

**INVESTIGACION DE BAL EN CADAVERES EN UN CASO
DE INTOXICACION COLECTIVA POR PARATION**

Profesor FERNANDO VELASCO P.

Trabajo presentado al Primer Congreso Latinoamericano y Primer Congreso Colombiano de Toxicología.

El día 25 de noviembre de 1967 se presentó en Chiquinquirá (Colombia) una intoxicación masiva por ingestión de pan hecho con harina contaminada por Folidol (Bayer), plaguicida que contiene un 50% de Paration, (o, o, Dietil, o, p. Nitrofenil-tiofosfato); $(EtO)_2 PS-O-C_6H_4-NO_2$.

Este compuesto, como es sabido, sufre una rápida hidrólisis en medio alcalino, se isomeriza fácilmente a 130° C, y en presencia de enzimas y de aire se transforma en Paraoxon:



(o, s, dietil-4-nitrofenilfosforotiolato)

El Paraoxon se hidroliza más rápidamente que el Paratión y reacciona con la AChE 10.000 veces más rápidamente. La isomerización de tionatos a tiolatos no se verifica in vivo pero puede hacerse durante el almacenamiento del producto, especialmente cuando hay elevación de temperatura. Este tipo de reacción, ha hecho que queden sin valor muchas publicaciones sobre las propiedades bioquímicas y tóxicas de algunos órgano-fosforados.

Compuesto	LD ₅₀	I ₅₀ Mol.
$(EtO)_2 PS-O-C_6H_4 NO_2$	3.0 i.v. rata	2 X 10 ⁻⁴
$(EtO) (EtS)-PO-O-C_6H_4 NO_2$	1.2 " "	1 X 10 ⁻⁶
$(EtO)_2-PO-O-C_6H_4-NO_2$	0.4 " "	6.6 X 10 ⁻⁹

En la intoxicación referida, se me presentó, como Director del Laboratorio de Toxicología del Instituto de Medicina Legal de Bogotá, la necesidad de investigar la presencia de BAL en los cadáveres inhumados. Como nunca se había practicado esta determinación post-mortem, consideré inicialmente la necesidad de tomar muestras especiales, no solo de vísceras sino de músculos glúteos de aquellas víctimas que a simple vista presentaran en la necropsia huellas de haber sido inyectadas por vía I.M. que es la comúnmente usada para el producto mencionado.

Antes de proceder al análisis correspondiente, se solicitaron los posibles métodos a dos autoridades científicas: el profesor doctor W. Schulemann de la Universidad Federico-Guillermo de Bonn (Alemania) y el profesor doctor Milton Helpert, Jefe de Medicina Forense en New York (Estados Unidos). El primero de los nombrados no pudo darnos informes al respecto por lo insólito del caso; el doctor Helpert gentilmente nos envió una lista de métodos para detección del BAL y sugerencias para su análisis toxicológico. Entre todos, escogí el de G. H. Spray (Microdetermination of BAL) basado en la coloración de tioles con una sal de cobalto. Debido a la falta de especificidad del método, pues otros tioles diferentes del BAL también reaccionan, se hizo un ensayo con espectrofotometría infrarroja sobre los residuos de extracciones en tejidos homogenizados.

METODO DE EXTRACCION

1. Pesar el tejido, homogenizarlo a baja temperatura en licuadora y destilar por arrastre con vapor de agua.
2. Extraer el destilado en embudo de separación con repetidas porciones (6) de 30 ml. de cloroformo.
3. Evaporar a baja temperatura el solvente.
4. Desecar el residuo (vacío, CaCl₂).
5. Disolver una pequeña parte del residuo en cloroformo purísimo, desecarlo por filtración sobre sulfato de sodio anhidro y mantener la muestra en ambiente de humedad constante para verificar la espectrofotometría infrarroja.

MUESTRAS ANALIZADAS

1. Músculo de conejo inyectado con BAL y Paratión.
2. Músculo de conejo inyectado con BAL y Folídol.
3. Músculo glúteo. Muestra 24630 B (1).
4. " " " 24631 A.
5. " " " 24631 B.
6. " " " 24633 A (Fig. 7).
7. BAL (Hormo-Bal). Muestra 1 (Fig. 5).
8. BAL (Hormo-Bal). Muestra 2 (Fig. 6).
9. Benzoato de Bencilo (Lab. Hormona, Colombia).
10. Aceite de Ajonjolí (Lab. Hormona, Colombia).
11. Dimercaprol (Lab. Hormona, Colombia) (Fig. 4).
12. Folídol (Bayer, Colombia) (Fig. 3).
13. Músculo glúteo. Muestra 24630 B (2).

14. Músculo glúteo de NN; muerto en accidente de tránsito. (Fig. 2).
15. Músculo glúteo. Muestra 24633 B (Fig. 8).
16. Vísceras (Estómago, hígado, bazo, riñón) Muestra 24634.
17. Grasa hallada en glúteo. Muestra 24633 G (Fig. 9).

Con las muestras anteriores se intentó hacer una cromatografía de gas, usando la columna de mayor temperatura de que disponíamos (170° C), pero no se obtuvo ninguna variación.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE BAL.

Reactivos y procedimiento:

- a) 1 ml. de solución al 0.5% de nitrato de cobalto.
- b) 0.5 ml. de solución de goma arábiga al 2%.
- c) C.S. de mezcla reguladora (buffer) de Borato (pH 9) para tener un volumen final de 10 ml.
- d) Calentar en Baño María a 45° C.
- e) Añadir la muestra problema en solución filtrada, completando un volumen de 10 ml. Calentar durante 10 minutos a 45° C.
- f) Leer en un espectrofotómetro a 470 m μ .

Las transmitancias observadas en el aparato espectrofotómetro Beckman DU fueron las siguientes:

Músculo glúteo. Muestra 24630 B	93
Músculo glúteo. Muestra 24631	93.5
Músculo glúteo. Muestra 24633	95
Vísceras varias. Muestra 24634	88
Muestra de BAL extraído con la técnica descrita	53
Músculo de conejo inyectado con BAL	92
BLANCO: Reactivos igualmente tratados	100

La especificidad no existe en esta reacción, puesto que otros tioles dan colores con el nitrato de cobalto, en las condiciones descritas.

Método para determinar 1,2, ditiolos:

W. N. Aldrige describe el siguiente método: Añadir a 2 ml. de una solución que no debe tener más de 10 gamas de 1,2 ditiol, 0,4 ml. de reactivo de cloruro de cianógeno, dejando 5 minutos en reposo.

Añadir 0,4 ml. de NaOH N. dejar en reposo durante 10 minutos. Acidificar con 0,2 ml. de HCl 3N y airear con aire húmedo durante 30 minutos. Añadir 0,2 ml. de agua de bromo, quitar el exceso de bromo con 0,2 ml. de una solución de ácido arsenioso al 2% (p/v), mezclar y eliminar los vapores de bromo por aireación. Verter el total en 4 ml. de una mezcla de partes iguales de reactivo de piridina y de bencidina: 100 ml. HCl conc. en 1 litro de piridina (59%): solución de cloruro de bencidina al 5% (p/v) en HCl al 2% (v/v). Mezclar perfectamente y a los 20 minutos leer el color usando filtro Ilford verde N^o 604.

Para prevenir oxidación catalítica se debe usar agua destilada saturada de CO₂ con 10 gamas/ml. de NaCN.

Con este método de liberación de tiocianato en solución alcalina, no reaccionan el 1,6, dimercapto-1-propanol ni el BAL oxidado: 2,3, dimercapto-1-propanol. Pero interfieren el glutathion, la ergotionina y el ácido tioláctico; se ha aplicado a determinaciones en sangre. No sirve para orina.

H. M. Rauen y W. Hengst han descrito en 1965 un método de reducción específica de un reactivo triazínico en solución alcalina por el BAL.

RESUMEN

En una intoxicación humana masiva por ingestión de un pesticida organofosforado (Paratión) se investigó en los cadáveres la presencia no solo de este tóxico sino de un antídoto equivocadamente aplicado: Dimercaprol (BAL). A través de varias experiencias biológicas y por análisis colorimétrico e infrarrojo, se comprobó en uno de los casos la presencia de Dimercaprol, después de cuatro días de inhumado el cadáver. Creemos que es la primera vez que se ha determinado BAL en cadáveres.

SUMMARY

During a chemical poisoning outbreak, the presence of Paration and Dimercaprol was studied, the presence of Dimercaprol (BAL) was detected in one case by means of several biological, spectrophotometric and IR-Spectra analysis. The samples were taken four days after the body had been buried. This seems to be the first time BAL have been detected in cadavers.

RÉSUMÉ

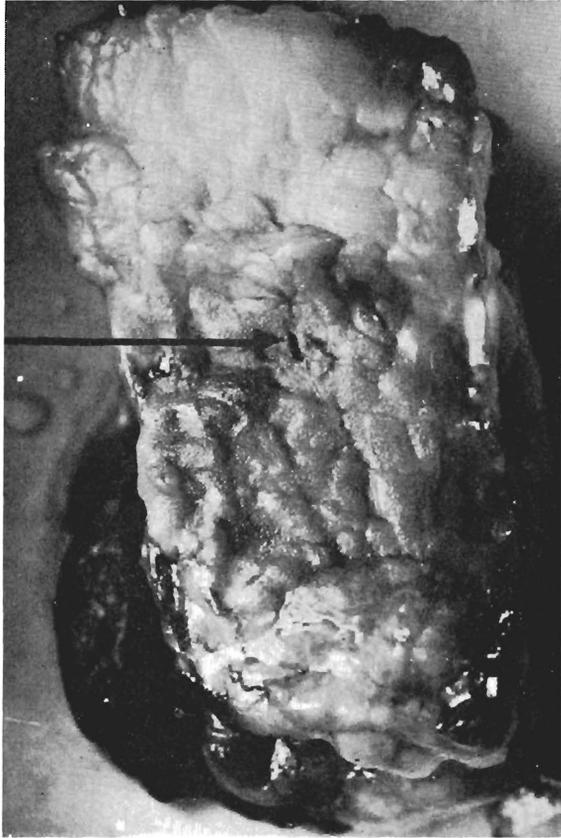
A conséquence d'une intoxication masive dû à l'ingestion d'une pesticide organophosphoré (Paration), il a été faite sa détermination

dans les cadavres aussi bien que celle d'un antidote faussement administré: le Dimercaprol (BAL). Au moyen de divers essais biologiques et de l'analyse colorimétrique et à l'infrarouge, il a été établie pour un de ses cas la présence du Dimercaprol, après quatre jours de faite l'inhumation du cadavre. Nous croyons que cette fois-ci c'est la première fois qu'il a été faite la détermination du BAL dans de cadavres.

BILIOGRAFIA

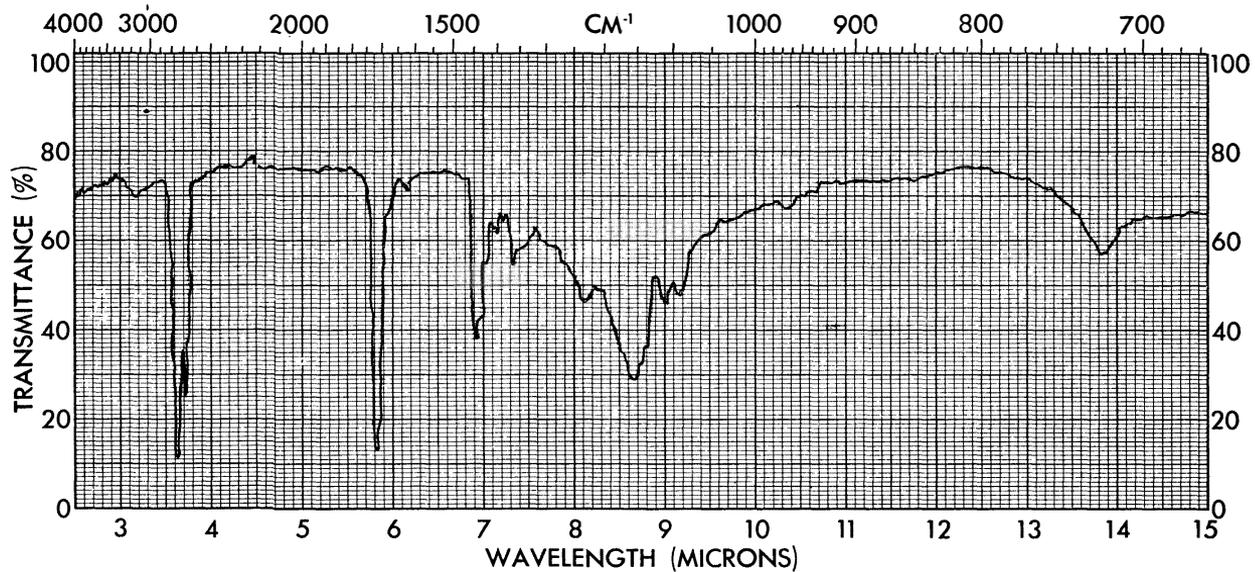
1. SPRAY, G. H.: Microdetermination of BAL. *Biochem. J.* 41: 360 (1947).
2. KEIICHI KONO: Microdetermination of BAL with Thiamine sulfide. *J. Vitaminol. (Kyoto)* 12, 137-51 (1966).
3. BURLACHER, S. H., BUNTING, H., HARRISON, H. H., ORDWAY, N. K.: The toxic actions of BAL (Yale Univ.) *J. Pharmacol.* 87 Supl. 28-32 (1946).
4. DE ARGUMOSA, J. A.: Del BAL al RP. 3606 (Tiomalato sódico) *Rev. Clin. Españ.* 36, 52-9 (1950).
5. GIBERT CALABUIG, J. A., SEMPERE LEONARTE, J. BAL y Metionina en intoxic. por fósforo. *Med. Españ.* 34, 41-55 (1955).
6. PETERS, R. A. *et al.*: The use of Radioactive BAL for metabolism investigations. *Biochem. J.* 41: 370 (1947).
7. SIMPSON, S. D. and L. YOUNG: Experiments with Radioactive BAL. *Biochem. J.* 46: 634 (1950).

FIGURA No. 1



Corte de tejido muscular, señalando el sitio donde se halló líquido oleoso.

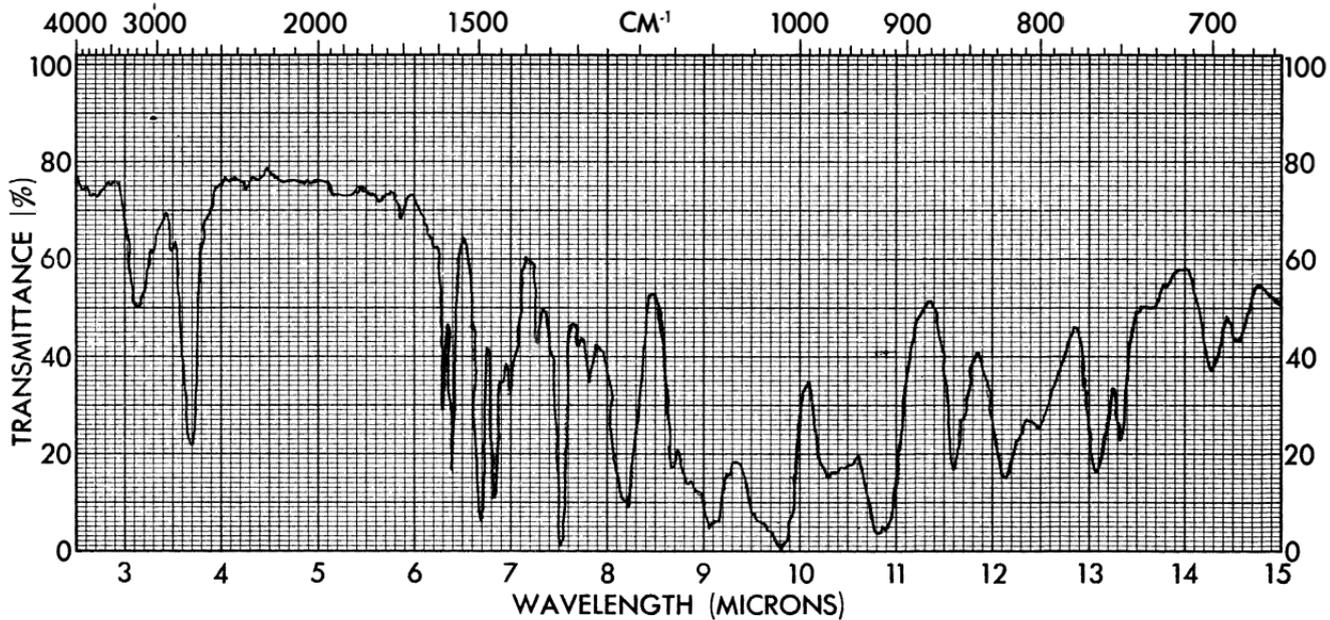
FIGURA No. 2



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorio de Toxi</u>	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>Ext. H₂O - CHCl₃</u> <u>de Músculo glúteo de NN. muer</u> <u>to en accidente de tráfico.</u>	<u>colofia I. M. L.</u>	1. _____	<u>Velocidad rápida</u>
_____	PURITY _____	2. _____	_____
_____	PHASE <u>Sólida</u>	DATE <u>29-1-68.</u>	_____
_____	THICKNESS _____	OPERATOR <u>R. Arrunateguñ</u> <u>M. Gómez</u>	<u>Ap. Perkin Elmer. 137</u>

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE _____

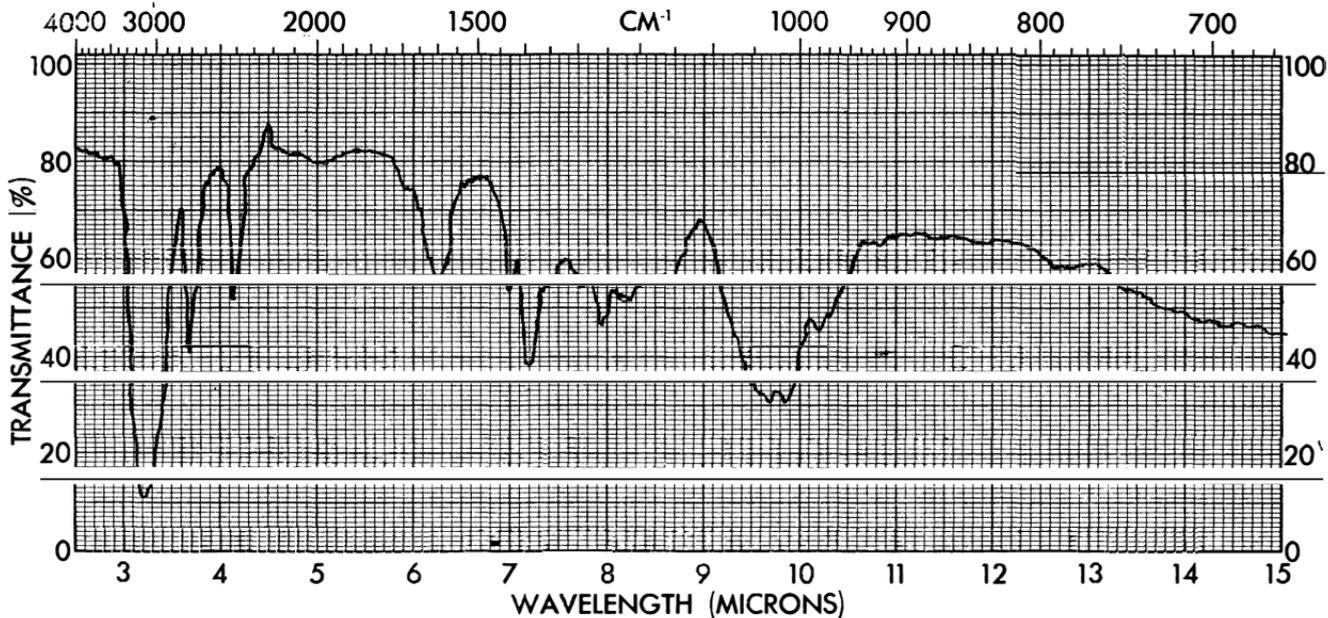
FIGURA No. 3



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorio de Taxi-</u>	LEGEND _____	REMARKS <u>Sin diluir</u>
SAMPLE <u>Folidol (Bayer)</u>	<u>colografía. I. M. L.</u>	1. _____	<u>Velocidad rápida</u>
<u>50% de Paration</u>	PURITY _____	2. _____	_____

SAMPLE SPECTRUM NO. _____

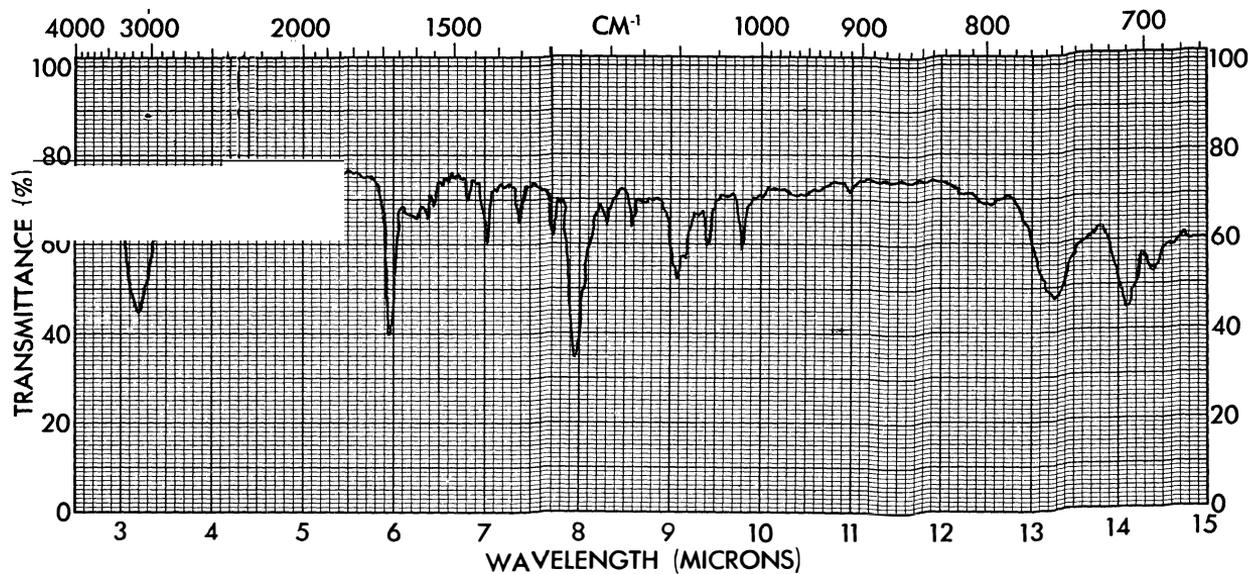
FIGURA No. 4



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorios Hormona</u>	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>Dimercaprol</u>	(Colombia)	1. _____	<u>Veloc. rápida</u>
CH ₂ OH	PURITY _____	2. _____	
OH - SH	PHASE <u>Líquida</u>	DATE <u>Enero 24 - 1968</u>	
CH ₂ SH	THICKNESS _____	OPERATOR <u>F. Velasco</u> <u>M. Gómez</u>	<u>Ap. Perkin Elmer 137</u>

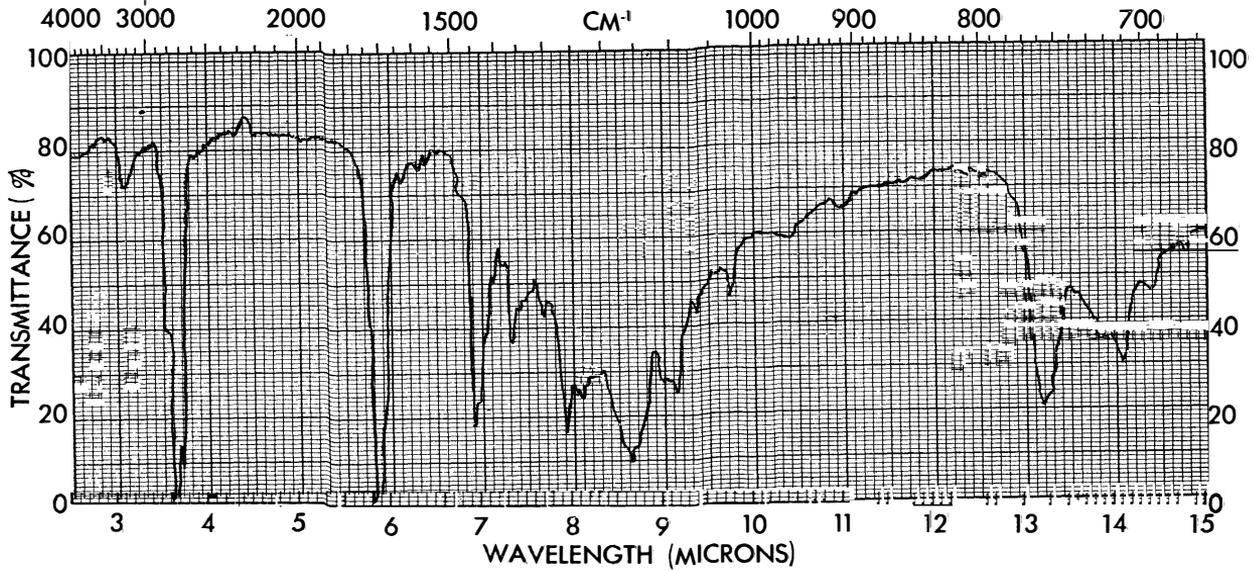
SPECTRUM NO. _____
SAMPLE

FIGURA No. 5



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorio de Toxicología</u>	LEGEND _____	REMARKS <u>Velocidad rápida</u>
SAMPLE <u>BAL - 1</u>	<u>logra (Hormo - BAL).</u>	1. _____	SAMPLE SPECTRUM NO. _____
<u>2 ml. Extr. vap. H₂O, Dest. Extr.</u>	PURITY _____	2. _____	
<u>+ CHCl₃, filtrado, seco sobre</u>	PHASE <u>Sólida</u>	DATE <u>29 - 1 - 68</u>	
<u>SO₄Na₂</u>	THICKNESS _____	OPERATOR <u>F. Velasco</u> <u>M. Gómez</u>	
			Perkin Elmer: 137

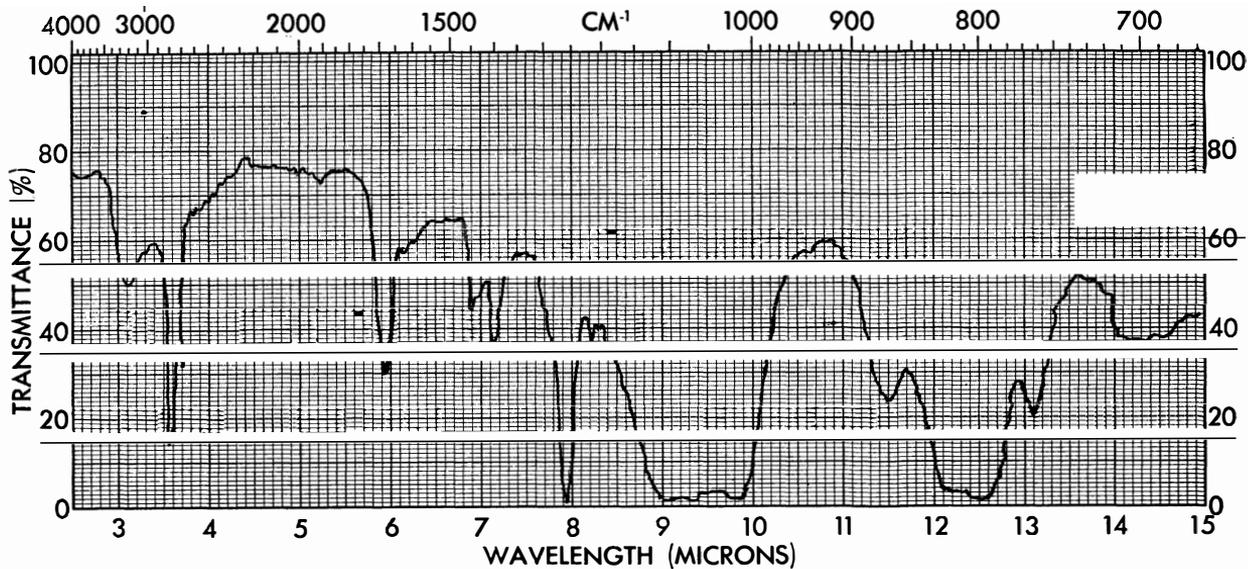
FIG URA No. 6



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorios Hormona</u>	LEGEND _____	REMARKS <u>Muestra tomada di</u>
SAMPLE <u>Hormo-BAL (2)</u>	<u>(Colombia).</u>	1. _____	<u>rectamente del fco. amp. (sin ex</u>
<u>Dimercaprol 5% Benzoato de</u>	PURITY _____	2. _____	<u>traer.</u>
<u>Bencilo 10% () Aceite de ajon</u>	PHASE <u>Líquida</u>	DATE <u>Enero 24 de 1968</u>	<u>Veloc. rápida</u>
<u>joll p. 100.</u>	THICKNESS _____	OPERATOR <u>Fernando Velasco</u>	<u>Ap. Perkin Elmer 13/</u>
<u>Lote: Lic. 9236 Minsalud</u>		<u>Marcos Gómez</u>	

SPECTRUM NO. _____

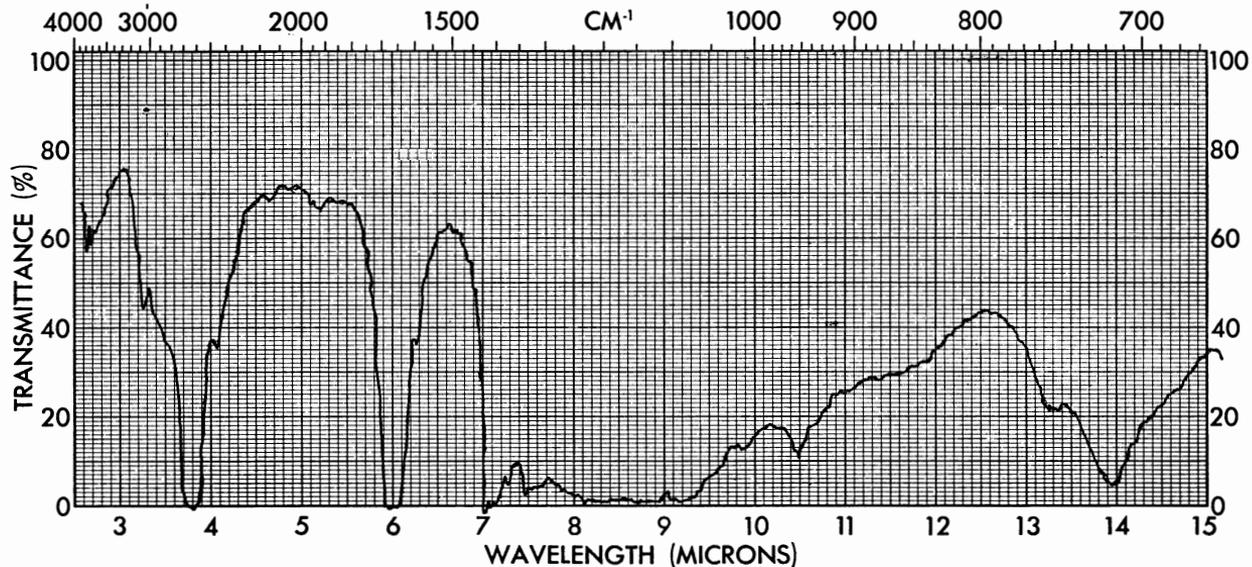
FIGURA No. 7



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorio de To-</u>	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE No. 24-633 A.	<u>xicología.</u>	1. _____	<u>Veloc. rápida</u>
<u>Músculo gluteo (90 gm) de Jairo</u> <u>Gustavo Hernández Leyton.</u> <u>Extracción Vap. H₂O-CHCl₃</u> <u>seco sobre SO₄Na₂-pH = 9.</u>	PURITY _____	2. _____	
	PHASE <u>Sólida</u>	DATE <u>Enero 24 - 1968</u>	
	THICKNESS _____	OPERATOR <u>F. Velasco</u> <u>M. Gómez</u>	<u>Ap. Perkin Elmer 137</u>

SAMPLE SPECTRUM NO. _____

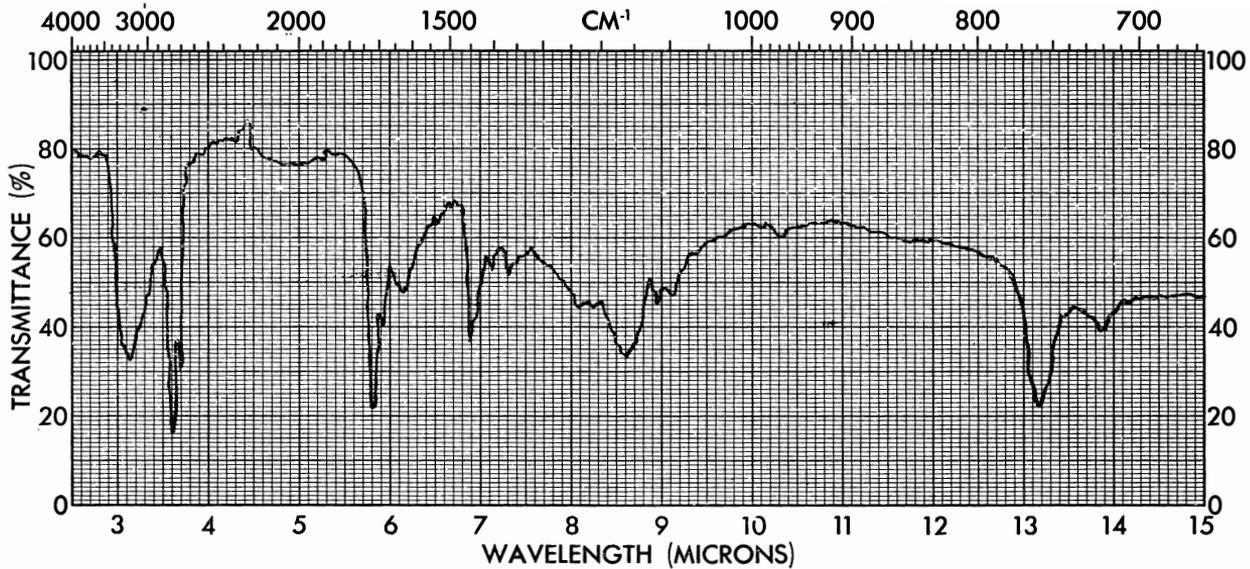
FIGURA No. 8



SPECTRUM NO. _____	ORIGIN <u>Laboratorio de Toxicología.</u>	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>24633-B.</u> <u>Extracción CHCl₃ del residuo (filtrado y residuo) del extr. por vapor H₂O del músculo glúteo de Jairo Gustavo Hernández Leyton</u>	PURITY _____	1. _____	<u>Veloc rápida</u>
PHASE <u>Pastosa</u>	THICKNESS _____	2. _____	
		DATE <u>29 - 1 - 68</u>	
		OPERATOR <u>F. Velasco M. Gómez</u>	<u>Ap. Perkin Elmer 137</u>

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE

FIGURA No. 9



SPECTRUM NO.	ORIGIN	LEGEND	REMARKS
SAMPLE No. 24633 G.		1.	Veloc. rápida
Grasa semilíquida hallada al cortar músculo glúteo de Jairo Gustavo Hernández Leyton. Solución parcial en CHCl ₃	PURITY	2.	
	PHASE Semi-líquida	DATE Enero 24 - 1968	
	THICKNESS	OPERATOR F. Velasco Marcos Gómez	Ap. Perkin Elmer 137

SPECTRUM NO. SAMPLE