

NUEVO METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE DETERMINACION DE HALOTANO EN SANGRE*

J. H. Ortega B. ** y R. Blanco S. **

Key Word Index: Fujiwara reaction for halothane, halothane blood levels, new method for blood halothane.

Resumen

Se propone un nuevo método, basado en la reacción de Fujiwara, mediante el cual el Halotano (2-bromo-2-cloro-1,1, 1-trifluoroetano) se convierte en un compuesto de estructura desconocida que absorbe a 366 nm, por reacción con piridina en medio alcalino. El método permite la determinación de cantidades de Halotano en sangre superiores a 50 mg/l con precisión. El procedimiento es adecuado para muestras de morgue o en aquellos casos en los que no se requiera un resultado con prontitud. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1983; 4(Sup. 1):5—8].

La cuantificación de anestésicos en casos de muerte durante intervenciones quirúrgicas es de mucha importancia forense. Recientemente ha sido objeto de amplia discusión (2, 5), luego de la aprobación de leyes que regulan la muerte cerebral en varios países. La determinación de sobredosis de los anestésicos es parte muy importante en la investigación forense de la causa de muerte (4). Las estadísticas muestran que entre el 80 a 90 por ciento de las muertes ocurridas durante la anestesia quirúrgica son secundarias al error humano y pudieron haber sido evitadas (1).

En nuestro país se han presentado recientemente varias muertes con una frecuencia inusitada, en las que se utilizó el Halotano como anestésico. Esta situación ha hecho que la Corte Suprema de Justicia considerara de importancia médico-legal la investigación de estas muertes.

El análisis cuantitativo del Halotano es fácilmente realizable por cromatografía de gases, utilizando detectores de ionización de llama (8), o de captura electrónica (3). Sin embargo, este tipo de equipo, así como los solventes ultrapuros necesarios, no se encuentran en todos los laboratorios, lo que hace importante el desarrollo de un método de análisis sencillo, sensible y asequible a cualquier laboratorio.

La reacción de Fujiwara (6) se ha utilizado en el análisis de muchos hidrocarburos halogenados, pero no ha sido reportado su uso en la determinación espectrofotométrica de Halotano (7, 9). Posiblemente porque la reacción ocurre muy lentamente en el caso del Halotano, y los métodos cromatográficos son muchísimo más rápidos y muy sensibles.

Se ha hecho uso de la reacción de Fujiwara para desarrollar un nuevo método que permite la determinación de Halotano en el ámbito de concentraciones de interés toxicológico.

* Presentado en el IV Congreso Nacional de Microbiología, Parasitología y Patología Clínica, 29 Nov. – 1º Dic. 1982. San José, Costa Rica.

** Sección de Investigaciones Toxicológicas del Organismo de Investigación Judicial, Corte Suprema de Justicia, San José, Costa Rica.

Reactivos

Todos los reactivos fueron de grado analítico, y las disoluciones fueron purgadas con un flujo de nitrógeno, durante 10 minutos. La piridina fue destilada a presión reducida en ausencia de oxígeno. El Halotano utilizado fue de la casa ICI, "Fluotane"®. Todos los patrones se montaron utilizando sangre total. El Heptano no recibió ningún tratamiento especial.

Método

1. Un ml de sangre total se extrae dos veces con porciones de 2,5 ml de Heptano.
2. Dos ml de la fase alifática se colocan en un tubo de ensayo de cierre hermético, junto con 4 ml de piridina y 2 ml de NaOH al 20 por ciento. Todos los volúmenes se miden con pipetas.
3. La mezcla se calienta por quince minutos en un baño de María, con agitación constante.
4. El tubo de reacción se coloca en la obscuridad durante 48 horas, con agitación periódica.
5. La fase intermedia, de piridina, se lee a 366 nm en menos de un minuto. La lectura se hace contra un blanco de reactivos.
6. El cálculo de la concentración se hace utilizando un E 1 por ciento, 1 cm de 720 ± 8 .

Resultados y Discusión

La dosis letal de Halotano en sangre ha sido objeto de discusión por parte de varios autores. Stolman y Steward consideran que concentraciones superiores a 280 mg/l producen el paro respiratorio y la muerte (10). Winek considera que niveles de 200 mg/l son ya letales (11). Estos niveles son bastante cercanos a los utilizados en la anestesia quirúrgica profunda (10), lo que hace necesaria una alta precisión en el método de análisis para discriminar entre dosis terapéuticas y sobredosificaciones.

El método presentado aquí permite la discriminación entre niveles de Halotano muy cercanos. Bajo las condiciones reseñadas antes, es posible determinar concentraciones de Halotano en la fase de piridina entre 3,0 y 9,0 mg/l, correspondientes a concentraciones en sangre en el ámbito de 50 a 300 mg/l, con una precisión del 5 por ciento. El coeficiente de variación entre determinaciones de una misma muestra es del 2 por ciento. La exactitud del método se evaluó comparando los resultados con los obtenidos utilizando cromatografía de gases, con detector de ionización de llama. Se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,98, presentándose una ligera desviación a concentraciones bajas, menores de 6,0 mg/l. El ámbito de aplicación del método puede ampliarse modificando la cantidad de muestra, pero esto no es de interés toxicológico, ya que las condiciones dadas aquí son suficientes para obtener resultados con precisión y exactitud.

ABSTRACT

A new method, based on the Fujiwara reaction, is proposed for halothane blood level determination. Halothane (2-bromo-2-chloro-1,1,1-trifluoroethane) is converted into a compound of unknown chemical structure, which absorbs light at 366 nm, reacting with pyridine at alkaline pH. This method permits detection of halothane in blood, accurately, in quantities over 50 mg/l. The procedure is adequate for autopsy samples, or in cases in which it is possible to wait several days for the result.

Bibliografía

1. Cooper. J. B., Newbower, R. S., Long, C D., McPeck, B. Preventable anesthesia mishaps: A study of human factors. *Anesthesiology*, 1978:49:399—406.
2. Epstein. R. M. Morbidity and mortality from anesthesia: A continuing problem. *Anesthesiology*. 1978:49:388—389.
3. Goldbaum, L. R., Domanski, T. J., Schoegel. E. L. Gas chromatography determination of Halothane. *J. Forensic Sci.* 1964; 9:63—67.
4. Harrison. G. G. A classification for deaths associated with anaesthesia and an evaluation of autopsy in their assessments. *J. Forensic Sci.* 1968: 15 :71 —84.
5. Harrison G. G. Death attributable to anaesthesia. *Brith. J. Anesthes.* 1978: 50:1041— 1046.
6. Maehly, A. C. Volatile toxic compounds, IN: *Progress in Chem. Toxic.* Stolman. A., ed. Academic Press. 1967: 3:68—82.
7. Moss, M. S., Rylance, H J. The Fujiwara reaction: Some observations on the mechanism. *Nature*. 1966; 210:945- 946.
8. Randall, B., Corbett, B. Fatal Halothane poisoning during anesthesia with other agents. *J. Forensic Sci.* 1982; 27:225—230.
9. Redford- Ellis, M. Kench J . E. A new spectrophotometric procedure for the microdetermination of Methyl Chloride. *Anal. Chem* 1960; 32:1803—1804.
10. Stolman, A., Stewart, C. P. *Toxicology*. Academic Press. New York. 1960; 1:40-41.
11. Winek, C. L. *Drug & Chemical Blood Level Data*. Cuadro distribuido por Fisher Scientific Company. Pittsburgh. 1980.