamol. La determinación de paracetamol en orina se realiza con la misma técnica que el realizado para la determinación de paracetamol en suero (inmunoensayo de fluorescencia polarizada). Es importante conocer que estas técnicas cualitativas, que se realizan en su mayoría por inmunoensayo, pueden presentar falsos positivos (sustancias estructuralmente similares que producen una reacción cruzada) y falsos negativos en casos de concentraciones bajas del tóxico, por lo cual siempre deben ser confirmadas por técnicas cuantitativas (cromatografía, espectrofotometría)³³.

Análisis cuantitativos y semicuantitativos en sangre: La interpretación de los niveles de paracetamol o ácido salicílico se debe realizar con cautela ya que depende del tiempo transcurrido desde la exposición hasta la determinación analítica. Tanto si la determinación se realiza inmediatamente tras la ingesta como si se realiza de forma tardía, los niveles pueden ser falsamente bajos (Tabla 7)³³.

HOSPITAL DE NIVEL	ANÁLISIS CUALITATIVO	ANÁLISIS CUANTITATIVO
I	Anfetaminas, Antidepresivos cíclicos, Barbitúricos, Benzodiacepina, Cannabis, Cocaína metabolitos, Metadona, Opiáceos	Carboxihemoglobina, Etanol, Litio, Metahemoglobina
II (añadir a las del nivel I)		Carbamazepina, Digoxina, Fenobarbital, Paracetamol , Salicilato, Teofilina, Valproato sódico
III (añadir a las del nivel II)		Colinesterasa
Hospital de referencia: Toxicología (añadir a las del nivel III)	Fenciclidina, Gamma-hidroxi-butirato (GHB), Ketamina	Amatoxina, Cianuro, Etilenglicol, Metanol, Paraquat

Tabla 7. Disponibilidad mínima de analítica toxicológica en función del nivel asistencial³³

El método cualitativo se inicia con un acercamiento previo a la realidad que va a ser objeto de análisis. La ejecución efectiva una la investigación cualitativa supone 4 acciones consecutivas, a saber: el acceso o entrada a la recolección de datos propiamente dicha, el registro de los datos, el diseño inicial y ajustes del mismo durante el proceso y, por último, el análisis progresivo durante la fase de recolección de información³⁴.

El método cuantitativo también conocido como investigación cuantitativa, empírico-analítico, racionalista o positivista es aquel que se basa en los números para investigar, analizar y comprobar información, datos; este intenta especificar y delimitar la asociación o correlación, además de la fuerza de las variables, la generalización y objetivación de cada uno de los resultados obtenidos para deducir una población; para esto se necesita una recaudación o acopio metódico u ordenado, analizar toda la información numérica que se tiene; es uno de los más utilizados por la ciencia, la informática, la matemática y como herramienta principal las estadísticas³⁵.

Es decir que los métodos cuantitativos utilizan valores cuantificables como porcentajes, magnitudes, tasas, costos entre muchos otros; entonces se puede declarar que realizan preguntas netamente específicas y las respuestas de cada uno de los participantes plasmadas en las encuestas, obtienen muestras numéricas. El último paso del ciclo analítico es valorar si el informe responde a la cuestión clínica planteada y, por tanto, si la exploración aporta valor a la atención al paciente. Si el resultado analítico es indiferente para el diagnóstico, pronóstico, tratamiento o seguimiento del paciente, debe plantearse seriamente la continuidad de tal exploración en esta situación clínica³⁶.

En la sangre completa, plasma o suero, son especímenes con alto valor interpretativo por que los resultados analíticos tienen mejor correspondencia con los efectos tóxicos, miden exposiciones recientes y permiten determinar metabolitos y otros constituyentes bioquímicos y celulares afectados por la exposición. Posee un

interés máximo en toxicocinética. Además, es potencialmente poco manipulable. Pero se trata un espécimen invasivo, de volumen limitado, que requiere personal experto y utilizar material específico para la extracción, la preparación en ocasiones complicada y laboriosa que puede afectar a la rapidez de emisión del resultado³⁶.

La orina es el espécimen más usado en el cribado y el más efectivo para monitorizar el consumo de drogas de abuso o la exposición a tóxicos industriales o ambientales (o sus metabolitos). Su eficacia depende básicamente de la perfusión sanguínea del riñón. La recogida de orina es un proceso fácil, no invasivo, que proporciona cantidades apreciables de muestra; del que se dispone de amplia experiencia³⁶.

La bilis es una muestra tomada históricamente aunque su utilidad es limitada. Se considera sustituta de la orina en ausencia de esta y ayuda a estimar la presencia de algunos compuestos que son concentrados en el hígado y eliminados en la bilis como opiáceos, paracetamol, cocaína y metabolitos. En términos generales las concentraciones en bilis son mucho más altas que en sangre e indican consumos muy prolongados. Vanbinst et al. Referencia que las concentraciones en bilis, son una media de 4 veces más altas que las de la sangre³⁷.

4.1. Ensayos cualitativos.

Las pruebas cualitativas descritas están basadas en simples reacciones de color y cubren un número importante de drogas y otros tóxicos. Estas técnicas son rápidas, económicas y sencillas. Se llevan a cabo en placa de toque o tubos con sangre u orina y son particularmente aptas para el ámbito de una guardia aunque su sensibilidad y especificidad no sea muchas veces las adecuadas como es el caso de los métodos de referencia. La prueba cualitativa en orina debe realizarse ante cualquier sospecha de ingestión de paracetamol, sobre todo en pacientes que presentan síntomas luego de 24 horas o más de ocurrida la ingestión ³⁷.

Las Pruebas cromáticas sirven para algunas drogas y otros tóxicos si se encuentran en concentraciones altas y en ausencia de compuestos que interfieran dan colores característicos con reactivos apropiados. Algunos de estos ensayos son prácticos y específicos, pero hay otros compuestos que, al presentar grupos funcionales similares pueden también reaccionar y dar interferencia con los tóxicos y/o sus metabolitos. La descripción del color suele ser muy subjetiva ya que las personas con visión normal suelen ver los colores producidos con distinta intensidad. Muchos de estos ensayos suelen ser realizados satisfactoriamente en tubos de vidrio limpios, cápsulas de porcelana o placas de toque y tiras reactivas. Estas últimas permiten minimizar los volúmenes de reactivos y muestra necesaria ³⁸.

Cuando se realizan los ensayos de color es importante analizar conjuntamente con la muestra un blanco de reactivo y un testigo positivo. Si la muestra es orina,

el blanco y testigo se preparan sobre la misma matriz. A continuación se describen algunas de las reacciones de color. La omisión de alguna sustancia no indica que no dé respuesta en el ensayo; es importante controlar cada reacción con un blanco de reacción y un positivo de la reacción³⁸.

Estas técnicas son rápidas, económicas y sencillas. Se llevan a cabo en placa de toque o tubos con sangre u orina y son particularmente aptas para el ámbito de una guardia aunque su sensibilidad y especificidad no sea muchas veces las adecuadas como es el caso de los métodos de referencia³⁸.

Los reactivos de identificación con Cloruro férrico, Folin-Ciocalteu, Liebermann, Nessler la muestra puede ser orina, contenido estomacal o residuos de la escena. Al agregar la solución del reactivo a la solución etanólica de las muestras se observan los colores en frente a los reactivos (**Figura 12**)³⁸.



Figura 12. Pruebas cualitativas³⁸

4.1.1. Reacción con Orto-Cresol

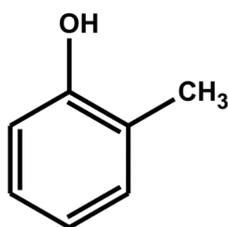


Figura 13. Estructura de o-cresol

Suele realizarse de manera indirecta a través de reacciones de acoplamiento oxidación con derivados fenólicos como 8-hidroxiquinolina, o-cresol / amonio, ácido 1,2-dihidroxibencen-3,5-disulfónico, 2-(2-hidroxifenil)-1H-bencimidazol. La muestra es con orina hidrolizada (**Figura 13**). El resultado positivo es azul-oscuro indica la presencia de paracetamol o fenacetina (**Figura 14**)^{39, 40}.

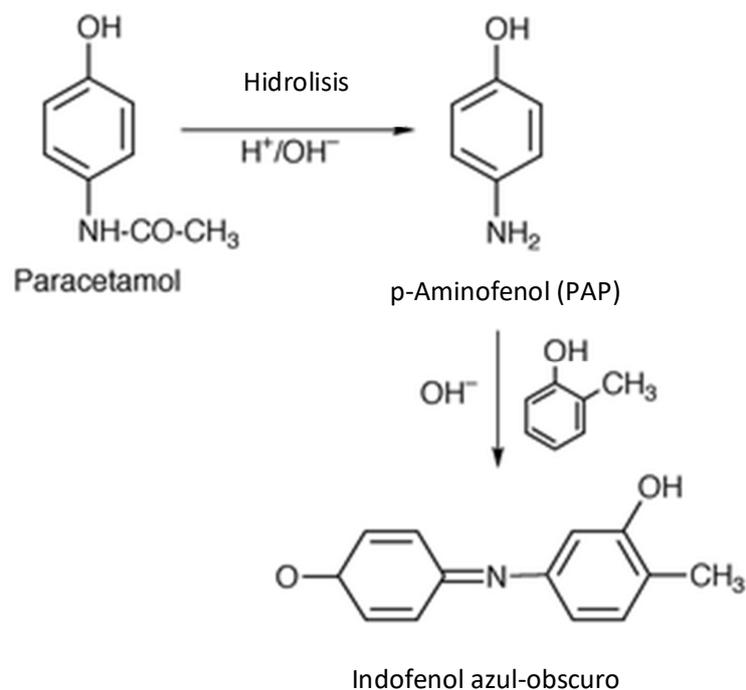
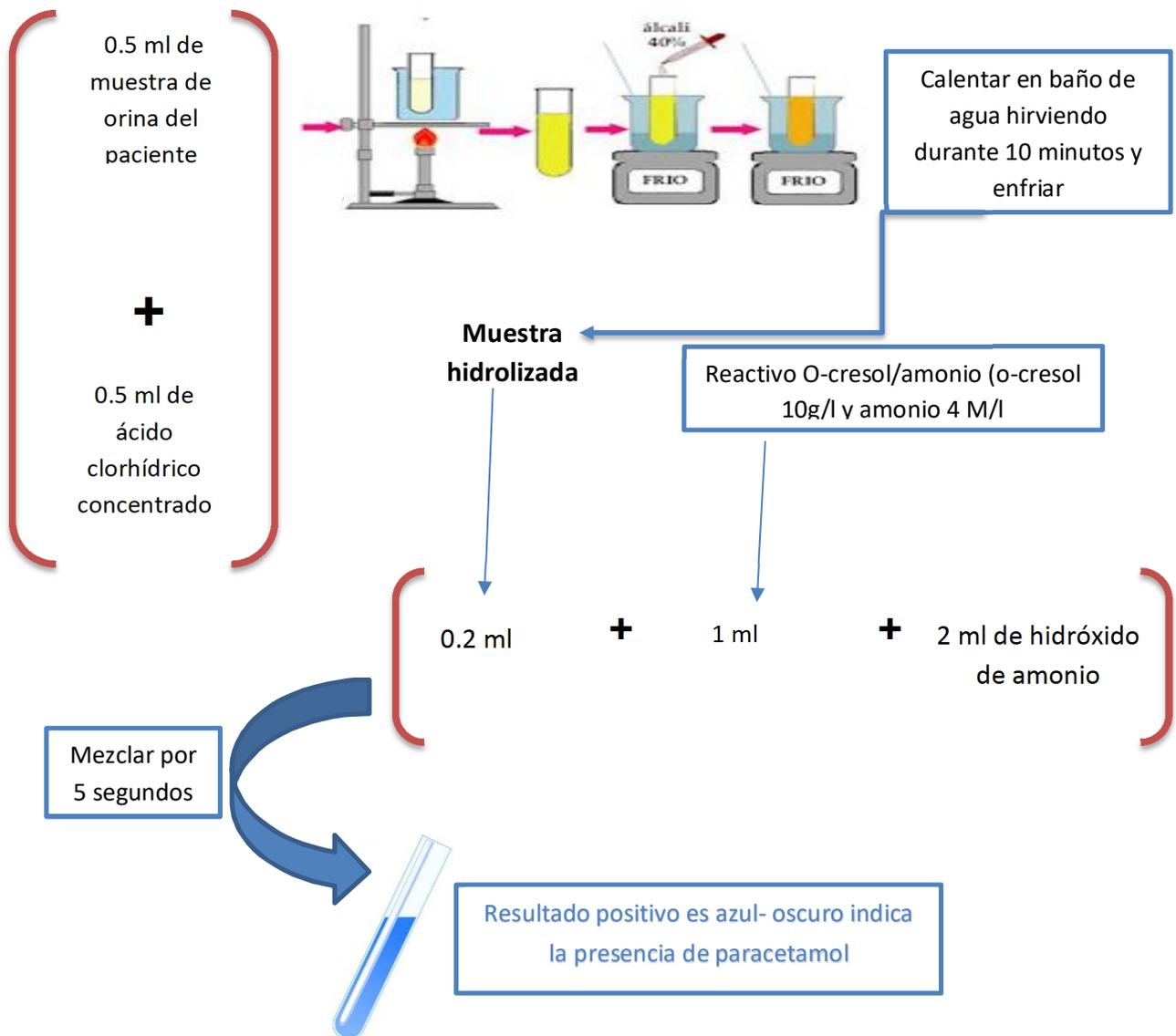


Figura 14. Reacción del paracetamol con el reactivo o-cresol⁴⁰



4.1.2. Reacción Cloruro férrico.

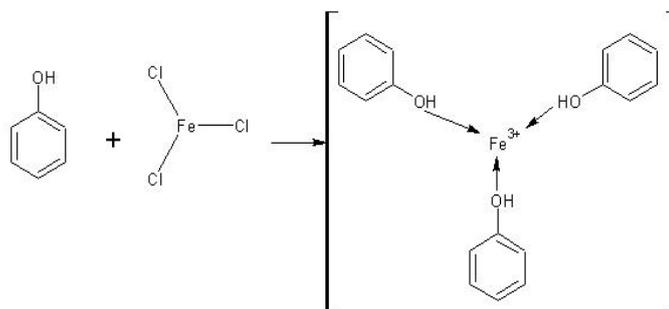
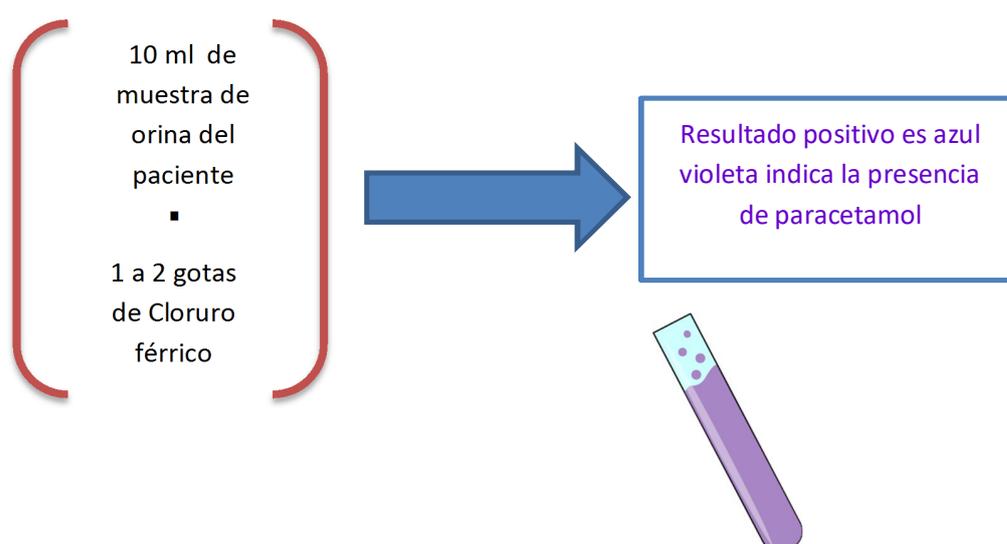


Figura 15. Reacción del cloruro férrico con fenol ⁴⁰

La reacción con triclorigenito férrico nos permite detectar los fenoles ya que estos dan color azul violeta. Esta respuesta se debe al ataque producido por el ión Cloruro al Hidrógeno del grupo hidroxilo provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro (formación de complejo), considerando que las disoluciones de fenoles presentan coloración. La solución del paracetamol con el Cloruro Férrico presenta una coloración azul **violeta** indicando presencia de fenol en la muestra (**Figura 15**). El procedimiento está representado en Diagrama de flujo⁴¹.



4.1.3. Reacción Folin-Ciocalteu:

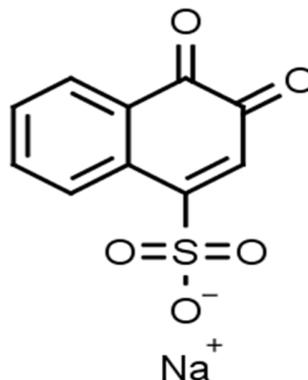
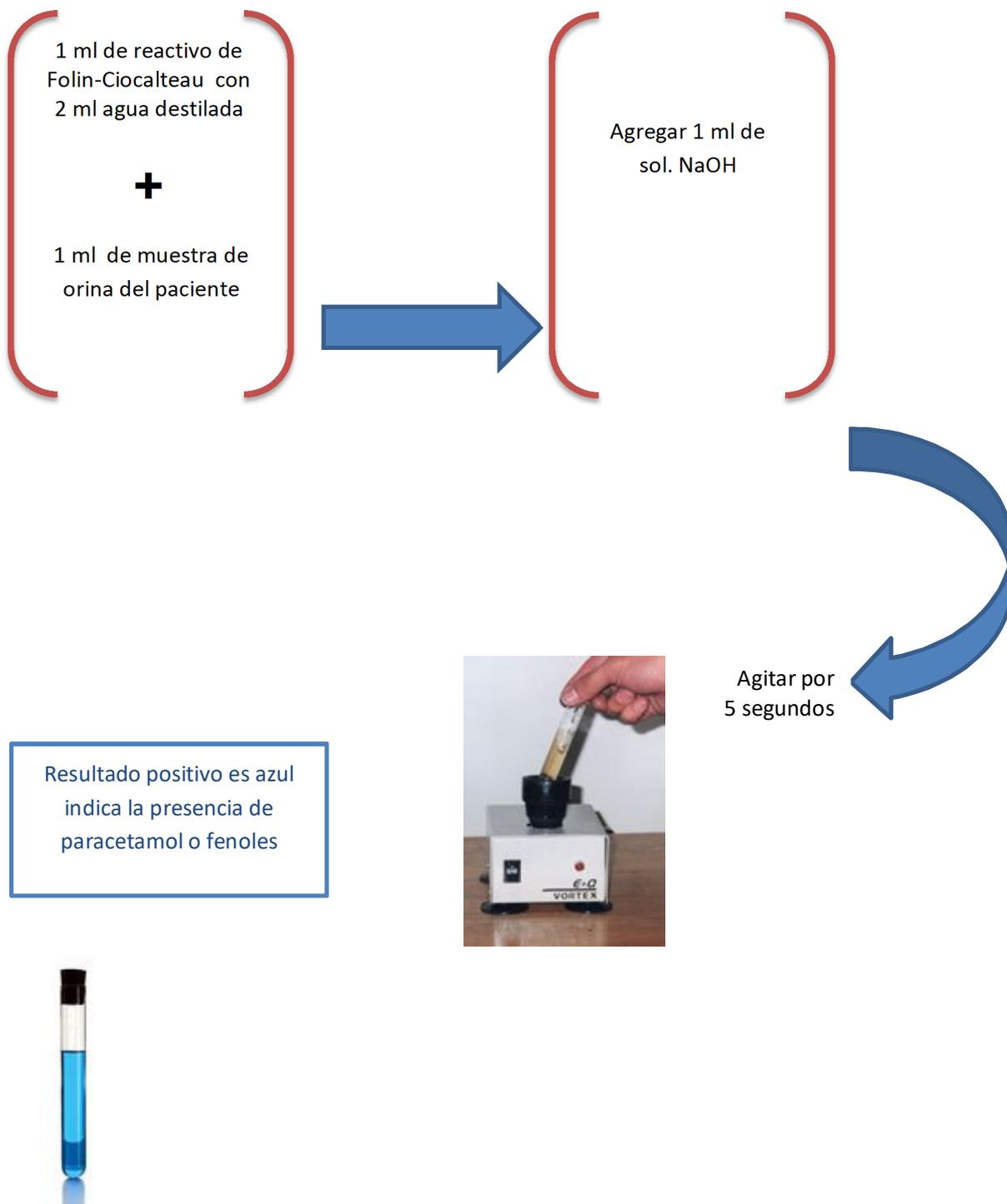


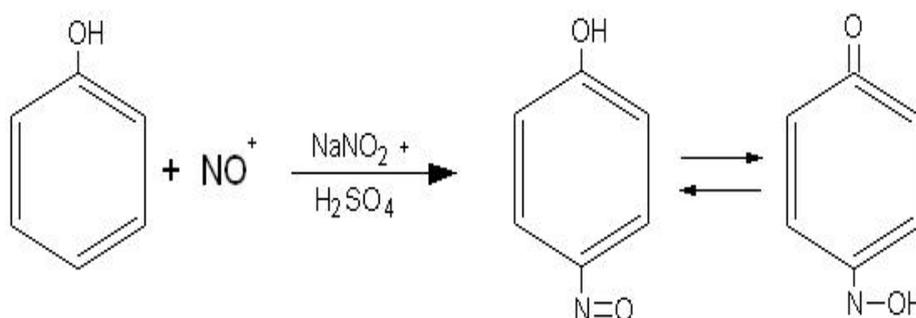
Figura 16. Estructura del reactivo Folin-Ciocalteu⁴¹

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula. (Figura 16)⁴¹

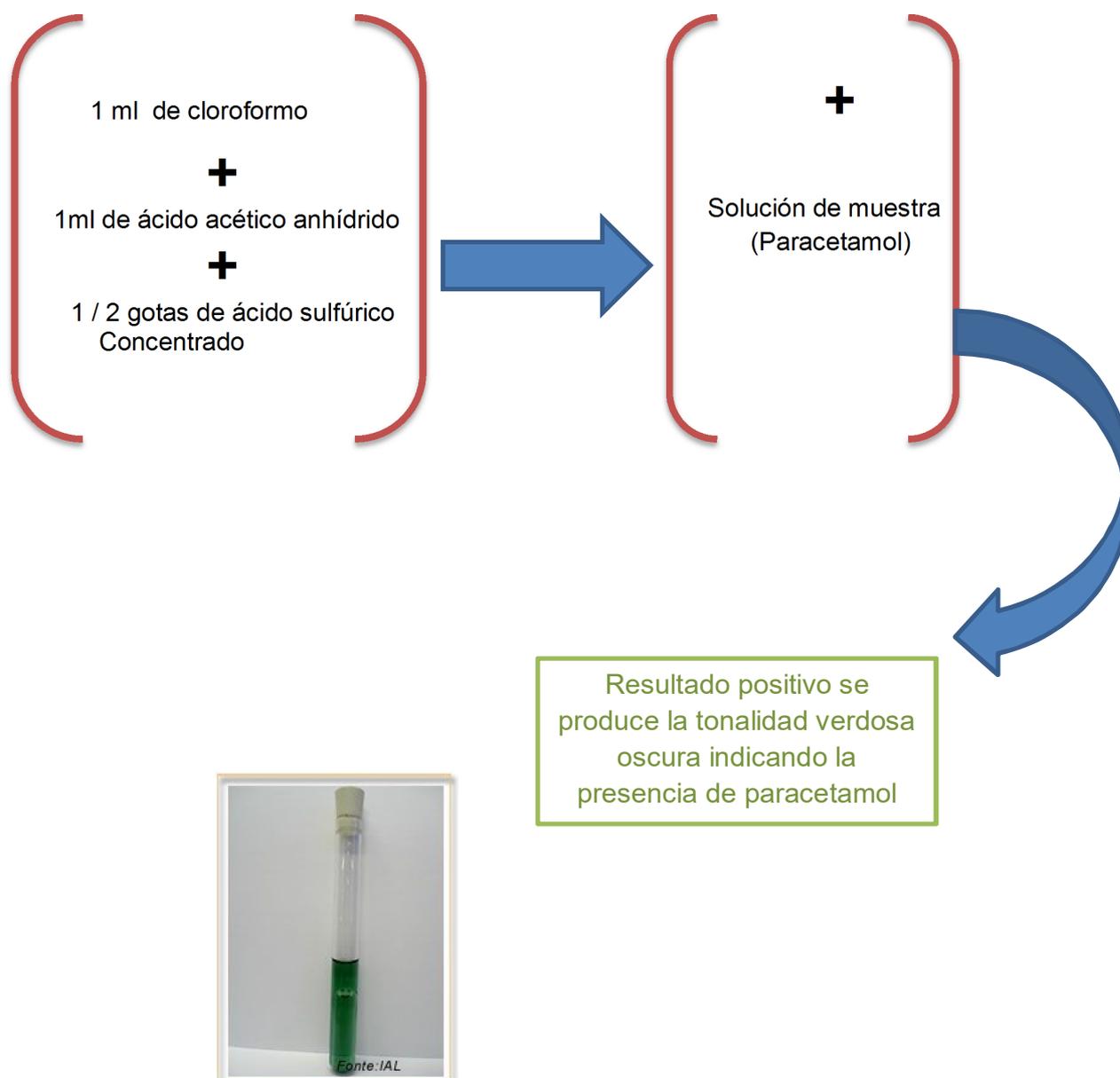
Es una mezcla de tungstato de sodio y molibdato de sodio, usado para detectar compuestos fenólicos. La determinación está representado en Diagrama de flujo ⁴¹.



4.1.4. Reacción de Liebermann:

Figura 17. Reacción de Liebermann con un fenol ⁴¹

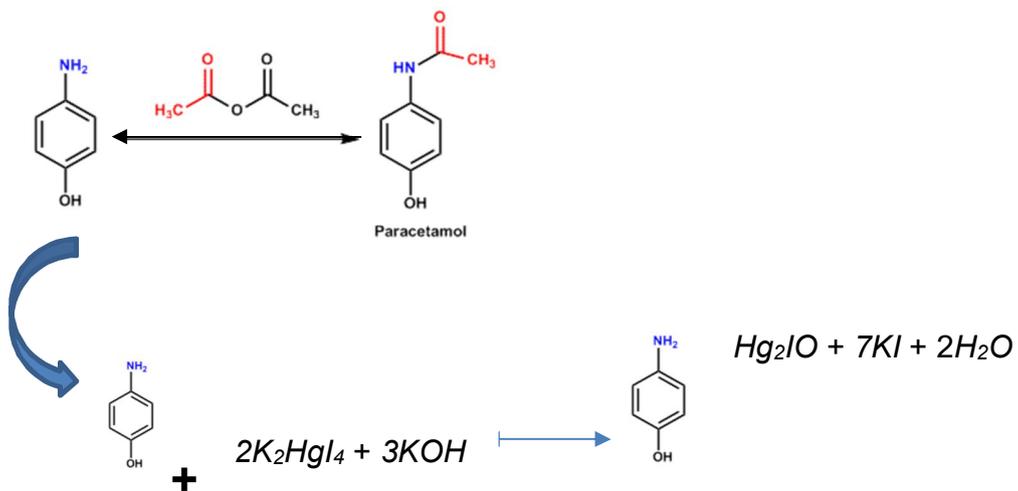
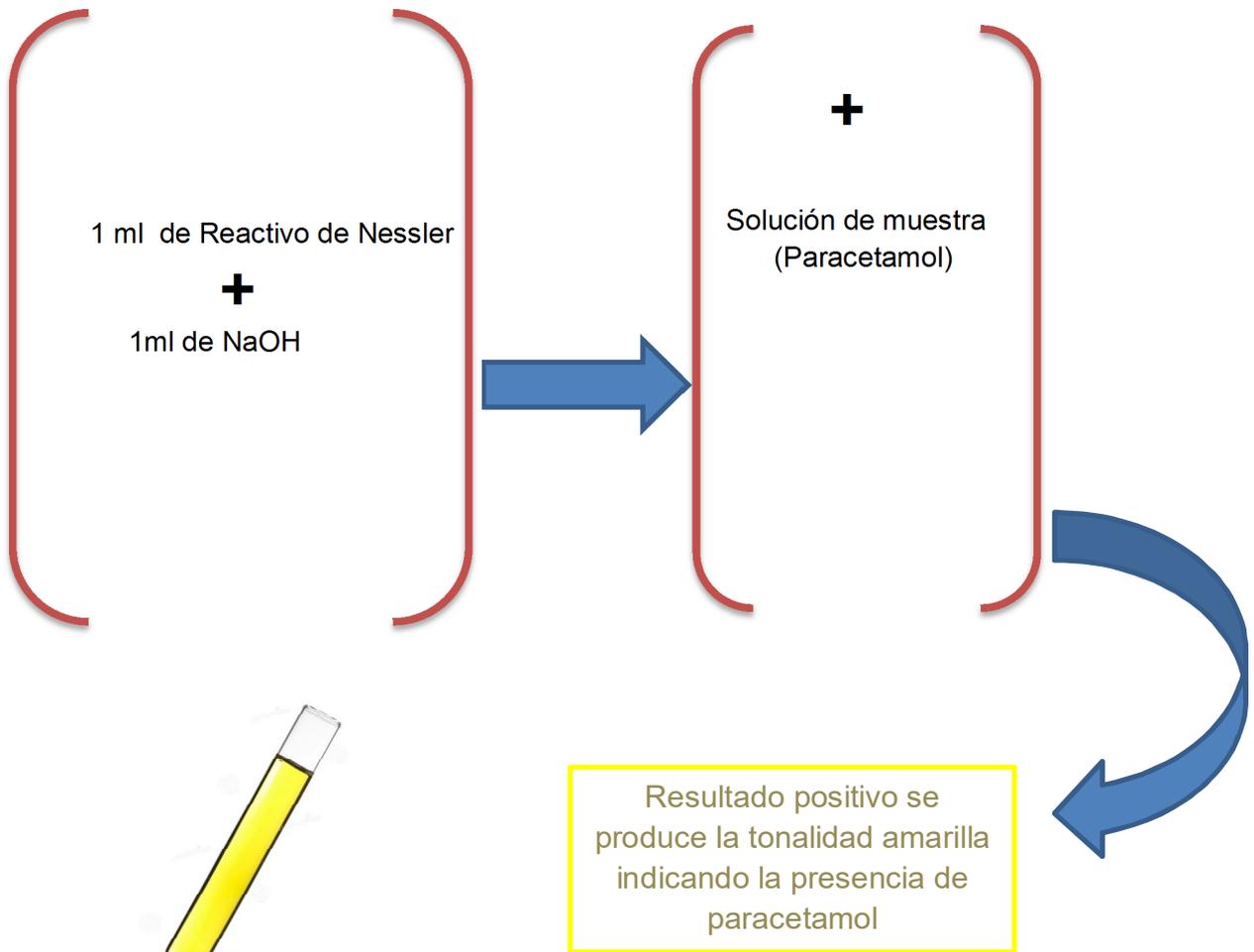
Es un reactivo utilizado en un ensayo colorimétrico para detectar esteroides con insaturación en los anillos A, B o C (ácido acético anhídrido, cloroformo y ácido sulfúrico) representada en la figura 17, lo que da un color verde intenso. Este color comienza como un color rosa violáceo y progresa a través de un verde claro y luego de color verde muy oscuro. El color es debido al grupo hidroxilo (-OH) del paracetamol reaccionar con los reactivos y el aumento de la conjugación de la insaturación en el anillo fusionado adyacente. La oxidación del ion carbonilo por el SO_2 produce un ácido colestano-hexano-sulfónico, produciendo la tonalidad verdosa oscura. La determinación está representada en Diagrama de flujo ⁴¹.



4.1.5. Reacción de Nessler:



El *yodomercuriato potásico* (**reactivo de Nessler**) en solución alcalina forma con el amoníaco un complejo de color rojo-naranja-pardo (*yodoamiduro* o *oxidimercurilo*) cuya densidad óptica a 440 nm permite valorarlo cuantitativamente, previa obtención de una curva patrón. No obstante puede utilizarse esta técnica a modo de prueba orientativa (cualitativa) sin utilizar medida de absorción de la luz. Se requiere un tratamiento preliminar antes de la nesslerización. Éste se hace con sulfato de zinc y álcali (NaOH). Con este proceso se consigue la precipitación del calcio, hierro, magnesio y sulfuros presentes en la muestra y que producen turbidez al tratarlos con el reactivo de Nessler. Posteriormente se añade EDTA o solución de sal de Rochelle que inhibe la precipitación de los iones residuales calcio y magnesio, en presencia del reactivo de Nessler alcalino. Cabe destacar que el uso de EDTA exige una adición extra (exceso) del reactivo de Nessler, para asegurar de que todo el amoníaco reacciona con él. El reactivo de Nessler produce una coloración gradual de amarillo a pardo, a medida que aumenta la concentración de amoníaco de la muestra de paracetamol. La determinación está representado en Diagrama de flujo⁴².



4.2. Ensayos cuantitativos

La Toxicología, fue la ciencia de los tóxicos e intoxicaciones, considerada como una rama de la ciencia forense y la criminología. Hoy en día, está claro que el estudio de aplicación de la toxicología tiene tres áreas fundamentales: descriptiva, analítica, experimental; con sus distintas ramas: clínica, forense, ambiental, ecotoxicología, laboral, regulatoria, alimentaria, inmunotoxicología, toxicogenética. La Toxicología Clínica incluye la prevención, diagnóstico y el manejo de las intoxicaciones. Los servicios de toxicología analítica proveen soportes para esta área de la Toxicología⁴³.

En muchos países en vías de desarrollo tales servicios no están disponibles, ya que no cuentan con un equipo de salud completo. En la actualidad, los laboratorios de toxicología forman parte de organismos privados o públicos: hospitales, universidades, centros de salud regionales, etc. En ocasiones, se encuentran a grandes distancias del lugar del suceso toxicológico para dar una respuesta a la urgencia por lo que existe la necesidad de establecer laboratorios de baja complejidad que puedan colaborar en la resolución del problema toxicológico, mediante métodos analíticos simples que no necesitan de equipamientos complejos y de alto costo⁴³.

Existen muchas técnicas para determinar las concentraciones séricas de paracetamol, entre ellas la cromatografía de capa fina, el enzimoimmunoanálisis, la espectrometría UV⁴³.

4.2.1. ESPECTROFOTOMETRÍA UV Y VISIBLE

La espectroscopia es el método de análisis más usado en la investigación óptica; la espectrometría es la técnica espectroscópica utilizada para determinar la concentración de una sustancia, es la cuantificación de energía radiante absorbida por las moléculas de una muestra en función de las longitudes de onda específica. En la figura 18 representa las partes de espectrofotómetro⁴³.

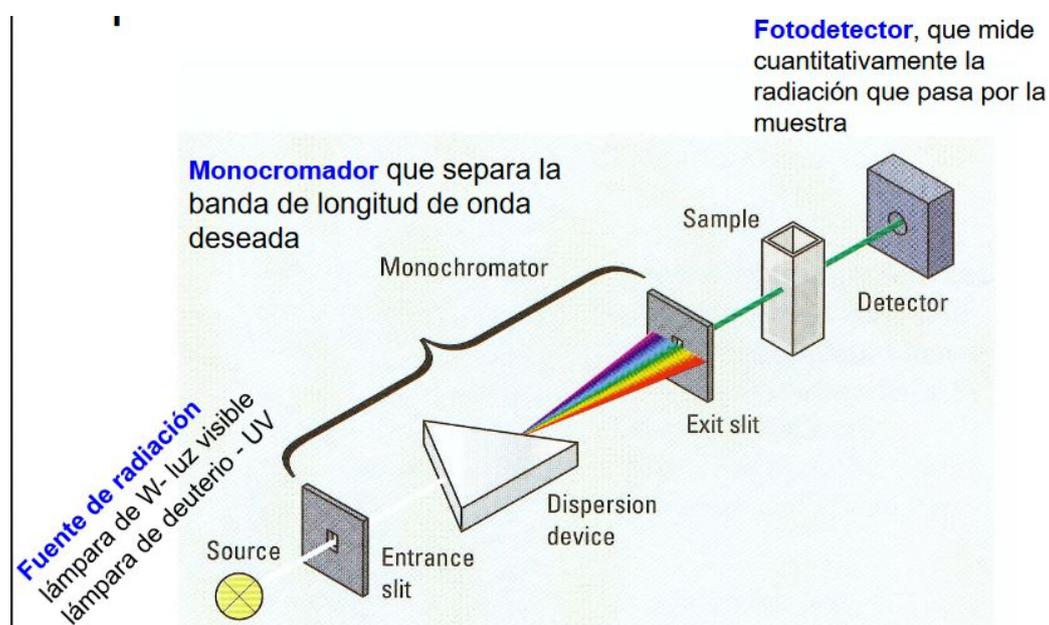


Figura 18. Partes que compone un espectrofotómetro⁴³

Estudia la absorción de radiación ultravioleta–visible por una molécula. Al hacer incidir radiación UV-Visible de energía adecuada, las moléculas pasan del estado fundamental a un estado de mayor energía (excitado)⁴³.

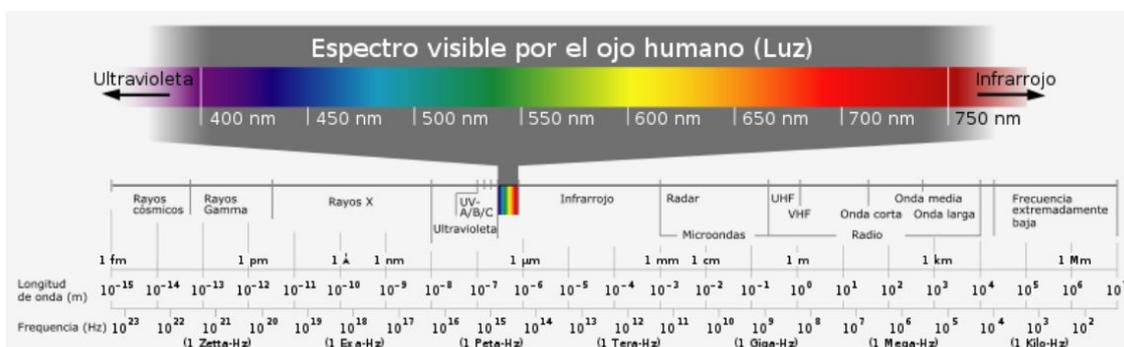


Figura 19. Longitudes de onda en espectrofotómetro UV y visibles

Si la energía de la radiación coincide con la diferencia de energía entre el último estado ocupado y el primer estado vacío se produce la transición de un electrón a un estado de energía superior.

La luz visible o UV es absorbida por los electrones de valencia y éstos son promovidos a estados excitados (de energía mayor). Al absorber radiación electromagnética de una frecuencia adecuada, ocurre una transición desde el estado fundamental a un estado excitado. Algunas moléculas, como es el caso del β -caroteno, naranja de metilo, fenofltaleína, absorben energía en el visible así como en el UV, lo que produce que tengan color (visible). Esta moléculas se suelen caracterizar, por tener un sistema de enlaces (Figura 19)⁴³.



Figura 20. Tipos de equipos de espectrofotómetros

Varios de los métodos cuantitativos descritos en las monografías emplean la espectrofotometría ultravioleta (UV) (200-400 nm) o visible (400-800 nm). Estos métodos presentan el inconveniente de la presencia en el medio de sustancias interferentes, lo que implica en muchos casos la purificación previa de la muestra⁴³.

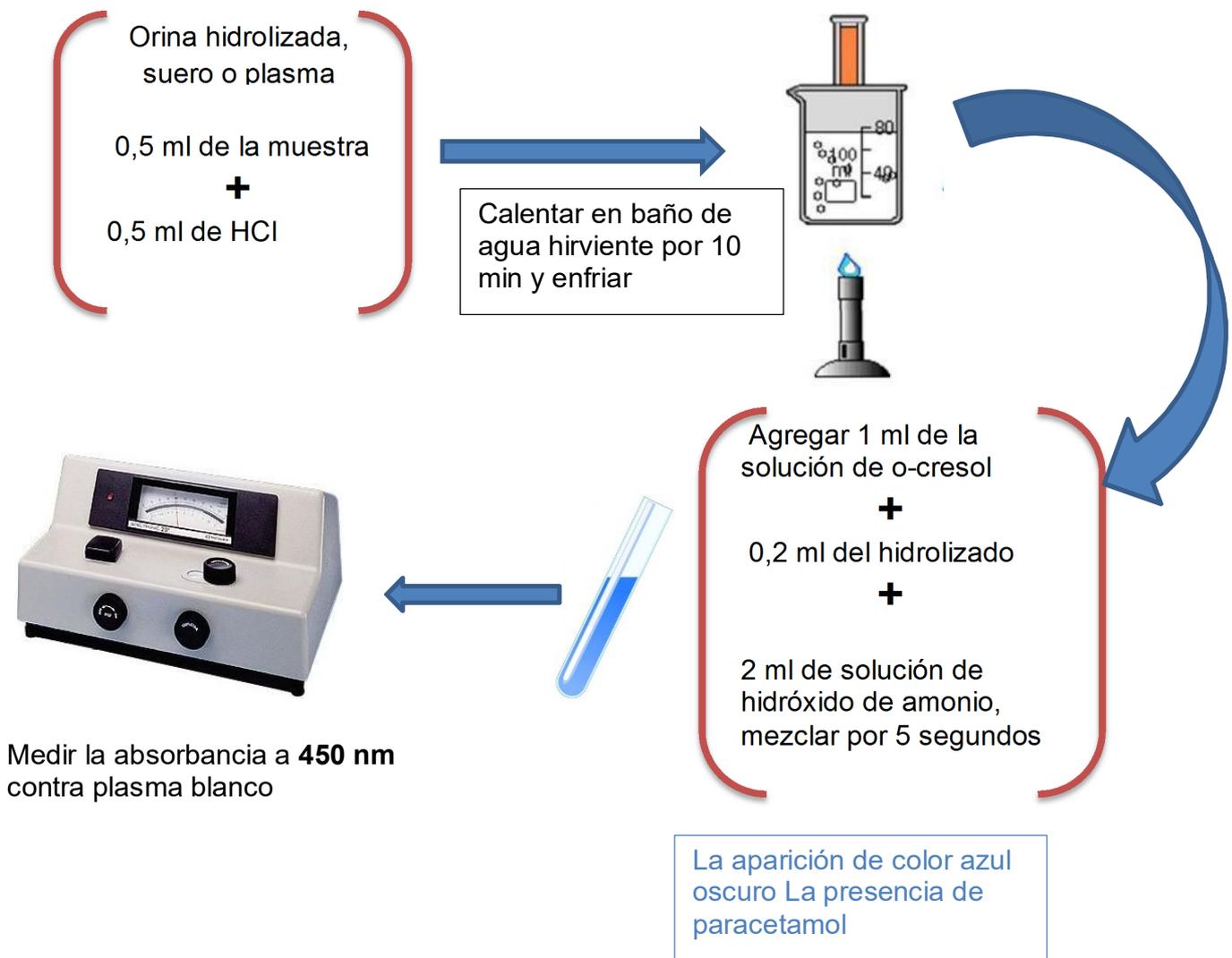
El análisis mediante el barrido al UV es utilizado para detectar un medicamento específico o confirmar compuestos detectados por otras metodologías. Se realiza un barrido espectral entre 390 y 220 nm en solución acuosa ácida (HCl al 1% o Ácido sulfúrico 0,1N) para drogas extraídas en medio alcalino, en solución acuosa alcalina (Hidróxido de amonio 0,45N) para drogas extraídas en medio ácido o en solución neutra (metanol). De esta forma se obtiene información adicional mediante el estudio de los picos de absorción máxima y mínimos ya que muchas drogas varían su absorción al UV (λ máxima) por cambio de pH. El barrido UV es poco específico a menos que el paracetamol se encuentre solo en solución sin presencia de otras sustancias que alterarían el espectro de absorción. Esto es posible si es aislada por otro procedimiento como **CCD** (cromatografía en capa delgada preparativa, elución) o por metodologías que eliminen estas sustancias interferentes. Algunas sustancias pueden presentar espectros UV similares o superpuestos requiriendo otras técnicas de confirmación⁴³.

Para el análisis puede emplearse suero o plasma. Se ha observado que los anticoagulantes, tales como la heparina, los citratos, los oxalatos y el ácido edético (EDTA), no interfieren en el análisis. Pueden utilizarse muestras de plasma obtenidas con estos anticoagulantes, aunque se recomienda emplear muestras de suero fresco. Almacene las muestras refrigeradas. Debe hacerse todo lo posible para mantener las muestras pipeteadas libres de residuos macroscópicos.

a. Método del sulfamato de amonio (Espectrofotometría visible)

La muestra puede ser plasma o suero, los reactivos son solución acuosa de ácido tricloroacético (100 g/l), Solución acuosa de ácido clorhídrico (6 mol/l), Solución acuosa de nitrito de sodio (100 g/l, recientemente preparado), Solución acuosa de sulfamato de amonio (150 g/l), Solución acuosa de hidróxido de sodio (6 mol/l). Los testigos se preparan soluciones que contengan paracetamol en las siguientes concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 400 mg/l en plasma blanco (plasma sin medicamentos). Estas soluciones son inestables incluso a 4°C y deben prepararse en forma semanal o guardarse a -20°C. El procedimiento está representado por un diagrama de flujo. Los resultados se calcula la concentración de paracetamol en el plasma por comparación con los resultados que se obtuvieron de las soluciones patrones. Los metabolitos del paracetamol no interfieren, pero el método, sólo es útil dentro de las 4-24 hrs luego de la ingestión. El límite de sensibilidad (normalmente es de 50 mg/l) puede ser de 100 mg/l o más con sueros urémicos. Existe interferencias con el ácido salicílico interfiere levemente ya que a una concentración de salicilato

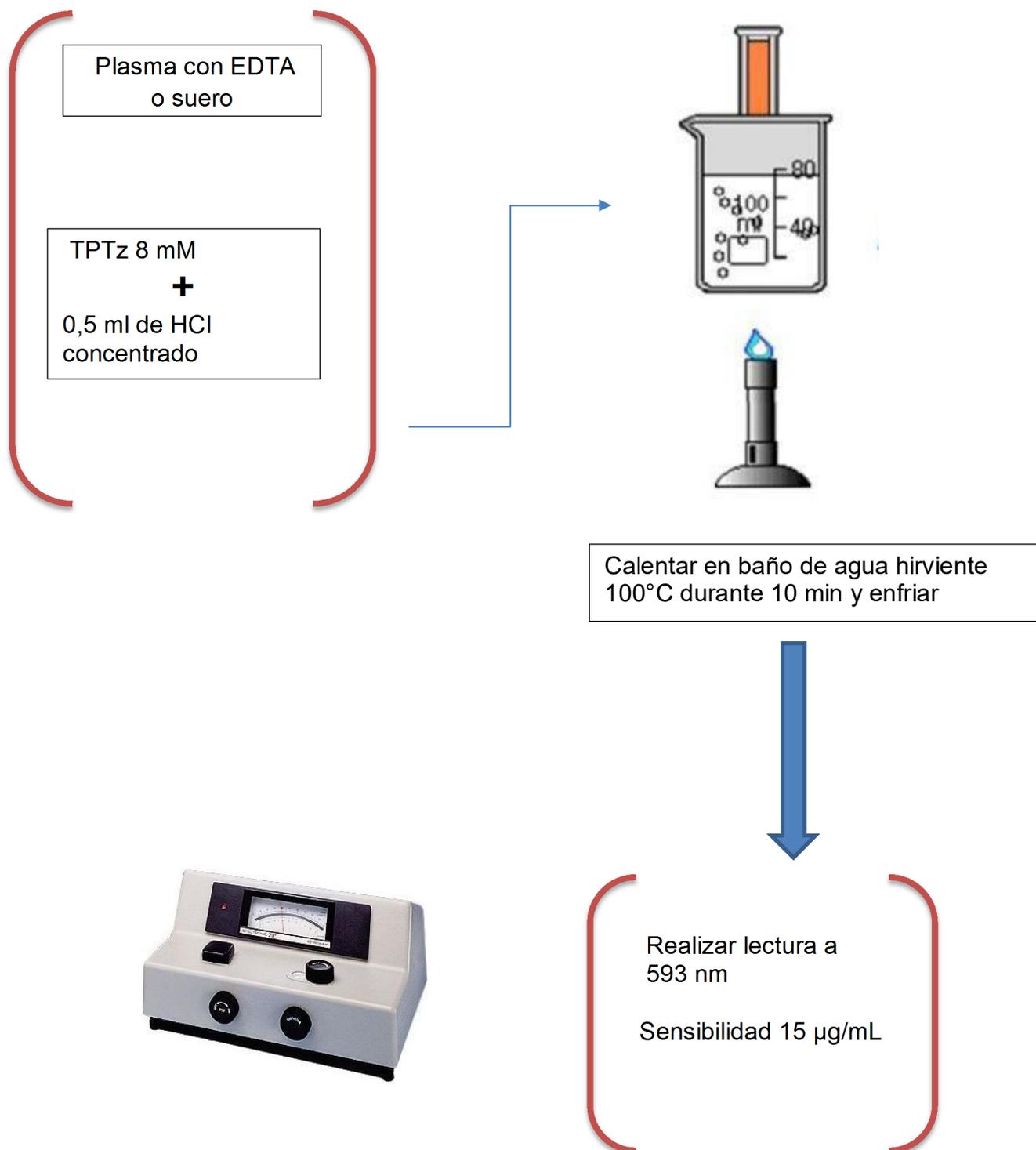
de 1 g/l provoca una concentración aparente de paracetamol de 50 mg/l. Sin embargo, el ácido 4-aminosalicílico produce una importante interferencia ya que a una concentración de 100 mg/l produce una concentración aparente de paracetamol de 320 mg/l. La Levodopa también interfiere y las muestras contaminadas con mucus, heparina u otras soluciones que contienen un preservante derivado del o-cresol pueden dar un valor muy alto dando falsos positivos. Sensibilidad: 50 mg/l⁴³.



b. Reacción con 2, 4,6-tris (2-piridil) s-triazina (TPTz)

Se emplea de muestra el plasma (anticoagulante **EDTA**) o suero. Evitar la utilización de heparina como anticoagulante. Conservar a 4° C cuando no se realice el análisis en forma inmediata. Los reactivos son solución de TPTz (2, 4,6-tris (2-piridil) s-triazine) 8 mM: Disolver 74,88 mg de droga sólida de TPTz en 30 ml de HCl 0,036 M. Conservar en frasco color caramelo. Solución de HCl 0,036 M: Tomar 155 µL de HCl concentrado y llevar a 50 ml. Solución de Cloruro Férrico 0,54 %: Disolver 54 mg de Fe (NO₃)₃.9H₂O en 10 ml de HCl 0,02M. Conservar en frasco color caramelo. Solución de HCl 0,020 M: Tomar 0,86 ml de HCl concentrado y llevar a 500 ml con agua destilada. Solución Buffer de Acetato de Sodio 0,3M (pH 3,6): Disolver 467,35 mg de Acetato de Sodio. Anhidro en 200 ml de agua destilada y adicionar 4 ml de Ácido Acético Glacial. Ajustar a pH 3,6. Llevar a volumen final de 250 ml⁴³.

Estabilidad de los reactivos: es de 6 meses conservados en heladera a 4° C. Los testigos son solución Madre de Paracetamol 1 mg/ml: Disolver 10 mg de muestra pura en 10 ml de agua destilada. Conservar en frasco color caramelo. Testigos de Paracetamol 50; 100; 150; 200 y 250 g/ml: Tomar 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 ml de solución madre. La sensibilidad: 15 µg/mL. Existen interferencias con la dipirona en concentraciones terapéuticas. Ácido acetilsalicílico y salicilamida en concentraciones tóxicas. Levodopa, aminofenazona, fenilbutazona y oxifenilbutazona, fenilefrina. El procedimiento está representado en diagrama de flujo⁴³.



4.2.2. EIA: INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO

- **Enzimoimmunoanálisis**

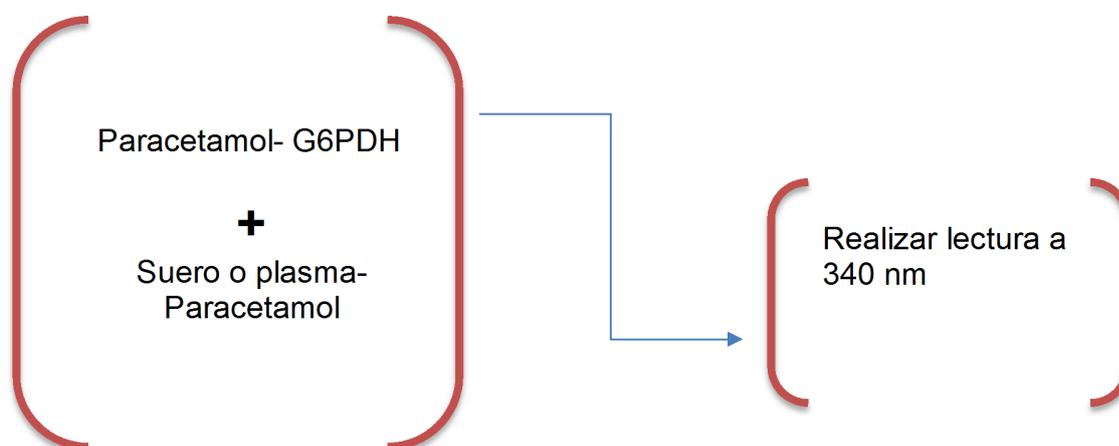
El análisis de Paracetamol Serum Tox es un enzimoimmunoanálisis homogéneo que utiliza reactivos líquidos listos para su uso. El análisis se basa en la competencia entre un medicamento marcado con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y el medicamento de la muestra de suero por una cantidad fija de lugares de unión de anticuerpos específicos del medicamento. Si la muestra no contiene medicamento, el anticuerpo específico se une al conjugado fármaco-G6PDH, lo que inhibe la actividad enzimática. Este fenómeno crea una relación directa entre la concentración de medicamento de la muestra y la actividad enzimática. La actividad de la enzima G6PDH se determina mediante espectrofotometría a 340 nm, midiendo su capacidad para convertir la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en NADH⁴⁴.

Reactivo de anticuerpo y sustrato. Contiene anticuerpos monoclonales antiparacetamol, glucosa-6-fosfato (G6P) y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en trometamol (tampón Tris) con azida sódica como conservante⁴⁴.

Reactivo de conjugado enzimático. Contiene paracetamol marcado con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) en trometamol con azida sódica como conservante⁴⁴.

Limitaciones:

1. El análisis está diseñado para realizarse solamente con suero o plasma humanos, pero no con sangre entera
2. Las muestras de pacientes con concentraciones de paracetamol de más de 200 $\mu\text{g/mL}$ deben diluirse con el calibrador negativo y volverse a analizar. La concentración correcta de paracetamol se obtiene multiplicando el resultado del análisis por el factor de dilución⁴⁴.



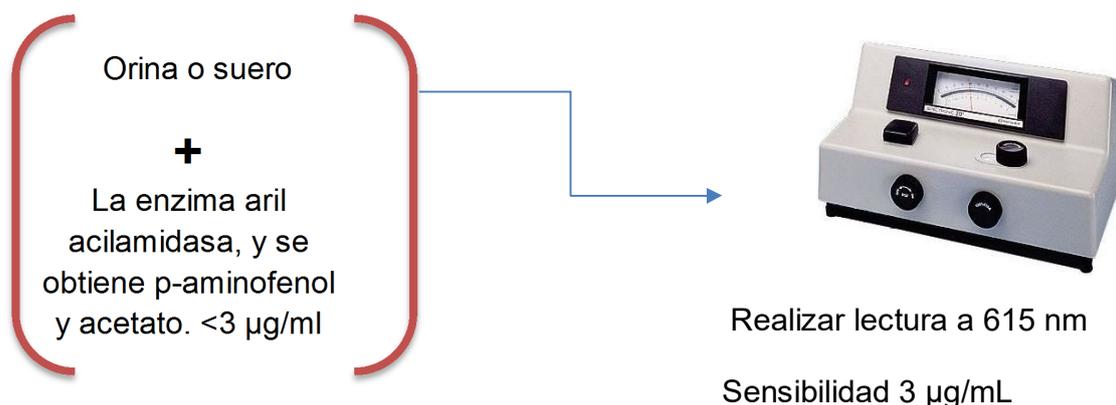
- **Colorimetría enzimática**

Diversos estudios indican que la detección de paracetamol en orina tiene una elevada sensibilidad, lo que podría permitir descartar la ingesta del medicamento en el paciente pediátrico sin necesidad de una extracción sanguínea. Se analiza el rendimiento de un punto de corte de 3 µg/mL, en la determinación de paracetamol urinario, como método de cribado para detectar la presencia de paracetamol en posibles sobre ingestas en población pediátrica, mediante el nuevo ensayo para su determinación en suero disponible en la actualidad en nuestro laboratorio. De este modo, se podría acortar la estancia en urgencias del paciente pediátrico y limitar la práctica de otras pruebas complementarias. Puede ser útil para descartar la presencia del medicamento a partir de la primera hora tras la ingesta y su negatividad puede hacer innecesaria la determinación de niveles séricos. La detección de paracetamol urinario antes de las 4 hrs es útil para descartar la ingesta de paracetamol en la población pediátrica, y resulta óptima transcurridas 4 hrs de la ingesta ⁴⁵⁻⁴⁷.

El paracetamol se determinó cuantitativamente mediante colorimetría enzimática con el sistema Architect c- 16000 de Abbott (EE.UU.). El ensayo se basa en la rotura enzimática del enlace amido de la molécula de paracetamol mediante la acción de la enzima aril acilamidasa, y se obtiene p-aminofenol y acetato. El p-aminofenol reacciona con el reactivo de la técnica (ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfónico), en presencia de iones de manganeso, para formar un compuesto coloreado [5-(4-iminofenol)-8-quinolona]. La detección

de paracetamol puede ser útil para descartar la presencia del medicamento a partir de la primera hora tras la ingesta y su negatividad puede hacer innecesaria la determinación de niveles séricos. La detección de paracetamol antes de las 4 hrs es útil para descartar la ingesta de paracetamol en la población pediátrica, y resulta óptima transcurridas 4 hrs de la ingesta⁴⁸

El método se basa en la hidrólisis del paracetamol para formar *p*-aminofenol, el cual sufre una reacción de acoplamiento y oxidación en medio básica con ácido salicílico e hipoclorito de sodio para dar lugar a un compuesto quinonamina de color azul. El sistema es optimizado y bajo las condiciones encontradas el método proporciona un intervalo lineal de trabajo de 8.0-100.0 mg L⁻¹ con un límite de detección (LOD) de 2.6 mg L⁻¹ y una precisión (expresada como desviación estándar relativa) menor al 5.0% en todos los casos. El método no encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los contenidos determinados y el reportado por el proveedor⁴⁹.



- **Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (FPIA)**

La metodología analítica utilizada para las determinaciones de paracetamol ha sido **por inmunoensayo de polarización de fluorescencia (FPIA)** en un analizador TDX/FLX de Abbott (EE.UU.). Diagnostics ®. La sensibilidad analítica es de 1 mg/L. La estimación del valor de la $t_{1/2}$ se obtuvo mediante el cociente C1/C2: C1 fue la concentración de paracetamol al ingreso y C2 la concentración de paracetamol obtenida tras un intervalo de tiempo posterior establecido. La segunda extracción (C2) se realizó siempre en periodos de tiempo exactos (con intervalos cada 60 min a partir de la segunda hora y hasta la hora 12 de la primera extracción). Para facilitarlos se elaboró una tabla en la que constaban los valores límites de dicho cociente, que determinan la potencial hepatotoxicidad según el intervalo en horas que se dio en cada una de las extracciones, ya que fue variable en cada intoxicado. Si el cociente C1/C2 era igual o inferior al valor establecido en la tabla para cada periodo de tiempo entre determinaciones, se consideraría positivo e indicaría una $t_{1/2} > 4$ hrs y, por tanto, alta probabilidad de daño hepático. En caso contrario, indicaría una $t_{1/2} < 4$ hrs y se consideraría negativo, por tanto una baja probabilidad de daño hepático. El cálculo de la $t_{1/2}$ se ha realizado considerando que el metabolismo de paracetamol sigue una cinética de primer orden⁴⁹.

Diversos estudios en adultos indican que la detección de paracetamol en orina tiene una elevada sensibilidad, lo que podría permitir descartar la ingesta del medicamento sin realizar analítica. En este sentido, la mayoría de hospitales disponen de una técnica de análisis cuantitativo en sangre. Su utilización en orina permitiría afirmar o descartar la ingesta sin necesidad de una extracción sanguínea ni de un test urinario específico. El límite de detección del test es de 1 µg/mL. En la Figura 21 reproducimos el algoritmo de manejo del paciente pediátrico con sospecha de intoxicación aguda por paracetamol e indicamos dónde podría ser útil la determinación de paracetamol urinario como test de despistaje. Este algoritmo muestra las dosis tóxicas aceptadas actualmente por las guías internacionales la determinación de paracetamol urinario mediante la técnica utilizada puede ser útil para descartar ingesta de paracetamol en las 24 hrs previas ^{49, 50}.

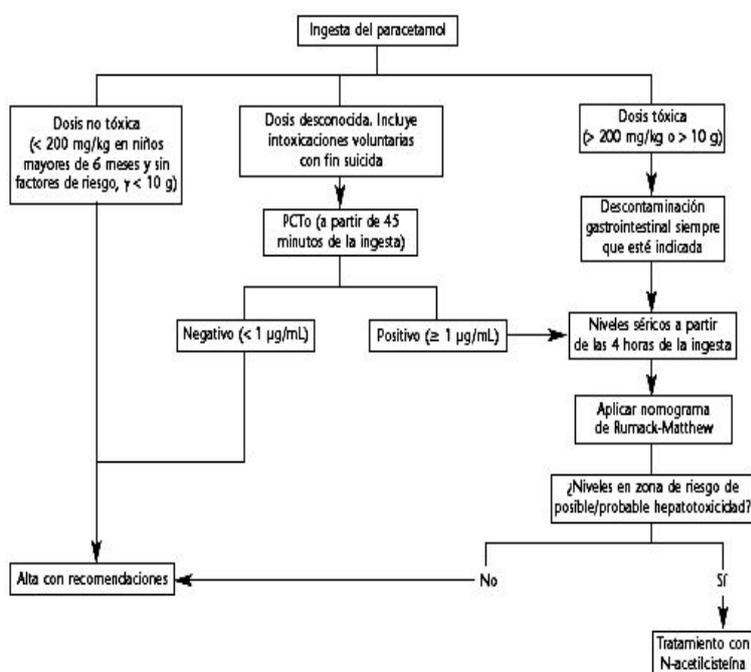


Figura 21. Algoritmo de manejo del paciente pediátrico con sospecha de ingesta de paracetamol: detección de paracetamol en orina

Los métodos enzimáticos cromogénicos, ampliamente extendidos que por lo general utilizan una amidasa para producir *p*-aminofenol que reacciona comúnmente con un reactivo cromogénico para producir un compuesto coloreado. Aunque menos extendidos y más caros también están disponibles en equipos automatizados los inmunoensayos homogéneos. Los métodos enzimáticos son más sensibles a interferencias tanto endógenas como exógenas que los inmunoensayos. Entre los posibles interferentes en estos métodos cromogénicos la bilirrubina es el principal candidato, debido a su intensa absorbancia en un amplio rango de longitudes de onda del espectro ultravioleta y visible⁵¹.

c. Método Indofenol

De hecho han sido reportados varios casos de niveles falsamente elevados de paracetamol cuantificado con métodos enzimáticos en pacientes con fallo hepático e hiperbilirrubinemia que negaban la ingesta del analgésico; método que se basa en el uso de una amidasa específica de las amidas aromáticas. La enzima rompe la molécula de paracetamol, produciendo *p*-aminofenol, el cual reacciona específicamente con *o*-cresol en una solución amoniacal de cobre dando lugar a indofenol, que absorbe la luz a 600 nm (Figura 22). El procedimiento está representado en diagrama de flujo⁵².

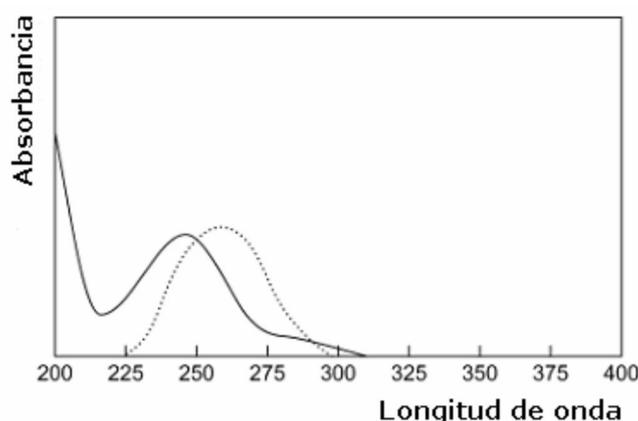
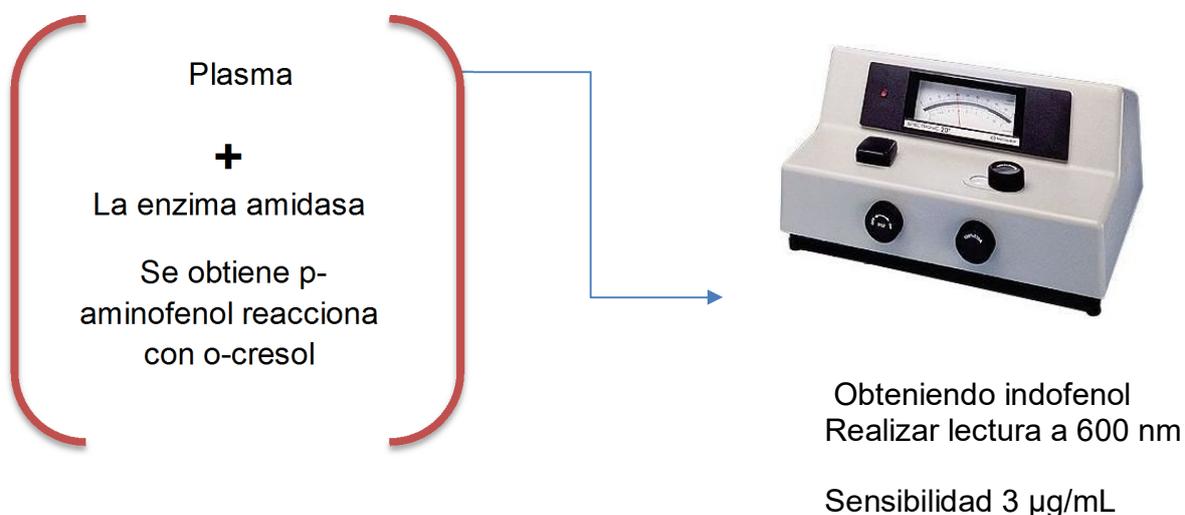


Figura 22. Barrido al UV del paracetamol

La cantidad de aminofenol producida es proporcional a la concentración de paracetamol y se mide usando una técnica bicromática a punto final en el analizador © EXLTM (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. ©). La bilirrubina es uno de los compuestos endógenos más proclives a producir interferencias, dada su amplia e intensa absorción en el espectro ultravioleta y visible. Nuestro método es un método enzimático-colorimétrico que produce como producto final indofenol, el cual absorbe fuertemente la radiación a 600 nm ⁵².

Un biomarcador de efecto, que debe ser monitorizado en todos los casos en que se sospecha la ingesta de una dosis tóxica, es el tiempo de protrombina que, junto a la elevación de las enzimas hepáticas, es un indicador precoz de la gravedad de la intoxicación. Así, a partir de las 12 hrs puede detectarse una elevación de la actividad aminotransferasa del suero (AST, ALT) y una prolongación del tiempo de protrombina. Ambos signos pueden ser precedidos por un aumento de la bilirrubina plasmática no conjugada ⁵³.

Los mejores indicadores del pronóstico grave, que predicen la necesidad de incluir al paciente en lista de trasplante hepático, además de la concentración plasmática de paracetamol, son ⁵²:

- pH inferior a 7
- Tiempo de protrombina superior a 100 segundos
- Creatinina superior a 300 $\mu\text{mol} / \text{L}$

Sus ventajas son:

- Se trabaja con muestra de suero u orina
- El límite de detección es de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- La detección de paracetamol en orina puede ser antes de 4 hrs
- Se pueden beneficiar claramente niños con ingesta dudosa y adolescentes con intoxicación con fin suicida.

Sus desventajas son:

- ❖ No es con sangre entera
- ❖ Las muestras de pacientes con concentraciones de paracetamol de más de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ deben diluirse con el calibrador negativo y volverse a analizar.

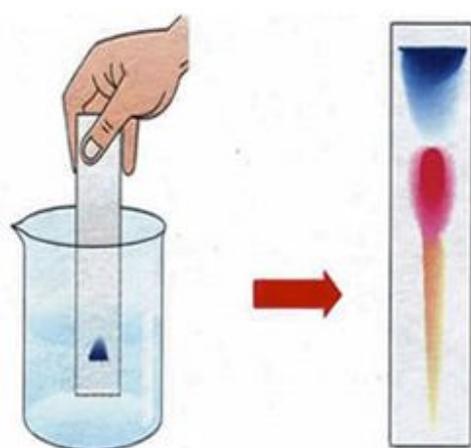
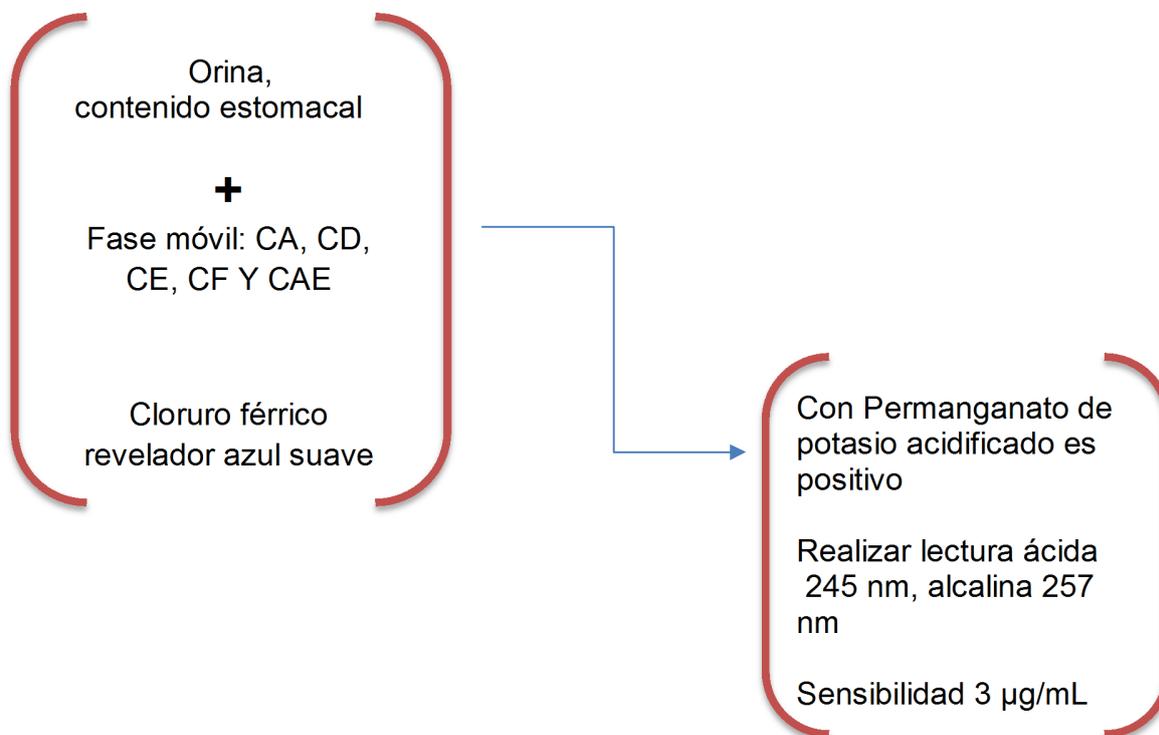
4.2.3. CROMATOGRAFÍA

a) En placa delgada

La cromatografía en placa delgada (**CCD**) es un método ampliamente utilizado, relativamente barato y sencillo de realizar y requiere de una infraestructura mínima. Puede ser un poderoso método separativo y permite al mismo tiempo un análisis cualitativo. En general se aplica a posteriori de alguna forma de pretratamiento de la muestra, como por ejemplo, extracción de los análogos de la muestra con solventes. La interpretación de resultados puede ser difícil, sobre todo si están presentes varias drogas y/o metabolitos. La **CCD** es la base del procedimiento para el aislamiento e identificación de múltiples sustancias luego de la extracción de las sustancias y/o metabolitos presentes con solventes adecuados, tanto en orina, como contenido estomacal, residuos en la escena, comprimidos o formulaciones. Esta metodología es recomendada para la identificación de varios compuestos descritos en las monografías y puede llegar a utilizarse como técnica semicuantitativa⁵³.

Las muestras con alto contenido de grasa, por ejemplo contenido estomacal, restos de vísceras; requieren un paso previo de clean up o purificación. Para la realización de la CCD se usan soportes de vidrio (cromatoplasmas), aluminio o plástico (cromatofolios), es decir soportes inactivos. Sobre ellos se extiende una capa pareja⁵³.

El proceso de muestra debe aislarse de la matriz biológica antes de su determinación. El procedimiento está representado en diagrama de flujo ⁵³.



b) Cromatografía Líquida (HPLC)

La cromatografía líquida (HPLC), es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase estacionaria es sílica que se ha tratado con RMe_2SiCl .

La fase móvil actúa de portador de la muestra. La muestra en solución es inyectada en la fase móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra. La utilización de los diferentes detectores dependerá de la naturaleza de los compuestos a determinar⁵⁴.

Es un método de separación analítica que se lleva a cabo gracias a la afinidad que tiene un compuesto (analítico) por una fase fija o estacionaria, o por una fase móvil.

Fenómenos por los cuales ocurre una separación en HPLC:

1. Adsorción. Fenómeno de superficie que ocurre por la interacción física o química de un adsorbente de un adsorbato.
2. Partición. Es el fenómeno de reparto de un soluto en 2 fases distintas.
3. Intercambio iónico. Es un fenómeno generado por la interacción electrostática entre moléculas cargadas eléctricamente.
4. Exclusión. Es un fenómeno físico que consiste en separar moléculas en base a su tamaño molecular.

5. Afinidad. Se combina la alta especificidad de ciertas moléculas por un sustrato, tales como enzimas, receptores, etc.

Esta técnica está indicada para la separación de compuestos orgánicos semivolátiles. Hidrocarburos Poli aromáticos (PAHs), Aminoácidos: OTA, Ácido Fólico, Herbicidas, Vitaminas, Acido tenuazonico, Formaldehído...etc.

Rango de trabajo para muestras líquidas: $\mu\text{g L}^{-1}$ - mg L^{-1}

Rango de trabajo para muestras sólidas: $\mu\text{g Kg}^{-1}$ - $\mu\text{g g}^{-1}$

El proceso es la siguiente llegar al punto donde es introducida la muestra. Siguiendo el flujo de presión la lleva a una columna donde se encuentra la fase estacionaria que se trata de un sólido o un líquido fijado en un sólido. Los componentes de la mezcla interaccionan de distinta forma con la fase estacionaria y con la fase móvil. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades y se van separando. Después de haber pasado los componentes por la fase estacionaria y haberse separado, pasan por un detector que genera una señal que puede depender de la concentración y del tipo del compuesto. En la siguiente figura 23 representa el proceso del método HPLC⁵⁴

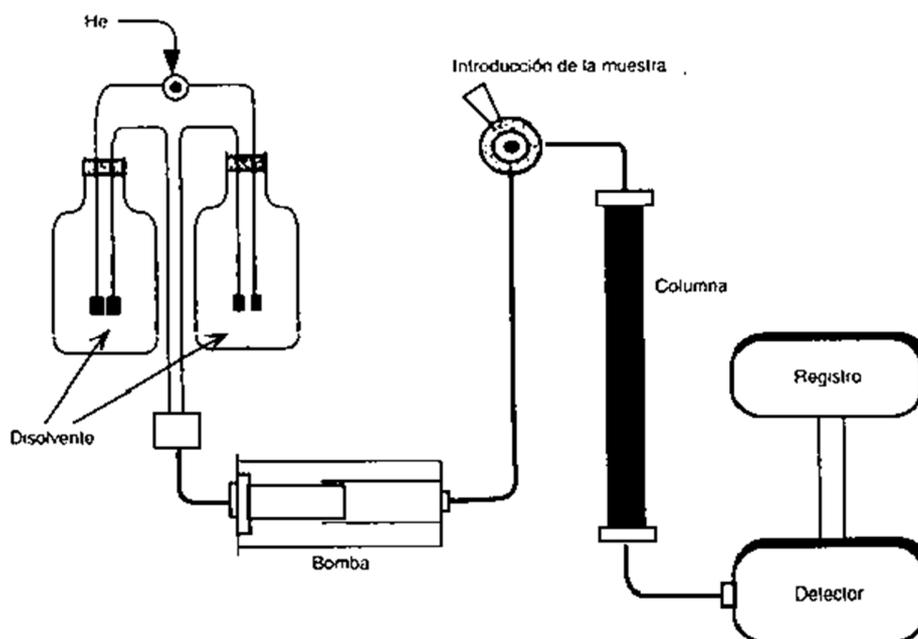


Figura 23. Proceso del método HPL.

Es una cromatografía líquida integrada, diseñada para ofrecer sencillez de uso, rendimiento y fiabilidad. Se adapta especialmente bien al análisis farmacéutico por su capacidad para obtener tiempos de retención y áreas de pico sumamente precisos, así como bajos límites de detección de los compuestos analizados. Los datos que se presentan en esta nota de aplicación ponen de manifiesto ⁵³.

Ventajas: La más importante es la diversidad de sus aplicaciones, tanto en compuestos orgánicos como inorgánicos⁵³.

- Ampliamente utilizada en los laboratorios
- Posee alta sensibilidad
- Fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas
- Aplicabilidad a sustancias de interés general (industria, salud y medioambiente)

- Determinación de compuestos no volátiles (alto peso molecular, iones metálicos)
- Excelente precisión del tiempo de retención, inferior al 0.07 % de **RSD**
- Excelente precisión del área de pico, inferior al 1.0% de **RSD** para picos separados a nivel de la línea base
- Excelente linealidad con un coeficiente de correlación mayor a 0.9999
- Límite de detección (**LOD**) 13 – 298 pg para todos los compuestos analizados.
- El tiempo de análisis y de equilibrio se pudo limitar a 10 min.
- Los límites de detección fueron entre 13 y 298 pg.
- Los resultados mostraron una linealidad excelente a lo largo de todo el rango de concentración.
- Comprobada y el coeficiente de correlación estuvo entre 0.999910 y 0.999975⁵³.

Desventajas:

- Elevado costo de operación
- Instrumentación costosa; figura 24
- Requiere de un alta experiencia y conocimiento para su funcionamiento

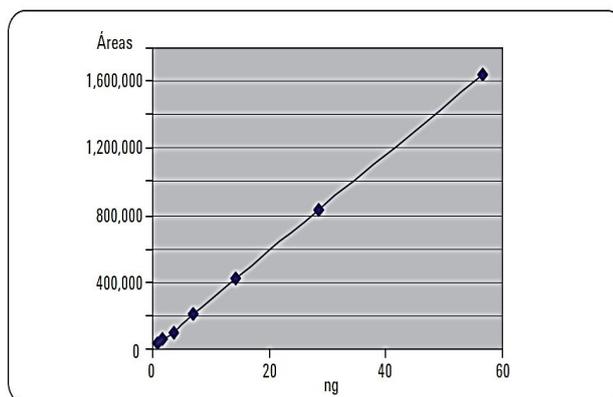


Figura 24. Partes del equipo de HPL, linealidad para paracetamol de 0.886 a 56.7ng por inyección de 3 M

4.3. EPIDEMIOLOGÍA

Los datos recientes indican que la sobredosis de paracetamol es la principal causa de falla hepática aguda en adultos en Estados Unidos. En adultos, el paracetamol está involucrado en el 50% de los casos de falla hepática aguda y, en niños, en el 13% de los casos ⁵⁶⁻⁵⁷.

Un trabajo previo realizado en el Servicio de Urgencias Pediátricas del Hospital General «Dr. Gaudencio González Garza» del Centro Médico Nacional «La Raza» (HGCMN «La Raza») de 1993 a 1998, reportó 2,067 intoxicaciones. En cuanto a medicamentos fueron más frecuentes las benzodicepinas, la carbamacepina y el paracetamol. El mecanismo de exposición, de tipo accidental (54%); respecto a los niños, la primera causa de intoxicación fue la inhalación de gases tóxicos (41.8%), seguido por la ingestión de medicamentos (18.3%). La intoxicación por medicamento es el método más empleado en los intentos suicidas (46%), predominando a partir de los 10 años⁵⁹. En México en el Hospital infantil de México Federico Gómez se tiene registro de intento de suicidio ocurrido entre 1998 y 2005 en pacientes 9 a 16 años de edad, el agente casual más frecuente fue la ingesta de medicamentos entre ellos está el paracetamol (Figura 25) ^{58,59}.

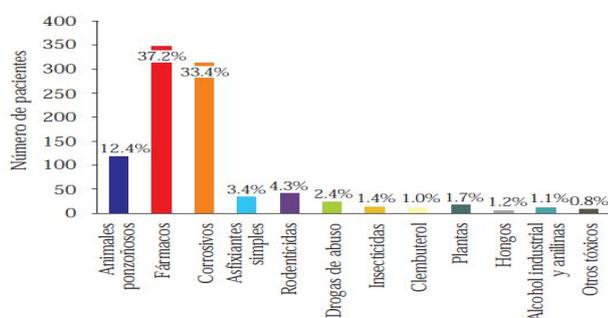


Figura 25. Distribución por grupo de xenobioticos involucrados en las intoxicaciones de los 933 pacientes atendidos en el Servicio de Urgencia pediatría de **HGCMN** "la Raza", 2005-2012

5. RESULTADOS

Tanto para el diagnóstico analítico, como para el control de la evolución terapéutica de un enfermo intoxicado, las muestras biológicas son: contenido gástrico, sangre y orina.

Los medicamentos deben aislarse de la matriz biológica antes de su determinación. Los tres procedimientos de uso más común son: intercambio de iones, adsorción y extracción líquido-líquido, constituyendo esta última, la forma tradicional de separación de medicamentos. El pH se ajusta para que el medicamento no se ionice y se usa un solvente no polar en una proporción solvente/muestra adecuado; entre los más comúnmente usados se encuentran el éter etílico y el cloroformo.

Se realiza una tabla de comparación de los diferentes métodos encontrados en la realización de la revisión bibliográfica (**Tabla 8 y 9**)

MÉTODOS CUALITATIVAS	MUESTRA	RESULTADO
Reacción de Orto-Cresol	Orina hidrolizada, suero o plasma	Azul-oscuro
Reacción Cloruro férrico	Orina, contenido estomacal o residuos de la escena	Azul violeta
Reacción Folin-Ciocalteu	Orina, contenido estomacal o residuos de la escena	Azul
Reacción de Liebermann	Orina, contenido estomacal o residuos de la escena	Violeta
Reacción de Nessler	Orina, contenido estomacal o residuos de la escena	Marrón fugaz

Tabla 8. Métodos Cualitativos para determinación de paracetamol

DETERMINACIÓN DE PARACETAMOL EN CASO DE INTOXICACIÓN

MÉTODOS CUANTITATIVOS	SE BASA EN	MUESTRA	CARACTERÍSTICA
a. ESPECTROFOTOMETRÍA UV Y VISIBLE			
MÉTODO DEL SULFAMATO DE AMONIO	Espectrofotometría visible a 450nm Límite de sensibilidad es de concentraciones de 50 - 100 mg/l	Suero o plasma	<ul style="list-style-type: none"> ➤ La concentración de paracetamol en el plasma se determina por comparación con las soluciones patrones ➤ solo es útil de 2- 24 hrs después de ingesta
REACCIÓN CON 2,4,6-TRIS (2-PIRIDIL) S-TRIAZINA (TPTZ)	Sensibilidad de 15 µg/ml Espectrofotometría a 593 nm	Plasma (anticoagulante: EDTA) o suero.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Evitar utilizar heparina ➤ Conservar a 4° C cuando no se realice el análisis en forma inmediata.
b. EIA: INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO			
METODO INMUNOANALISIS	Se basa en la competición entre un medicamento marcado con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y el medicamento de la muestra de suero por una cantidad fija de lugares de unión de anticuerpos específicos del medicamento Espectrofotometría a 340nm	Suero o plasma	<ul style="list-style-type: none"> ➤ fenómeno crea una relación directa entre la concentración de medicamento de la muestra y la actividad enzimática ➤ El análisis está diseñado para realizarse solamente con suero o plasma humanos, pero no con sangre entera ➤ Las muestras de pacientes con concentraciones de paracetamol de más de 200 µg/mL deben diluirse con el calibrador negativo y volverse a analizar. La concentración correcta de paracetamol se obtiene multiplicando el resultado del análisis por el factor de dilución.
COLORIMETRÍA ENZIMÁTICA	Se basa en la rotura enzimática del enlace amido de la molécula de paracetamol mediante la acción de la enzima aril acilamidasa, y se obtiene p-aminofenol y acetato. <3 µg/ml Espectrofotometría a 615 nm basa en la hidrólisis del paracetamol para formar p-aminofenol, el cual sufre una reacción de acoplamiento y oxidación en medio básica con ácido salicílico e hipoclorito de sodio para dar lugar a un compuesto quinona-imina de color azul	Orina	<ul style="list-style-type: none"> ➤ El método proporciona un intervalo lineal de trabajo de 8.0-100.0 mg L⁻¹ con un límite de detección (LOD) de 2.6 mg L⁻¹ y una precisión (expresada como desviación estándar relativa) menor al 5.0% en todos los casos ➤ Los sistemas de flujo su principal característica de estos sistemas es la posibilidad de implementar varias reacciones en línea, lo que ayuda a incrementar la sensibilidad y selectividad. ➤ Da color azul ➤ Puede ser útil en las primeras hrs ➤ Una elevada sensibilidad 8-10, lo que podría descartar la ingesta del fármaco sin realizar analítica. ➤ Se pueden beneficiar claramente niños con ingesta dudosa y adolescentes con intoxicación con fin suicida
INMUNOENSAYO DE POLARIZACIÓN DE FLUORESCENCIA (FPIA)	La sensibilidad es de 1 mg/L	Orina	<ul style="list-style-type: none"> ➤ El límite de detección del test es de 1 µg/mL ➤ Puede ser útil para descartar ingesta de paracetamol en las 24 hrs previas

DETERMINACIÓN DE PARACETAMOL EN CASO DE INTOXICACIÓN

MÉTODO DE INDOFENOL	Se basa en el uso de una amidasa específica. La enzima rompe la molécula de paracetamol, produciendo <i>p</i> -aminofenol, el cual reacciona específicamente con <i>o</i> -cresol 20 -30 µg/ml Espectrofotometría a 600nm	Plasma (bilirrubina)	<ul style="list-style-type: none"> la bilirrubina produce interferencia negativa en el método de medida del paracetamol con indofenol acoplado a Dimension® EXLTM pacientes con hiperbilirrubinemia (generalmente con bilirrubinas mayores a 10 - 15 mg/dl) se pueden obtener resultados falsos positivos en las pruebas que miden los niveles séricos de acetaminofén
c. CROMATOGRAFÍA			
CROMATOGRAFÍA EN PLACA DELGADA	El proceso de la muestra biológica es por extracción de líquido-líquido Sensibilidad de 30-300 µg/ml Pico de absorción máx. a 245 nm y en solución alcalina 257 nm	Plasma, orina, contenido estomacal	<ul style="list-style-type: none"> La interpretación de resultados puede ser difícil, sobre todo si están presentes varias drogas y/o metabolitos Es diseñada para ofrecer sencillez de uso, rendimiento y fiabilidad El tiempo de análisis y de equilibrio se pudo limitar a 10 min.
CROMATOGRAFÍA A LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)	Se basa por fenómeno de separación de partición	Suero y orina	<ul style="list-style-type: none"> Se utilizada para separar los componentes de una mezcla. Posee alta sensibilidad Fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas Equipo de alto costo, y reparación

Tabla 9. Cuadro de métodos analíticos para la determinación de paracetamol en caso de intoxicación

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El paracetamol es un medicamento que se tiene una amplia experiencia de uso, siendo utilizado con frecuencia tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios, tiene un índice terapéutico muy ajustado. Esto significa que el máximo de la dosis normal (4 g al día en adultos) es cercano a la sobredosis.

El reconocimiento temprano de la toxicidad por paracetamol es esencial para disminuir la morbimortalidad de estos pacientes; sin embargo, este reconocimiento puede ser difícil debido a que los hallazgos tempranos en este tipo de intoxicación no son específicos. Por tanto, la primera herramienta diagnóstica en urgencias debe ser elaborar una buena encuesta, para que de la información obtenida se pueda sospechar la causa; también es importante conocer los antecedentes del paciente.

En casos de ingestas dudosas o de difícil confirmación, por el estado clínico (coma) o edad del paciente (menores de 2 años), que se ha demostrado fiable la posibilidad de realizar pruebas de determinación cualitativa de paracetamol en orina, que permitan confirmar o descartar su presencia con el fin de evitar extracciones.

El Nomograma de Rumack es citado para iniciar el tratamiento con N-acetilcisteína, pero tiene varias limitaciones de uso, entre las que destaca la imposibilidad de utilizarlo cuando se desconoce el tiempo transcurrido desde la ingesta de paracetamol o si ésta ha sido fraccionada.

De los métodos antes descritos se proponen de la mayor a menor de acuerdo a costo para los sectores de salud como las más adecuadas en caso de intoxicación de paracetamol.

En método cuantitativo encontradas son las siguientes tabla 10:

MÉTODOS	EFICACIA	COSTO Y ADQUISICION DE EQUIPO Y REACTIVO
CROMATOGRAFIA HPLC	excelente	Costo elevado por el equipo y mantenimiento
ESPECTROSCOPIA	excelente	Son los más usados por el sector salud, el equipo y los reactivos lo pueden adquirir el sector salud.
ENZIMAS INMUNOANALISIS	Son por medio de kits	Prácticos, puede ser elevado el costo
CUALITATIVOS	Falsos positivos	Menor costo y practico

Tabla 10. Métodos cuantitativos en eficacia, costo y adquisición de equipo.

7. CONCLUSIÓN

De acuerdo a la investigación y discusión, se concluye lo siguiente:

- La identificación de paracetamol se realizan por métodos muy diversos que incluye métodos cuantitativos y cualitativos, estas técnicas son rápidas, y sencillas. Se llevan a cabo en tubos con sangre. En los métodos cuantitativos hay muchas técnicas para determinar las concentraciones séricas de paracetamol, entre ellas la espectrometría UV, Inmunoensayos y Cromatografía.
- La realización de revisar bibliográficas sobre la intoxicación con paracetamol, se considera un analgésico seguro y eficaz. Los principales signos de intoxicación son: malestar general, palidez, nauseas, vómito, diaforesis, en la prolongación ictericia, manifestación del mal funcionamiento del hígado.
- Las características de cada método encontrado en la bibliografía revisada de 10 años se estableció en una tabla10
- Se describieron cada uno de los métodos encontrados por medio de diagrama de flujo

8. PROPUESTA

Esta tesina proporciona un criterio de certeza para el diagnóstico de las intoxicaciones de mayor importancia por medio de técnicas analíticas para la identificación del paracetamol en caso de intoxicación y permitir elevar la calidad de la atención especializada al paciente intoxicado, disminuyendo la morbilidad y mortalidad por intoxicación con paracetamol. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que más de la mitad de los medicamentos se prescriben, dispensan o venden de forma inapropiada, y que la mitad de los pacientes no los toman correctamente. Este uso incorrecto, que puede adoptar la forma de un uso excesivo, insuficiente o indebido, se da tanto con los medicamentos de venta bajo receta como con los de venta libre (OMS, 2010)^{60, 61}.

En México se ha creado el sistema PrevenIMSS (2002) o el convenio firmado en 2006 entre la Asociación de Fabricantes de Medicamentos de Libre Acceso (**AFAMELA**) y la Comisión Federal para la Prevención contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) de la Secretaría de Salud, que llevará a producir etiquetas que ayuden a la persona a automedicarse responsablemente. En el marco de estos esfuerzos, el Centro de Estudios Avanzados de Diseño (CEAD)⁶².

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz-García Ángela, Andrade Raúl J. **Paracetamol e hígado**. REV ESP ENFERM DIG. Madrid. 2011. Vol. 103. N.º 5: 276.
2. Van den Bulck J, Leemans L y Laekeman GM. **Television and Adolescent Use of Over-the-Counter Analgesic Agents**. Annals of Pharmacotherapy. Ene 2005, 39(1):58-62
3. Bravo Victoria, Román Matías, BettiniMarli, Cerda Patricia, Mieres Juan José, Paris Enrique. **Caracterización de la ingestión por sobredosis de paracetamol**. Reporte de un centro de información toxicológica chileno, Rev. Med. Chile 2012: 40,313-318.
4. Goodma y Gilman. **Las bases farmacológicas de la Terapéutica** 12ª edición, Editorial Mc Graw Hill. México. 2011.: 959,982-984
5. Cuadro básico y catálogo de medicamentos. Comisión Interinstitucional del Cuadro Básico de Insumos del Sector Salud. México. Edición 2014, México: 8
6. Daly F, Fountain J, Murray L, Graudins A, Buckley N. **Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and New Zealand – explanation and elaboration**. Med J Aust. 2008: 188,296- 301

7. Fernández Pedro Lorenzo. **Farmacología Básica y Clínica**. 18° Edición. Ed. Médica Panamericana. México. 2009:397

8. Golan David E., Tashjian Armen H., Armstron Ehrin J., Armstron a. Prilw. **Principio de Farmacología**. 3A edición, Editorial Wolters flower. España 2012: 65,756

9. Navarro VJ, Senior JR. **Drug-related hepatotoxicity**. N Engl J Med. 2006; 354: 731-9.

10. Tejada Cifuentes Francisco. **Hepatoxicidad por fármaco**. Rev Clín Med Fam. 2010 3 (3): 177-191

11. Heard K. **Acetylcysteine for aceta-minophen poisoning**. N Engl J Med. 2008; 359:285-92.

12. Mancipe Liliana, Fernández A Diana, Fernández A. Daniel G. **Intoxicación por acetaminofén**. 2010. rev. fac. med. 18 (2): 221-227

13. Flomenbaum, N. E.; Howland, M. A.; Goldfrank, L. R.; Lewin, N. A.; Hoffman, R. S. & Nelson, L. S. Lange, A. & Goldfrank's. **Toxicologic emergencies**. Octava edición. Mc Graw-Hill. 2006.

14. Peña Lina, Parra Sergio. Rodríguez Carlos A, Zuluaga Andrés F, **Guía para el manejo del paciente intoxicado**, 4ª. edición Impreso en Medellín, Colombia, 2009: 11,138-141
15. Cardoso Patricia, Curbelo Julieta, Palazzesi Ana, Álvarez Guadalupe, Cargne Elda. **Comprensibilidad de un prospecto de medicamento de venta libre**. Rev Argent Salud Pública, 2012; 3(13):30-35
16. Brenerab Pablo, Ballaroda Mónica, Marianía Gonzalo y Ceriani Cernadasa,b José M. **Error de medicación en un prematuro de extremo bajo peso: sobredosis de paracetamol**. Arch Argent Pediatr 2013;111(1):53-56
17. Roldán Tania, López A. **Intoxicación por acetaminofén en pediatría: aproximación y manejo**. Univ. Méd. Bogotá (Colombia), enero-marzo, 2012, 53 (1): 56-67
18. Polson J, Wians FH, Orsulak P, Fuller D, Murray NG, Koff JM, et al. **False positive acetaminophen concentrations in patients with liver injury**. Clin Chim Acta. 2008; 391:24-30.
19. Munné P, Saenz Bañuelos J.J., Izura J.J., Burillo-Putze G., Nogué S. **Intoxicaciones medicamentosas. analgésicos y anticonvulsivantes**. _anales Sis. San Navarra 2003; 26 (Supl.1): 65-97.

20. Mintegui-Raso S, Fernández BJ, Vázquez-Ronco MA, Fernández-Landaluce A, Gortázar-Arias P, Grau-Bolado G. **Manual de intoxicación en pediatría** 3ª edición. An Esp. Pediatr. 2012; 56: 23-29.
21. Quintana, A. y Montgomery, W. **Metodología de Investigación. Científica Cualitativa. Psicología: Tópicos de actualidad.** (Eds.) (2006) Lima:47-84
22. Morán Chorro Indalecio, Martínez de Irujo Jaume Baldirà, Marruecos, Luís - Nogué Xarau SantSantiago. **Toxicología clínica**, Editorial Difusión Jurídica y Temas de Actualidad S.A., Madrid, 2011: 159-166
23. **Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol.** Centro de Información Toxicológica de Veracruz. <http://web.ssaver.gob.mx/citver/>
24. Cooper GA, Paterson S, Osselton MD. **The United Kingdom and Ireland Association of Forensic Toxicologists.** Forensic toxicology laboratory guidelines (2010). Sci Justice. 2010; 50:166 - 76.
25. Silva-Romo R, Wilkins-Gámiz A, Rodríguez-Pimentel L, Olvera-Santamaría R. **Panorama epidemiológico de las intoxicaciones en México.** Med Int de Mex 2005; 2: 123- 132.

26. Casarett and Doull. **The Basic Science of Poisons**: by Curtis D. Klaassen. McGraw-Hill Professional. 7th edition. 2008: 202-205
27. Rodríguez A, Rodríguez O, Riera R, Rodríguez E, Del Pozo C, Torres JA, *et al.* **Manual de toxicología clínica**. Santiago de Cuba. Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas (CPICMSC); 2004: 64-8.
28. Vinson J, Zubik L, Bose P, Samman N, Proch J (01 de Feb de 2005). **Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants**». *J Am Coll Nutr* **24** (1): 44–50. PMID 15670984. Archivado desde el original el 5 de noviembre de 2015.
29. Ruengsitagoon, W., Liawruangrath, S., Townshend, A., **Flow injection chemiluminescence determination of paracetamol**, *Talanta*. 2006: 69, 976-983.
30. Goyal, R.N., Gupta, V.K., Chatterjee, S., **Voltammetric biosensors for the determination of paracetamol at carbon nanotube modified pyrolytic graphite electrode**, *Sensors and Actuators B*. 2010. 149: 252-258
31. Baranowska, I., Koper, M., **The preliminary studies of electrochemical behavior of paracetamol and its metabolites on glassy carbon electrode by voltammetric methods**, *Electroanalysis*. 2009: 21,1194-1199

32. Castanyer-Puiga Bartomeu, Barceló-Martína Bernardí, Puiguriguer-ferrandob Jordi, rovira-illamolac marina, soy-munerc dolors y nogué-xarau santiago. **Interés clínico de la semivida de eliminación del paracetamol como complemento al nomograma de Rumack en la valoración de la intoxicación por paracetamol.** *Med Clin (Barc)*. 2007;129(13):501-3
33. Alonso Villan E, Martín Jiménez L, Menéndez Suso JJ, García García S. **Intoxicaciones en: manual de Diagnóstico y terapéutica en pediatría.** 5ª edición. Publimed. España.2009.
34. Kurtovic J, Riordan SM. **Paracetamol-induced hepatotoxicity at recommended dosage.** *J Intern Med*. 2003; 253:240-3.
35. Rodríguez José A., Castro Humberto, Galán Vidal Carlos A., Páez Hernández Ma. Elena, Rojas Hernández Alberto. **Determinación de paracetamol mediante análisis por inyección en flujo con detección espectrofotométrica** *Ciencia Universitaria*. No. 2. 2011: 4-11
36. Fiorenza Biancucci Gabriela, González Diana, Pérez Adriana, Ridolfi Adriana, Strobl Analía. **Manual de procedimientos analíticos toxicológicos para laboratorios de baja complejidad.** Argentina: Asociación Toxicológica Argentina (ATA) y de la Red Argentina de Toxicología (REDARTOX); 2007: 154 – 157.

37. Jordi Puiguriquer Ferrando, Bernadí Barceló Martín, Tomeu Castanyerpuig, Santiago Nogué Xarau. **Valoración del riesgo de hepatotoxicidad en la intoxicación aguda por paracetamol cuando no es posible aplicar el nomograma de rumack.** Emerg 210; 22(5): 365-368
38. Ingram DM, Bosse GM, Womack EP, Jortani SA. **Evaluation of a urine screen for acetaminophen.** Med Toxic J. 2008; 4:96-100.
39. Morell Garcia Daniel, Gonzalez Calvar Amelia, Quesada Redondo Loreto, Martinez Sanchez Lidia, Barcelo Martin Bernardino, Castanyer i Puig Tomeu. **Estudio piloto sobre la utilidad de la determinación de paracetamol urinario en la sospecha de intoxicación del paciente pediátrico.** Emergencias 2015;27:169-173
40. MacDaniel J, Bebartá VS, Schwertner HA, Martin JF. **Comparison of urine and serum testing for early detection of acetaminophen ingestion.** Mil Med. 2007; 172:399-401.
41. Davern TJ, Timothy J, James LP, Hinson JA, Larson AM, Fontana RJ, Lalani E, Munoz S 2nd, *et al.* **Measurement of serum acetaminophen-protein adducts in patients with acute liver failure.** Gastroenterology. 2006; 130:687-94.

42. Martínez Sánchez Lidia, Quintillá Martínez José M., Molina Hermoso Esther, Castanyer I Puig Tomeu, Barceló Martín Bernardí, Valls Lafon Anna, Luaces Cubells Carles y Grupo de trabajo de intoxicaciones de la sociedad española de urgencias de pediatría. **Estudio preliminar sobre la utilidad de la detección de paracetamol en orina para descartar su ingesta en pacientes pediátricos**. Emergencias 2012; 24: 372-375
43. Dart RC, Erdman AR, Olson KR, Christianson G, Manoguerra AS, Caravati EM, Wax PM, *et al.* **Acetaminophen poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management**. Clin Toxicol (Phila). 2006. 44:1-18.
44. González, M., Vicuña, N., Naranjo, R., Mora, J., Márquez, J., García, G. **Efectos de la desnutrición aguda sobre el metabolismo del acetaminofén**. revista de la facultad de farmacia Vol. 44, 2002:7-13
45. Ortiz-Pereda Vicente, López Maite, Arroita Agustín, Aguilera Luciano, Azkue Jon, Torre-Mollinedo F., Isla-Baranda A. **Antiinflamatorios no esteroideos y paracetamol en el tratamiento del dolor**. GAC MED BILBAO. 2007; 104: 148-155
46. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, Reish JS, *et al.* **Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multi-center, prospective study**. Hepatology. 2005; 42:1364-72.

47. **Urgencia en pediatría Hospital infantil de México**. Editorial Mc Graw Hill, 6ª edición, México, 2011: 25
48. Barceló B. Castanyer B y J. Puiguriguer. **Intoxicación aguda por Paracetamol**. JANO. 6-12 octubre 2006. N.º 1:622:40-43
49. Rowden AK, Norvell J, Eldridge DL, Kirk MA. **Acetaminophen poisoning**. Clin Lab Med. 2006; 26:49-65.
50. Zenger F, Russmann S, Junker E, Wüthrich C, Bui MH, Lauterburg BH *et al.* **Decreased glutathione in patients with anorexia nervosa. Risk factor for toxic liver injury** *Eur J Clin Nutr.* 2004; 58:238-43.
51. Gratzfeld-Huesgen Angelika, Hoerth Patrik y Thielsch Daniel. **Desarrollo y validación de un método para la determinación simultánea de paracetamol, diclofenaco e ibuprofeno usando el LC Agilent 1120 Compact**. 2007 Agilent Technologies Inc.
52. Martín Calderón José Luis, Bustos Guadaño Fernando, Varona Pérez Julia y Sánchez Gómez Juan Carlos. **Interferencia de la bilirrubina en la medición del paracetamol**. Rev Lab Clin. 2013;6(4):168-171
53. Katzung Bertram G., Baster Susan, Trevor J. Antony. **Farmacología Básica y Clínica**. 11ª edición, Editorial Mc Graw Hill. México. 2009: 1020

54. Fong BM, Siu TS, Tam S. **Persistently increased acetaminophen concentrations in a patient with acute liver failure.** Clin Chem. 2011; 57:9-11.
55. Howard RL, Avery AJ, Slavenburg S, Royal S, Pipe G, Lucassen P, *et al.* **Which drugs cause preventable admissions to hospital? A systematic review.** Br J Clin Pharmacol 2007;63:136-147
56. Álvarez Guadalupe, palazzesi Ana, Cargnel, Elda, Cardoso patricia, Curbelo Julieta, **Problema en la comprensión de los prospectos de los medicamentos de venta libre. El caso del paracetamol en Argentina,** Onomázein, vol. 1, num. 29, junio, 2014: 15-30
57. González de Cossío María, **Nuevas etiquetas de medicamentos para apoyar la automedicación en México.** El caso de un analgésico pediátrico salud pública de México / vol. 50, suplemento 4 de 2008: 5453-5462
58. Escobar Paula Andrea, Quevara Martha Lucia. **¿Consumes productos que contienen acetaminofen como principio activo..?**, boletín Farmacovigilancia 15-julio de 2011 vol. 2 no.2 edt comité de Farmacovigilancia –sies salud: 2
59. Doubova (Dubova) SV, Mino-León D, Torres-Arreola LP, Romero-Quechol G. **Conocimiento básico de los riesgos del uso de analgésicos no opioides en pacientes ambulatorios.** Salud Pública Mex 2007; 49: 429-436.

60. Franciscus Alan y Highleyman Liz. **El Paracetamol y el hígado**. hoja informática
Hepatitis C Support Project HCSP • VERSIÓN 4.2 (SP) • Abril de 2014:1-4

61. Fernández-Castañer A, García-Cortés M, Lucena MI, Borraz Y, Peláez G, Costa J, Anzola S, Salmerón J, Ávila S, Durán JA, Malcón de Dios A, Romero-Gómez M, Madrazo A, Muñoz-Yagüe T, Andrade RJ. **Análisis de las causas, características y consecuencias de la reexposición al fármaco o compuesto responsable de un episodio de hepatotoxicidad**. Rev Esp Enferm Dig 2008; 100: 278-284

62. **Acetaminophen Advisory Committee Meeting** McNeil Consumer Healthcare.
Briefing Materials for June 29-30, 2009