



**Rev Mex Med Forense, 2023, 8(1):124-144**  
**DOI: <https://doi.org/10.25009/revmedforense.v8i1.2988>**  
**ISSN: 2448-8011**

# **Guía de almacenaje temporal de indicios biológicos en el laboratorio forense**

## **Artículo de revisión**

Guidelines of temporary storage for biological evidence in the forensic laboratory

**Martinez-Quiroz Joel<sup>1</sup>**

Recibido: 1 feb 2022; aceptado: 22 feb 2022; Publicado: 15 ene 2023

1. Perito en Química y Toxicología Forenses. Dirección General de los Servicios Periciales - FGE-Veracruz. Doctor en Ciencias Químico-Biológicas
2. Corresponding author: Joel Martinez Quiroz, joemartinez@uv.mx

**Revista Mexicana de Medicina Forense y Ciencias de la Salud.**  
**Editorial Universidad Veracruzana**  
**Periodo enero-junio 2023**

## RESUMEN

*El almacenaje de indicios procedentes de una investigación forense requiere de medidas que eviten al máximo la alteración en su naturaleza e integridad, a fin de que puedan ser presentados ante el órgano jurisdiccional que emite sentencia respecto a un hecho considerado como delito. Particularmente con los indicios de tipo biológico reviste importancia primordial el almacenaje en condiciones que eviten el deterioro o desaparición tanto del material recolectado como de su contenido. Al respecto, no existe en nuestro país una guía o serie de lineamientos que garanticen la estabilidad y el correcto resguardo de la sangre, la orina u otros fluidos y tejidos biológicos, así como de las drogas de abuso incautadas. El presente trabajo reúne esta información relativa a los requerimientos medioambientales para almacenar indicios biológicos, a la clasificación que deben estar sometidos y a las modificaciones que experimentan cada uno de estos indicios, aunado a los cambios que pueden mostrar con el transcurrir del tiempo las sustancias químicas contenidos en los mismos.*

## SUMMARY

*The storage of scientific evidence from a forensic investigation requires rules that prevent as much as possible the alteration in nature and integrity, so that, where appropriate, they can be presented at the courtroom, and subsequently, issues a sentence regarding a fact considered as crime. With regard to biological items, storage under conditions that prevent the deterioration or disappearance of both the collected material and its content is of paramount importance. In this regard, nowadays there is no guide or series of guidelines in Mexico that guarantee the stability and proper protection of blood, urine or other biological fluids and tissues, as well as seized drugs of abuse. The present work gathers information related to the environmental requirements to store biological evidence, to the classification that these must keep and to the modifications that each one of this evidence undergoes, together with the changes that the chemical substances contained in the same.*

## INTRODUCCIÓN

La consolidación del sistema de justicia penal en nuestro país requiere de un cambio de paradigma en el trabajo forense, lo que obliga a sus expertos a efectuar nuevas políticas y procedimientos acordes con los estándares internacionales. Al respecto, desde el año 2016 se han implementado sistemas de gestión de calidad ISO 17025 e ISO 17020 en las áreas de laboratorio y de inspección pericial respectivamente.

El director de ICITAP-México (International Criminal Investigative Training Assistance Program) afirma que en el año 2021 se han acreditado 113 de un total de 425 laboratorios forenses en el país y 68 más están en vías de acreditación en dichas normas (1). El requisito 5.8 de la norma ISO 17025-2017 establece que el laboratorio debe tener procedimientos para el transporte, la recepción, la manipulación, la protección, el almacenamiento, la conservación o la disposición final de los ítems de ensayo (2), entendiéndose éstos como los indicios o evidencias derivados del hecho que se investiga. De lo anterior, resulta la creación de bodegas de indicios y evidencias que cumplan con el requisito de la norma y que a su vez los preserven por un lapso determinado, el cual se ha establecido como de un mes para los indicios en tránsito dentro del laboratorio y de tres hasta cuatro meses para los indicios biológicos procedentes de muestras corporales obtenidas de personas y cadáveres. Se hace necesario entonces, determinar las condiciones de medioambiente en los que se van a almacenar temporalmente los indicios biológicos; cumpliéndose así el requisito 5.3 de la norma (2). También es necesario conocer si en este lapso y condiciones, los indicios pudieran ver afectada su integridad o estabilidad química que promueva su deterioro o degradación. Por lo tanto, el presente trabajo se enfoca en establecer lineamientos de clasificación y almacenaje de los indicios biológicos obtenidos en la etapa de investigación, así como a explicar los cambios que experimentan con este tiempo de almacenaje tanto las matrices biológicas como los agentes químicos presentes en estas.

## ANTECEDENTES

### Tipos de almacenaje

Para efectos del control medioambiental, los tipos de almacenaje son los siguientes (3):

- Congelación. Cuando la temperatura se mantiene con termostato a  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  o por debajo de este valor
- Refrigeración. Cuando la temperatura se mantiene con termostato entre  $2\text{ y }8\text{ }^{\circ}\text{C}$  y con menos de 25% de humedad

- Temperatura controlada. Cuando la temperatura se mantiene con termostato entre 15.5 y 24 °C y con menos del 60% de humedad
- Temperatura ambiente. Cuando la temperatura es equivalente a la temperatura ambiente o sus alrededores y no hay control con termostato ni control de humedad

De acuerdo al Manual de Preservación de Evidencia Biológica (3), las condiciones de almacenaje temporal para los distintos tipos de indicios son las siguientes:

Tipo de indicio	Congelación	Refrigeración	Temperatura controlada	Temperatura ambiente
Sangre líquida	Nunca	El más recomendable	Sólo menos de 24 h	---
Orina	El más recomendable	Sólo menos de 24 h	---	---
Indicios con manchas secas de fluido biológico	---	---	El más recomendable	Aceptable
Indicios con manchas húmedas de fluido biológico	El más recomendable	Aceptable	Sólo menos de 24 h	---
Hueso	Aceptable	---	Aceptable	Aceptable
Cabello	---	---	El más recomendable	Aceptable
Hisopos con material biológico	---	El más recomendable si esta húmedo	El más recomendable si esta seco	---
Frotis	---	---	El más recomendable	---
Heces	El más recomendable	---	---	---
Hisopos bucales	---	---	El más recomendable	Sólo menos de 24 h

Tabla 1. Condiciones de almacenaje a corto plazo por tipo de indicio biológico

## Efectos del tiempo y del medioambiente en los indicios biológicos

Una matriz biológica se define como la masa de naturaleza biológica en la que algo esta contenido; entendiéndose a la sangre, orina o cualquier fluido o tejido como matriz y al analito como ese algo que se investiga y que esta presente en ella, sea un fármaco, droga de abuso o cualquier xenobiótico.

**SANGRE.** La sangre es la muestra de elección para la detección y cuantificación de las sustancias en individuos que se sospeche que conduzcan vehículos bajo la influencia de alcohol o drogas (4).

La inestabilidad de la sangre comienza desde la toma de la muestra y progresa con el almacenamiento de ésta fuera del cuerpo (5). Las propiedades bioquímicas y la estructura de los eritrocitos se alteran de acuerdo a la magnitud de la temperatura y el tiempo de almacenaje (6). Entre los cambios morfológicos que experimentan los eritrocitos durante el almacenaje a temperatura ambiente se tiene a la pérdida del disco bicóncavo, la formación de espinas equinocíticas y la aparición de microvesículas (7). El consumo de glucosa determina el agotamiento progresivo de adenosintrifosfato (ATP), lo que consecuentemente altera la homeostasis de los cationes e influye en la estabilidad de su membrana (5).

Los cambios químicos incluyen a la acumulación de ácido láctico, la pérdida de ion potasio y la ganancia de ion calcio, la pérdida del óxido nítrico asociada a la hemoglobina y disminución en la concentración de 2,3-fosfoglicerato. También aparece un daño oxidativo a proteínas, lípidos y carbohidratos (7).

A medida que transcurren las horas, se producen cambios en el hemograma, es decir, la prueba de rutina de laboratorio que evalúa el número, la morfología y los indicadores de glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas. Estos cambios se empiezan a reflejar a las 72 h de almacenamiento y a los 4°C de temperatura. El signo evidente de inestabilidad se da cuando la sangre experimenta hemólisis, es decir, la liberación del contenido de los eritrocitos al medio circundante debido a la rotura de la membrana celular. (8).

**ORINA.** La orina per se es estéril, aunque adquiere bacterias debido a su paso por la uretra y a la microbiota existente en la membrana mucosa de la vagina o del pene. A temperatura ambiente las bacterias se multiplican y pueden emplear a la glucosa de la orina como nutriente para generar productos metabólicos entre los que se distingue el etanol, la acetona y otros cuerpos cetónicos. Al cabo de dos horas, se descomponen los elementos formes como células epiteliales, eritrocitos y leucocitos (9).

Esta matriz biológica generalmente carece de proteínas del plasma, de lípidos u otro tipo de macromoléculas debido a que todas ellas se retienen en la filtración glomerular (10). Por lo tanto, no experimenta los cambios que suceden en la sangre; aunque suele observarse la aparición de un precipitado, signos de deterioro debido a hongos o bacterias al cabo de 10 o 15 días cuando se almacena a temperatura de refrigeración; cambios que son imperceptibles cuando la orina se almacena a -20°C (11). En lo que respecta a cambios en el pH, la orina experimenta un aumento en una magnitud de 0.2 unidades cuando ésta se almacenó a -20 °C o 4°C durante 15 días; mientras que el almacenaje a 20°C produjo un cambio hasta de 0.5 unidades de pH (11)

**MANCHAS SECAS.** Entre las ventajas inherentes al estudio de una mancha de fluido biológico están los requerimientos mínimos en su almacenaje, la reducción en los costos de su traslado, la relativa mejor estabilidad de los analitos presentes en la mancha comparados contra el fluido biológico per se (4, 12). Se ha determinado experimentalmente que en un lapso de almacenaje de 2 años, las manchas de semen, saliva, orina, saliva y sudor presentan una respuesta similar a la presentada inicialmente al ser irradiadas con luz ultravioleta de longitudes de onda específicas (13), lo que sugiere que no exhiben deterioro en sus componentes.

Las manchas de sangre seca experimentan cambios fisicoquímicos con el transcurso del tiempo, como degradación del ADN, cambios conformacionales de la molécula de hemoglobina, así como desecación. La cadena de ADN, presente sólo en los leucocitos, se degrada en fragmentos de menor tamaño y eventualmente se rompen los enlaces de hidrógeno, derivados de purina y en productos oxidados. Por su parte, la hemoglobina de los eritrocitos experimenta cambios conformacionales graduales; de un estado de oxihemoglobina pasa a un estado oxidado de metahemoglobina y posteriormente se desnaturaliza irreversiblemente a hemicromos. Estos cambios se aceleran a temperatura de 40 °C en un lapso de dos semanas, mientras que a 21 °C y a -20 °C son definitivamente más lentos (14). En lo que respecta a la luz solar, se ha encontrado que en una exposición del ADN a esta radiación durante 120 min no se observa degradación de los marcadores genéticos usualmente empleados para obtener un perfil genético (15).

**HUESO.** Este tejido se considera el más resistente a la descomposición en el cuerpo humano. Su estudio permite la identificación de un individuo con base en la estimación de la edad, el sexo, la estatura, la ascendencia, alguna enfermedad o la ingesta de drogas de abuso. El hueso humano presenta dos tipos de tejido, el hueso sólido densamente compacto y el hueso esponjoso constituido de una red de varillas óseas intercaladas por espacios que contienen médula ósea. La médula ósea comprende a una matriz de grasa y alta vascularización en la cavidad central de los huesos, lo que permite la acumulación de sustancias en ese espacio. Se ha observado que estas propiedades de la médula ósea son preservadas hasta por cinco años después de la muerte (16).

**CABELLO.** La característica más distintiva del cabello es su estructura sólida y durable (17). El cabello humano está constituido de 3 partes, la cutícula, la corteza y la médula. La corteza contiene en su mayor parte  $\alpha$ -queratina, la médula contiene una proteína rica en citrulina, mientras que la corteza está formada de células muertas en capas sobrepuestas en forma de escamas, lo que le otorga fuerza a su estructura (18). Entre las ventajas al uso del cabello como indicio forense se tiene a su facilidad para ser recolectado y almacenado. También su toma de muestra es un proceso no invasivo. Para el caso de análisis de drogas, esta muestra posee una amplia ventana de detección al ser comparada con matrices biológicas convencionales (17). Su almacenamiento puede realizarse en laminas de papel aluminio y a su vez estos en bolsas de papel a temperatura ambiente en un lugar seco y oscuro (19).

Los cabellos pueden permanecer preservados durante miles de años, como lo evidencia aquellos encontrados en las momias egipcias. Del mismo modo, en la escena del crimen no se ven afectados por las condiciones medioambientales o por la fauna cadavérica (20)

**HISOPOS CON MATERIAL BIOLÓGICO.** El tipo de fibra utilizada para elaborar los hisopos varía de acuerdo al fabricante, algodón, poliéster, rayón u otros tipos como los hisopos acolchados; aunque los de algodón se consideran como los mejores para la recolección y con mayor eficiencia en la extracción de fluidos biológicos debido a que este material rinde en promedio una mayor cantidad de alelos empleados para la identificación de indicios biológicos.

La técnica de preservación, enfocada al estudio genético, es el secado de los hisopos y su refrigeración o almacenamiento en un ambiente controlado de humedad, temperatura y bajo oscuridad, lo que favorece su almacenaje durante meses o incluso años (21).

**HISOPOS BUCALES.** El uso de hisopos de algodón como dispositivo recolector de sustancias biológicas ha sido por mucho tiempo el estándar de oro en los laboratorios forenses y en las escenas de crimen. Estos dispositivos son baratos, simples de usar, transportar y tienen la capacidad de recolectar muchos tipos de matrices biológicas (22). Respecto a la obtención de ADN, no se ha observado ventaja significativa al almacenar en el lapso de un mes, hisopos bucales a -20 °C con respecto a los hisopos secos almacenados a temperatura ambiente (22).

## **Efectos del almacenaje temporal en los analitos de interés forense**

El análisis toxicológico cualitativo y cuantitativo certero es la base de un juicio toxicológico competitivo. Resultados poco confiables conducen a una subestimación o sobreestimación de los efectos, falsas interpretaciones y conclusiones erróneas. En el peor de los casos, esto podría resultar en consecuencias legales para el imputado. Considerando lo anterior, la mayoría de los toxicólogos forenses adoptan medidas suficientes para asegurar la calidad de los métodos analíticos empleados en su laboratorio. Sin embargo, los aspectos pre-analíticos como la condición y duración de la recolección, así como del almacenaje influyen en la concentración del analito. Por lo tanto, el conocer la estabilidad de los fármacos y drogas de abuso en matrices biológicas es esencial para los químicos y toxicólogos forenses (23). La estabilidad se define como la ausencia de cambios o fluctuaciones en el estado físico o químico de una sustancia y por ende, en su concentración. La estabilidad es una variable pre-analítica prominente para la determinación de analitos en matrices biológicas. Su valoración durante el transporte, almacenaje y preparación de las muestras es de importancia para la interpretación de las concentraciones de agentes terapéuticos, sus metabolitos o productos de degradación, tanto en estudios toxicológicos, farmacocinéticos, clínicos y forenses (24).

Existen 3 formas por las cuales puede cambiar la concentración de un analito en sangre o en sus derivados (25):

1. La biotransformación del fármaco original a su metabolito puede llevarse a cabo en los eritrocitos o en los fluidos de la sangre, sea plasma o suero. Este proceso se denomina inestabilidad metabólica y solo es propio de las matrices biológicas (25).
2. La pérdida del analito en solución puede deberse a la agregación, a la precipitación o a la unión no covalente a los componentes de la matriz, o a la unión a las superficies de plástico o vidrio del recipiente contenedor, lo que reduce la cantidad de analito en la muestra analizada. Aunque estos dos últimos procesos pueden aparecer tanto en ambientes biológicos como en no biológicos, la presencia de proteínas y lípidos en muestras biológicas suministra oportunidad de unión no covalente, secuestro o precipitación, que no se aprecian en los ambientes no biológicos (25).
3. La inestabilidad química es una función inherente de las propiedades fisicoquímicas del analito, que resulta en la oxidación, hidrólisis o isomerización del compuesto con el transcurrir del tiempo.

Al respecto, la hidrólisis se define como el proceso químico de descomposición de una molécula que implica el rompimiento de un enlace, con la inmediata adición de un catión hidrógeno y un anión hidroxilo. La mayoría de las reacciones de degradación por hidrólisis se dan con la presencia de agua, como sucede en los fluidos biológicos o en la presencia de humedad, como podría ser en las matrices no biológicas como las drogas incautadas. Cualquier droga o fármaco con grupos éster (ácido acetil salicílico, procaina, tetracaina y fisostigmina), grupos amida (cinchocaina, ergometrina y cloranfenicol), grupos lactama (penicilina, cefalosporinas, nitrazepam y clordiazepóxido) y grupos lactona (pilocarpina y espirinolactona) son susceptibles de experimentar este tipo de reacción de degradación (26).

En lo concerniente a la oxidación, que se define como el aumento en la proporción de oxígeno en una molécula, o la deshidrogenación de la misma; el oxígeno molecular del ambiente promueve reacciones de autooxidación en los fármacos de forma lenta y participa activamente en las reacciones en cadena que incluyen iniciación, propagación y terminación (26).

Ciertas partes de las moléculas de droga o fármaco son susceptibles de experimentar este tipo de reacción. El grupo éter (econazol y miconazol, dopamina e isoproterenol), tioéter (fenotiazinas) y los ácidos carboxílicos (ácido ascórbico) forman parte de este tipo de grupos. El tetrazepam por su parte, experimenta una reacción de autooxidación (26).

Por su parte, la isomerización es una reacción de reagrupamiento de los grupos que conforman a una molécula. La luz solar tiene el potencial de afectar a los fármacos que son capaces de absorber radiación a longitudes por debajo de 280 nm, pero aquellas sustancias que absorben energía más allá de 400 nm pueden degradarse tanto en ambientes de luz del sol como de la luz interior (26).

El cristal color ámbar resulta efectivo para eliminar o reducir la fotodegradación debido a que este material es capaz de excluir el paso de la radiación con longitud de onda menor a 470 nm (26).

Otro factor que influye en la estabilidad de las matrices es el ciclo de congelamiento descongelamiento del fluido o tejido implicado. Independientemente del volumen involucrado, sean mililitros, litros o cientos de estos, el proceso de congelación-descongelación es una causa de estrés en las proteínas de la sangre.

Durante el congelamiento en el que ocurre la cristalización de las moléculas de agua, las moléculas de la sustancia de interés forense contenida se “crioconcentran” a medida que son alejadas del núcleo de hielo y pueden alcanzar concentraciones muy por arriba de las que originalmente se encuentran, lo que obliga a homogeneizar bien la muestra durante el ciclo de descongelación (27).

Para efectos de interés forense, los analitos pueden clasificarse como psicoestimulantes, depresores, alucinógenos y nuevas drogas psicoactivas; los cuales pueden estar contenidos en fluidos o tejidos biológicos, en su mayor parte sangre y orina.

### Inestabilidad de psicoestimulantes

La cocaína como droga incautada no ve afectada su estabilidad a corto plazo. No influye de forma negativa que se resguarde a temperatura ambiente, bajo exposición a la luz solar o que se almacene en grandes volúmenes de incautación. No obstante, si la temperatura de almacenaje alcanza los 37°C o si los adulterantes preponderan, sí se ve afectada su estabilidad en el lapso de almacenaje planteado (28).

Por su parte, la cocaína presente en fluidos como sangre u orina sí muestra inestabilidad en un lapso de 3 meses de almacenaje (29). La reacción que experimenta esta droga es la hidrólisis, degradándose a benzoilecgonina o a éster metílico de la ecgonina (23). La benzoilecgonina, el principal metabolito presente en grandes cantidades en la orina de consumidores habituales de cocaína, se degrada lentamente en el lapso de un año de almacenaje (29).

Tanto la metanfetamina como la anfetamina tienen excelente estabilidad bajo su almacenaje a temperatura ambiente, la cual puede perdurar hasta por 4 años. Este atributo se debe a que en su estructura química, el núcleo fenetilamina no contiene sustituyentes susceptibles de hidrólisis como sí los contiene la cocaína (29).

En un estudio de estabilidad que incluyó el almacenaje a temperatura ambiente de anfetamina, benzoilecgonina, cocaína, metilendioxianfetamina (MDA), metilendioxietilamfetamina (MDEA), 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA) y metanfetamina durante el lapso de un año, demostró que el único psicoestimulante susceptible a la degradación fue el MDEA (30).

La fenciclidina, un estimulante empleado para tratar el síndrome de abstinencia por cocaína, es detectable durante los 5 años de almacenamiento a temperatura ambiente aunque con una degradación paulatina, por lo que se considera que esta droga presenta una estabilidad regular (29).

### Inestabilidad de depresores

Los opioides derivados de la morfina presentan una estabilidad variable, la cual es dependiente de su estructura química y de las condiciones en las que se almacenan. El grupo fenol de la morfina es el responsable de la susceptibilidad a reacciones de oxidación, que generalmente ocurren cuando las muestras son expuestas a la radiación solar, mientras que el grupo éster de varios opioides o de sus metabolitos, es el responsable de la degradación mediante reacciones de hidrólisis (31).

Ciertos opioides contenidos en medicamentos, como la 6-monoacetilmorfina (6-MAM), la codeína, el dextropropoxifeno, la metadona, la morfina y la fetidina mantienen estabilidad relativa durante un año a temperatura ambiente, excepto el tramadol, el cual debe su inestabilidad a que se precipita en solución durante periodos de almacenamiento prolongados (30).

La morfina contenida en sangre muestra estabilidad durante 6 meses, aunque la concentración original puede variar debido a la interconversión entre codeína y morfina, la cual se lleva a cabo por una reacción de hidrólisis. A pesar de ello, aun se ha encontrado esta droga al cabo de 5 años de almacenamiento a temperatura ambiente (29).

La morfina también se biotransforma a glucuronato de morfina. Este conjugado experimenta hidrólisis en el periodo postmortem, lo que libera nuevamente al alcaloide morfina en el sitio donde actúan generalmente las bacterias de la descomposición (31).

Se enfatiza que, para sangre de personas vivas, prepondera la reacción de oxidación, por lo que se recomienda evitar la interacción de las muestras con la luz y con las altas temperaturas. En cambio, para las muestras de sangre postmortem, predomina la reacción de hidrólisis; por lo que en este caso se recomienda almacenar las muestras a -20°C (31).

El propofol es un depresor muy peculiar. Al igual que la morfina, el propofol tiene un grupo fenol responsable de su oxidación. Su inestabilidad no se ve afectada por los ciclos de congelamiento/descongelamiento de las muestras de sangre que lo contienen, sino por el almacenaje a una cierta temperatura. La temperatura de -20°C fue suficiente para reducir hasta en 82% la cantidad de la droga durante 2 semanas de almacenaje (32).

En lo que respecta a ketamina y a norketamina, se ha determinado su inestabilidad en sangre completa almacenada más allá de 5 días a temperatura ambiente o incluso bajo refrigeración a 4°C (8).

El grupo de las benzodiazepinas es muy vasto y variable en cuanto a su estabilidad. Cuando nos referimos al almacenaje de las benzodiazepinas en forma de medicamento, se puede mencionar que el lorazepam y el oxacepam en solución son los más inestables, ya que disminuyen su concentración drásticamente tras 3 meses de almacenaje a temperatura ambiente y al cabo de un año casi desaparece su concentración. La máxima estabilidad de alprazolam, flunitrazepam y nitrazepam es de 3 meses almacenados a temperatura ambiente, aunque el lapso se prolonga hasta un año cuando estos fármacos se conservan en refrigeración (30)

Con respecto a los metabolitos de las benzodiazepinas, el 7-amino-clonazepam, el flunitrazepam, el nitrazepam, así como el bromazepam, el clonazepam, el fenazepam y el nordiazepam resultaron estables hasta por un año almacenados a temperatura ambiente. En cambio el alprazolam, el diazepam y temazepam requieren de temperatura de refrigeración en el mismo lapso (30).

Cuando las benzodiazepinas se encuentran contenidas en sangre, se degradan a una mayor velocidad. Este proceso puede deberse a la actividad enzimática de las esterasas presentes en la sangre y que se exagera en una muestra almacenada sin conservador o recolectada sin las medidas suficientes de asepsia (33).

Se ha reportado una disminución de al menos el 40% en la concentración de benzodiazepinas en plasma y sangre durante el almacenaje de muestras fortificadas hasta por 8 meses a 4°C (33).

El gamahidroxibutirato (GHB) es inestable tanto en sangre antemortem como postmortem. El estudio de Busardo reporta una reducción hasta del 20% en su concentración después de 4 semanas de almacenaje sin importar si la temperatura fuera de -20°C, 4°C o 20°C. El GHB en orina se degrada hasta 25% durante el mismo lapso (34).

La zopiclona es un sedante hipnótico que es susceptible a la degradación debido a una reacción de hidrólisis. (4). Su estabilidad en sangre es dependiente de la temperatura. Puede permanecer inalterado durante 5 a 6 meses cuando se almacena a -20°C; reducir su concentración hasta 24% en el lapso de hasta 30 días cuando se almacena a 4°C (35) y durar sólo dos días cuando se almacena a 20°C. Los resultados de su análisis en sangre deben ser interpretados con precaución si la muestra se ha almacenado más de 24 h a temperatura ambiente durante la fase pre-analítica (4).

La fluoxetina como medicamento en solución es estable hasta por 6 meses en condiciones de refrigeración o a temperatura ambiente. Otros antidepresivos en esta presentación, como la amitriptilina, el citalopram, la clomipramina, la doxepina, la fluvoxamina, la mianserina, la mirtazapina, la nortriptilina, la paroxetina, la reboxetina, la sertralina, la trimipramina y la venlafaxina toleran bien un tiempo de un año de almacenaje a temperatura ambiente (30).

## Inestabilidad de etanol

El alcohol etílico o etanol merece una mención aparte respecto a su estabilidad en fluidos biológicos. Es una sustancia volátil, por lo que resultan evidentes las situaciones que promueven su desaparición. Además, es un intermediario metabólico de numerosos microorganismos en la biotransformación de glúcidos, por lo que se genera durante la descomposición de cadáveres o debido a la contaminación con microorganismos del fluido biológico que lo contiene.

Los factores pre-analíticos que afectan la estabilidad del alcohol en muestras almacenadas deberían considerarse como de gran importancia en países en vías de desarrollo, debido a que los procedimientos de muestreo, recolección y conservación de las muestras son deficientes en estos países, aunado a la falta de un adecuado control de la calidad en sus laboratorios (36).

Las muestras de sangre de personas vivas que resultaron negativas para la presencia de alcohol, continuaron negativas a pesar de haber sido almacenadas a temperatura ambiente con un lapso desde 7 hasta 28 días (37). Lo anterior enfatiza la necesidad de asegurar la asepsia durante la toma de muestras de sangre. Si la sangre sin contenido de alcohol se almacena en congelación, es posible que preserve un resultado negativo hasta por 5 meses en esta condición (38).

En lo que respecta a la volatilización del etanol, la concentración de alcohol en sangre disminuye durante su almacenamiento tanto en refrigeración como a temperatura ambiente con un gran decremento cuando el tubo contenedor ha sido previamente abierto (37). Este decremento es significativo en el lapso de 4 meses que usualmente emplean los laboratorios forenses en nuestro país. La disminución en la concentración de etanol esta relacionada con la duración del periodo de almacenaje (38), con el espacio libre en el tubo, con la carencia de un agente conservador y con el número de aperturas del tubo para dispensar una alícuota para análisis (36).

## Inestabilidad de alucinógenos

La droga de abuso de tipo alucinógeno cuya inestabilidad es conocida debido a su sensibilidad a la luz solar es la dietilamina del ácido lisérgico (LSD). (23). En lo que respecta a otros alucinógenos, La disminución en la concentración de los cannabinoides se debe a la oxidación de sus moléculas y/o a su unión al recipiente contenedor mediante interacciones lipofílicas, dada su solubilidad en ambientes no polares; inclusive en condiciones de refrigeración o congelación. (11). Otro tipo de afectación que experimentan los cannabinoides es la reconversión del glucuronato del 11-nor-9-carboxi-delta9-tetrahidrocannabinol a su metabolito ácido (23); aunque en general puede afirmarse que tanto el THC carboxilado como su conjugado con glucurónido son estables en sangre hasta por 15 días almacenados a temperatura de refrigeración (11).

## Inestabilidad de nuevas sustancias psicoactivas

Las nuevas sustancias psicoactivas son un grupo emergente de drogas de abuso con nombres que refieren mas a su nombre químico que a un significado distinto.

En un experimento controlado, las siguientes moléculas, 5-Meo-DALT (5-methoxy-N,N-diallyltryptamine), 6-APB (6-(2-aminopropyl) benzofuran hydrochloride), MPA (methiopropamine), 5-MAPB (1-(benzofuran-5-yl)-N-methylpropan-2-amine), 25C-NBOMe (2-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(2-methoxyphenyl) methyl]ethanamine), AH-7921, MDAI (5, 6- methylenedioxy-2-aminoindan), 2-AI (2-aminoindan), 5-IAI (5-iodo- 2-aminoindan) y MDAT (6,7-methylenedioxy-2-aminotetralin hydro- chloride) fueron estables en muestras de sangre y plasma almacenados a temperatura ambiente durante 21 días. Por su parte 4-MEC (4-methylethcathinone) y AMT (sertindole,  $\alpha$ -methyltryptamine) resultaron inestables en este periodo (39).

La mefedrona es una catinona sensible a la temperatura, que afecta su estabilidad cuando esta presente en las muestras biológicas. La temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  es la mejor temperatura de almacenaje para la mefedrona tanto en sangre antemortem como en sangre postmortem comparada con otras temperaturas de almacenaje ( $4^{\circ}$  y  $20^{\circ}\text{C}$ ) (40).

## Estrategias para favorecer la estabilidad de las matrices biológicas y sus componentes

Se ha establecido que la baja temperatura disminuye la velocidad de los procesos metabólicos y por ende el consumo de ATP, de modo que los cambios bioquímicos y de degradación temprana de la sangre se retrasan significativamente en las muestras refrigeradas (5) y mas aun con la congelación para el caso de la orina. La reducción de la temperatura disminuye sustancialmente no solo las reacciones enzimáticas, sino también las reacciones espontáneas. En las reacciones de degradación espontánea, la efectividad del control de temperatura depende de la energía de activación. Con energías de activación de 20 kcal/mol, la velocidad de reacción es 10 veces más lenta y se obtiene cuando la temperatura baja desde  $22^{\circ}\text{C}$  hasta  $0^{\circ}\text{C}$  (24). De manera experimental, se ha determinado que la velocidad de glicolisis y consumo de ATP disminuye entre 10 y 15% por cada grado Celsius menos. (7).

Respecto al ciclo de congelamiento/descongelamiento, la mejor estrategia para retornar una matriz como la sangre desde un estado de congelación hasta la temperatura ambiente, se recomienda elevar la temperatura solamente hasta  $5^{\circ}\text{C}$  en lugar de descongelar directamente hasta la temperatura ambiente, a fin de evitar una alteración abrupta de la matriz o de sus componentes (27). Un problema adicional con el ciclo mencionado es la rotura del vidrio con el que se fabricaban los tubos de ensaye. Los primeros tubos al vacío para muestreo de sangre venosa aparecen en los años 50's y eran fabricados de vidrio.

Recientemente se incorporan al mercado los tubos de plástico, debido a la necesidad de mejorar la robustez, evitar el rompimiento del vidrio durante su transporte así como los ciclos de congelamiento/descongelamiento a que son sometidos.

El cambio de uso de vidrio a plástico para los tubos con sangre ocurre con el aumento en la frecuencia del análisis forense de etanol y otras drogas en sangre y al hecho de que no hay interferencia del material con el que se fabrica el tubo en la disminución de etanol presente en sangre almacenada a temperatura controlada (41).

Cuando se determina que las enzimas del plasma o de la sangre pueden ser la causa principal de inestabilidad de ciertos fármacos o drogas, la estrategia más común para controlar el proceso de degradación es la adición de inhibidores enzimáticos. El prerrequisito para tener éxito en esta estrategia es la identificación del tipo de enzima responsable y la disponibilidad de un potente inhibidor. Tanto el fluoruro de sodio como el fluoruro de metilfenilsulfonilo son inhibidores efectivos de la actividad de colinesterasas y carboxilesterasas (24, 42).

En particular, la adición de fluoruro de sodio como conservador mejora la estabilidad de todos los analitos a las condiciones estudiadas. El tipo de anticoagulante añadido (oxalato o EDTA) no afecta la estabilidad de los analitos, especialmente cuando se adiciona fluoruro de sodio a las muestras de sangre (42).

La presencia de fluoruro de sodio en los tubos para alcoholemia le otorga un efecto estabilizante a la muestra a fin de evitar el cambio en la concentración de etanol (43). No se ha investigado aun cuál es la cantidad de fluoruro de sodio necesaria para preservar las muestras de sangre antemortem (41). Aunque se sabe que el fluoruro a nivel milimolar, inhibe a varias enzimas, tanto in vivo como in vitro (44). Se recomienda que las muestras para determinación de alcohol sean almacenadas bajo refrigeración o por debajo de 4°C, con la presencia de al menos 1% de fluoruro de sodio para asegurar la estabilidad del volátil orgánico hasta por 7 meses (43).

Chen y Hsieh (24) recomiendan la estrategia a seguir para mantener la estabilidad de ciertos fármacos y drogas de abuso de manera específica en la matriz biológica que suele investigarse:

Sustancia	Estrategia de estabilización	Matriz biológica
Apomorfina	Control de temperatura	Plasma
Benzodiacepinas	Control de temperatura	Sangre, plasma
Betametasona	Adición de Inhibidor	Plasma
Clenbuterol	Adición de Inhibidor	Orina
Cocaina	Control de temperatura y pH	Plasma y sangre
Norcocaina	Control de temperatura y pH	Plasma y sangre
Benzoilecgonina	Control de temperatura y pH	Plasma y sangre
Metilecgonina	Control de temperatura y pH	Plasma y sangre
Delta 9-tetrahydrocannabinol	Control de temperatura	Plasma y sangre
Metotrexato	Control de temperatura	Plasma
Metilecgonidina	Adición de inhibidor y control de temperatura	Plasma
Morfina	Control de pH	Plasma y sangre
Glucuronato-3-morfina	Control de pH	Plasma y sangre
Glucuronato-6-morfina	Control de pH	Plasma y sangre
Nitrobenzodiacepina	Adición de inhibidor y control de temperatura	Sangre
2-oxo-3-hidroxi-dietilamida del ácido lisérgico (OH-LSD)	Control de temperatura	Orina
Temazepam	Control de temperatura	Sangre

Tabla 2. Estrategias de estabilización de drogas y fármacos en las matrices más comunes (Adaptada de Chen y Hsieh, 2005)

En lo que respecta a la estabilidad de hisopos, se han diseñado productos de este tipo que contienen conservadores, tal como el Bode BioSafe®, el cual contiene sustancias que inactivan las DNAsas y evitan la proliferación de microorganismos, así como tienen integrado una tapa que reduce la posibilidad de contaminación al promover la desecación de la muestra recolectada sin necesidad de tenerla al aire libre (21).

## CONCLUSIÓN

El periodo de almacenaje temporal desde uno hasta cuatro meses en las condiciones medioambientales descritas se considera adecuado para garantizar la estabilidad de la mayor parte de los fármacos o drogas de abuso descritos en este trabajo. Asimismo, el control del almacenaje durante este lapso resulta conveniente para limitar al máximo la degradación o alteración de los indicios biológicos derivados de una investigación forense. No obstante, hay que considerar que después de la fase de laboratorio, cuando la investigación migra a la siguiente etapa procesal, es factible que se pierda el control de las condiciones medioambientales para los indicios, por lo que es responsabilidad de las instituciones de procuración de justicia implementar medidas a largo plazo para asegurar la calidad de las evidencias de origen biológico.

## REFERENCIAS

1. Aguilar R.M.O. 7 Octubre 2021. V Congreso de Ciencias Forenses. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. Recuperado de: <https://www.youtube.com/watch?v=TTcTzC3Aw3A>
2. ISO 17025-2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. International Standard Organization. Recuperado de: <https://www.iso.org>
3. NIST. 2013. The Biological Evidence Preservation Handbook: Best Practices for Evidence Handlers. Technical Working Group on Biological Evidence Preservation. National Institute of Standards and Technology. USA. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.6028/NIST.IR.7928>
4. Jantos R., Vermeeren A., Sabljic D., Ramaekers J.G., Skopp G. 2013. Degradation of zopiclone during storage of spiked and authentic whole blood and matching dried blood spots. *International Journal of Legal Medicine*, 127:69-76. DOI: 10.1007/s00414-012-0696-4
5. Robinson N., Kirchbichler A., Banuls O., Mader M., Aikin R., Sottas P.E., D'Onofrio G. 2016. Validation of a blood stability score as an easy-to-use blood sample quality index. *International Journal of Laboratory Hematology* 38:685-693. DOI:10.1111/ijlh.12557

6. Ashenden M., Clarke A., Sharpe K., D'Onofrio G., Plowman J., Gore C.J. 2013. Stability of athlete passport parameters during extended storage. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35:183-192  
DOI:10.1111/ijlh.12014
7. Hess J.R. 2014. Measures of stored red blood cell quality. *Vox Sanguinis*,107:1-9  
DOI: 10.1111/vox.12130
8. Wu D.W., Li Y.M., Wang F. 2017. How long can we store blood samples: A systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine*, 24: 277-285.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.024>
9. Trombetta D.P., Foote E.F. 2009. The Kidneys. En: *Basic Skills in interpreting laboratory data*. Lee M (Ed.) 4th edition. American Society of Health System Pharmacists. Maryland, USA.
10. Dinis Oliveira R.J., Carvalho F., Duarte J.A., Remiao F., Marques A., Santos A., Magalhaes T. 2010. Collection of biological samples in forensic toxicology. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 20 (7): 363-414.  
DOI: 10.3109/15376516.2010.497976
11. Skopp G., Pötsch L. 2004. An investigation of the stability of free and glucuronidated 11-nor- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol-9- carboxylic acid in authentic urine samples. *Journal of Analytical Toxicology*, 28: 35-40.  
DOI: 10.1093/jat/28.1.35
12. Chace D.H., Lappas N.T. 2014. The use of dried blood spots and stains in forensic science. En Li W., Lee M.S. (Eds). *Dried Blood Spots: Applications and Techniques*. 1st edition. John Wiley & Sons, Inc. 140-150
13. Stertzik V., Hinderberger P., Panzer S., Bohnert M. 2018. Visualizing old biological traces on different materials without using chemicals. *International Journal of Legal Medicine*, 132: 35-41.  
DOI: 10.1007/s00414-017-1678-3
14. Cossette ML., Stotesbury T., Shafer A.B.A. 2021. Quantifying visible absorbance changes and DNA degradation in aging bloodstains under extreme temperatures. *Forensic Science International*, 318: 1-9.  
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110627>
15. Rahi G.S., Adams J.L., Yuan J., Devone D.J.N., Lodhi K.M. 2021. Whole human blood DNA degradation associated with artificial ultraviolet and solar radiations as a function of exposure time. *Forensic Science International*, 319: 1-7.  
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110674>

16. Franceschetti L., Di Candia D., Giordano G., Carabelli I., Vignali G., Cattaneo C. 2021. Drugs in bone: Detectability of substances of toxicological interest in different states of preservation. *Journal of Forensic Sciences*, 66: 677-686.  
<https://doi.org/10.1111/1556-4029.14636>
17. Tzatzarakis M.N., Alegakis A.K., Kavvalakis M.P., Vakonaki E., Stivaktakis P.D., Kanaki K., Vardavas A.I., Barbounis E.G., Tsatsakis A.M. 2017. Comparative evaluation of drug deposition in hair samples collected from different anatomical body sites. *Journal of Analytical Toxicology*, 41:214-223.  
DOI: 10.1093/jat/bkw127
18. Kucera J., Kameník J., Havranek . 2018. Hair elemental analysis for forensic science using nuclear and related analytical methods. *Forensic Chemistry*, 7: 65-74.  
<https://doi.org/10.1016/j.forc.2017.12.002>
19. Baciú T., Borrull F., Aguilar C., Calull M. 2015. Recent trends in analytical methods and separation techniques for drugs of abuse in hair. *Analytica Chimica Acta*. 856: 1-26.  
DOI: 10.1016/j.aca.2014.06.051
20. Koch S.L., Michaud A.L., Mikell C.E. 2013. Taphonomy of hair—A study of postmortem root banding. *Journal of Forensic Sciences*, 58: S52-S59  
DOI: 10.1111/j.1556-4029.2012.02271.x
21. Smith C., Cox J.O., Rhodes C., Lewis C., Koroma M., Hudson B.C., Cruz T.D., Seashols-Williams S.J. 2021. Comparison of DNA typing success in compromised blood and touch samples based on sampling swab composition. *Journal of Forensic Sciences*, 66: 1427-1434.  
DOI: 10.1111/1556-4029.14694
22. Verdon T.J., Mitchell J., van Oorschot A.H. 2014. Swabs as DNA collection devices for sampling different biological materials from different substrates. *Journal of Forensic Sciences*. 59 (4): 1080-1089  
<https://doi.org/10.1111/1556-4029.12427>
23. Peters F.T. 2007. Stability of analytes in biosamples—an important issue in clinical and forensic toxicology? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388:1505-1519.  
DOI 10.1007/s00216-007-1267-2
24. Chen J., Hsieh Y. 2005. Stabilizing drug molecules in biological samples. *Therapeutic Drug Monitoring*, 27(5): 617-624.  
DOI: 10.1097/01.ftd.0000170879.18139.40

25. Reed G.A. 2016. Stability of drugs, drug candidates, and metabolites in blood and plasma. *Current Protocols in Pharmacology*, 7.6.1-7.6.12  
doi: 10.1002/cpph.16
26. Akala E.O. 2008. Effect of packaging on stability of drugs and drug products. En Gad S.C. (Ed.) *Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Regulations and Quality*. John Wiley & Sons. pp. 641 684.
27. Lam P., Lim F.J., Sane S.U. 2015. Drug substance frozen storage and thawing. En Jameel F. et al. (eds.), *Quality by design for biopharmaceutical drug product development*. AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series 18. Pp. 159 189.  
DOI 10.1007/978-1-4939-2316-8\_9
28. Nielsen L.S., Villesen P., Lindholst C. 2016. Stability of cocaine impurity profiles during 12 months of storage. *Forensic Science International*, 264: 56-62  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.03.012>
29. Giorgi S.N., Meeker J.E. 1995. A 5 year stability study of common illicit drugs in blood. *Journal of Analytical Toxicology*, 19: 392-398.  
DOI: 10.1093/jat/19.6.392
30. Karinen R. Øiestad E.L., Andresen W., Smith-Kielland A., Christophersen A. 2011. Comparison of the stability of stock solutions of drugs of abuse and other drugs stored in a freezer, refrigerator, and at ambient temperature for up to one year. *Journal of Analytical Toxicology*, 35: 583-590.  
DOI: 10.1093/anatox/35.8.583
31. Skopp G., Pötsch L., Klingmann A., Mattern R. 2001. Stability of morphine, morphine-3-glucuronide, and morphine-6-glucuronide in fresh blood and plasma and postmortem blood samples. *Journal of Analytical Toxicology*, 25: 2-7.
32. Sørensen L.K., Hasselstrøm J.B. 2015. Simultaneous determination of propofol and its glucuronide in whole blood by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry and the influence of sample storage conditions on the reliability of the test results. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 109: 158-163.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.035>
33. Skopp G., Pötsch L., König I., Mattern R. 1998. A preliminary study on the stability of benzodiazepines in blood and plasma stored at 4° C. *International Journal of Legal Medicine*, 111: 1-5.  
DOI: 10.1007/s004140050100

34. Busardò F.P., Zaami S., Baglio G., Indorato F., Montana A., Giarratana N., Kyriakou C., Marinelli E., Romano G. 2015. Assessment of the stability of exogenous gamma hydroxybutyric acid (GHB) in stored blood and urine specimens. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 19: 4187-4194.
35. Nilsson G.H., Kugelberg F.C., Kronstrand R., Ahlner J. 2010. Stability tests of zopiclone in whole blood. *Forensic Science International*, 200: 130-135.  
doi:10.1016/j.forsciint.2010.04.001
36. Stojiljkovic G., Maletin M., Stojic D., Brkic S., Abenavoli L. 2016. Ethanol concentration changes in blood samples during medium-term refrigerated storage. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20: 4831-4836.
37. Shan X., Tiscione N.B., Alford I., Yeatman D.T. 2011. A study of blood alcohol stability in forensic antemortem blood samples. *Forensic Science International*, 211: 47-50.  
doi:10.1016/j.forsciint.2011.04.012
38. Kocak F.M., Isiklar O.O., Kocak H., Meral A. 2015. Comparison of blood ethanol stabilities in different storage periods. *Biochemia Medica*, 25(1): 57-63  
<http://dx.doi.org/10.11613/BM.2015.006>
39. Soh Y.N.A., Elliott S. 2014. An investigation of the stability of emerging new psychoactive substances. *Drug Testing and Analysis*, 6: 696-704.  
DOI: 10.1002/dta.1576
40. Busardò F.P., Kyriakou C., Tittarelli R., Mannocchi G., Pantano F., Santurro A., Zaami S., Baglio G. 2015. Assessment of the stability of mephedrone in ante-mortem and post-mortem blood specimens. *Forensic Science International*, 256: 28-37.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.07.021>
41. Jones A.W., Ericsson E. 2016. Decreases in blood ethanol concentrations during storage at 4 °C for 12 months were the same for specimens kept in glass or plastic tubes. *Practical Laboratory Medicine*, 4: 76-81  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.plabm.2016.02.002>
42. Papoutsis I., Nikolaou P., Pistos C., Dona A., Stefanidou M., Spiliopoulou C., Athanaselis S. 2014. Stability of morphine, codeine, and 6-acetylmorphine in blood at different sampling and storage conditions. *Journal of Forensic Science*, 59 (2): 550-554.  
doi: 10.1111/1556-4029.12337

43. Laurens J.B., Sewell F.J.J., Kock M.M. 2018. Pre-analytical factors related to the stability of ethanol concentration during storage of ante-mortem blood alcohol specimens. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 58: 155-163.  
<https://doi.org/10.1016/j.jflm.2018.06.003>
44. Barbier O., Arreola Mendoza L., Del Razo L.M. 2010. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemical-Biological Interactions*, 188: 319-333.  
DOI: 10.1016/j.cbi.2010.07.011



**Revista Mexicana de Medicina Forense  
y Ciencias de la Salud**