



**UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID**

**DETERMINACIÓN DE DROGAS DE
ABUSO EN MUESTRAS
BIOLÓGICAS**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO
2019/2020**

FACULTAD DE FARMACIA

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID**

Autora: PATRICIA GARCÍA LÓPEZ

Tutora: CRISTINA CORONEL GONZALO

17 de febrero de 2020

Índice

Resumen	2
Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
1.1. Situación actual del consumo de drogas.....	3
1.2. Situación actual de la determinación de drogas en muestras biológicas.....	4
1.2.1. Pruebas indiciarias o iniciales	4
1.2.2. Pruebas confirmatorias.....	5
1.2.3. Dispositivos de detección de muestras	8
1.3. Sustancias susceptibles de ser detectadas en muestras biológicas	9
1.3.1. Opioides	9
1.3.2. Anfetaminas y derivados	10
1.3.3. Cocaína.....	10
1.3.4. Alcohol	10
1.3.5. Cannabinoides	11
1.3.6. Fenciclidina	11
1.3.7. Khat	11
1.3.8. Gammahidroxiutarato (GHB).....	11
1.3.9. Benzodiazepinas	11
2. Objetivos.....	12
3. Material y metodología.....	12
4. Resultados y discusión	12
4.1. Características de los tejidos biológicos.....	12
4.1.1. Orina	12
Toma de muestras.....	13
4.1.2. Sangre	13
Toma de muestras.....	14
4.1.3. Pelo	14
Toma de muestra	15
4.1.4. Saliva	15
Toma de muestra	16
4.2. Trazabilidad y autenticidad de las muestras.....	16
4.3. Cadena de custodia	17
5. Conclusiones	18
6. Referencias bibliográficas	18
Índice de abreviaturas:.....	20

Resumen

La detección de drogas de abuso es una especialidad clínica de enorme importancia por su implicación en ámbitos legales, toxicológicos, sociosanitarios y de emergencias. Las principales sustancias de abuso consumidas por la población son el alcohol (aprox. 67%), tabaco (40%), cannabis (10%) e hipnosedantes (7%); además, un 0,8% de los deportistas federados dan positivo a dopaje.

Con el objetivo de realizar una revisión bibliográfica de los métodos de detección de sustancias de abuso, las características de estas y de los tejidos biológicos de los que se obtienen las muestras que son analizadas, se han utilizado bases de datos como PubMed para la revisión de artículos científicos y el catálogo on-line de la Biblioteca Complutense para la consulta de libros electrónicos.

La detección de estas sustancias se realiza en dos fases; la inicial de cribado, permite la detección mediante técnicas inmunoquímicas, y la confirmatoria, que detecta las sustancias de manera cuantitativa a través de cromatografía de gases, de líquidos y/o espectrometría de masas. Cada tejido biológico tiene unas características especiales que permite la detección de estas sustancias mediante protocolos normalizados.

Para concluir, es importante realizar las pruebas iniciales mediante dispositivos altamente sensibles y específicos y, en caso de obtener resultados positivos, realizar un segundo análisis que dé un resultado confirmatorio inequívoco.

Un primer resultado positivo no puede confirmar la exposición a la sustancia debido a las interferencias, reactividad cruzada o errores en la toma de muestra.

Palabras clave: *drogas, detección, análisis, sustancias de abuso*

Abstract

Drug consumption happens in a high rate between Spanish people: the main abuse substances are alcohol (approx. 67%), tobacco (40%), cannabis (10%) and hypnosedatives (7%); furthermore, around 0,8% of the federated athletes are positive to doping testing. This has converted drug detection into a top relevant clinical practice because of its implication in legal, toxicological, sociosanitary and emergency fields.

In aim to carry out a bibliographic revision of the current drug detection methods, their characteristics and the characteristics of the biological tissues from where the analysed samples are obtained, Databases like PubMed to review scientific papers, and the online catalogue of Complutense Library to review books in an electronic format have been used.

Detection of those substances is done in two phases: the initial screening one that allows detection by immunochemical techniques; and the confirmatory one that determine substances by gas and liquid chromatography and mass spectrometry in a quantitative way.

Each tissue has special properties that allow said substances detection via normalised protocols.

Finally, it is crucial to carry out the screening using highly sensible and specific devices, and if the result is positive, test the sample by analytic techniques that show an unambiguous result.

However, a positive result in the screening phase may not confirm exposure to the substance due to interferences, crossed reactivity or mistakes made during sampling.

Key words: drug, detection, analysis, abuse substance

1. Introducción

La detección de drogas de abuso es una especialidad clínica de enorme importancia por su implicación en ámbitos legales, toxicológicos, sociosanitarios y de emergencias. Estas sustancias se detectan en muestras biológicas extraídas de los individuos de los que se sospecha la exposición, siendo las principales muestras sangre, saliva y orina.

Esto significa que los resultados de los análisis pueden dar lugar a situaciones legales y/o administrativas que afecten al individuo al que se le realicen las pruebas. Es por ello por lo que es de suma importancia la fiabilidad, objetividad y legalidad de los resultados, así como de la cadena de custodia de las muestras tomadas.

Uno de los pilares fundamentales en todo el proceso de detección es la autenticidad de la muestra, de manera que esté asegurado el origen y el transporte hasta el laboratorio mediante la cadena de custodia.

En esta memoria se realizará una revisión bibliográfica de los trabajos publicados acerca del consumo actual entre la población, los métodos utilizados actualmente en la detección de drogas de abuso en muestras biológicas por especialistas y cuerpos de seguridad del estado, así como las previsiones futuras en lo que respecta a avances analíticos.

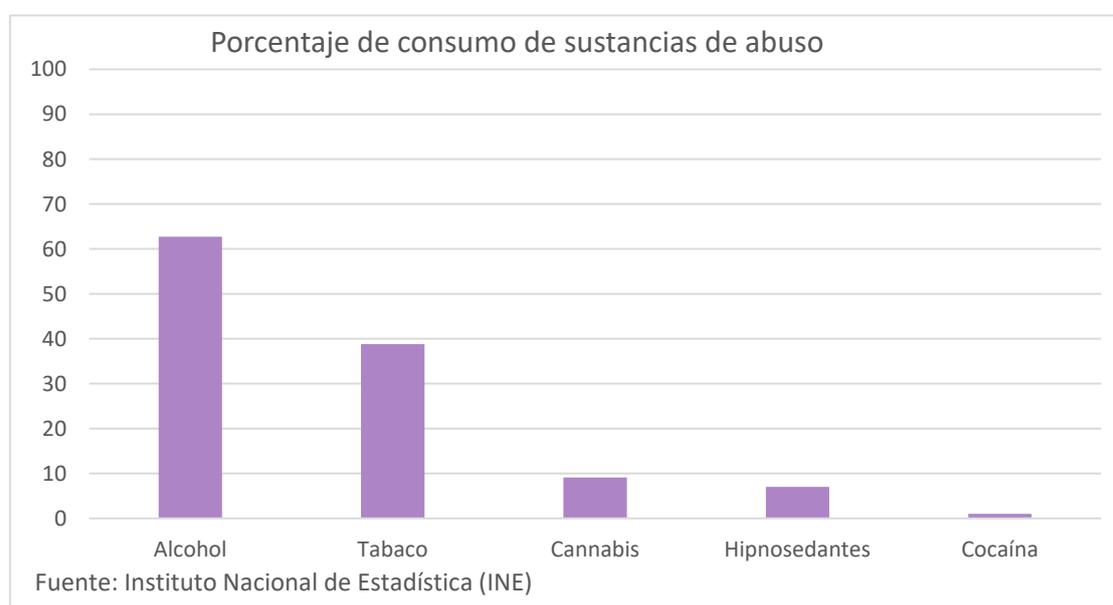
1.1. Situación actual del consumo de drogas

Una droga de abuso es una sustancia de uso no médico y no prescrita por ningún facultativo, que presenta efectos psicoactivos (cambios en la percepción, conducta, ánimo) y es susceptible de ser auto administrada con un fin no terapéutico.¹

La mayoría de estas sustancias están ilegalizadas o estrictamente reguladas, como ocurre con el tabaco, alcohol y ciertos fármacos hipnosedantes.

Un porcentaje significativo de la población mundial consume de manera habitual alcohol, una **droga de uso legal y aceptada socialmente**, y que supone una fuente de ingresos para la economía de los diferentes países; a pesar del alto poder adictivo y el riesgo asociado a la alteración de la conducta del consumidor. Según datos del Instituto Nacional de Estadística, en España, aproximadamente un 7% de la población consume hipnosedantes -ya sea con o sin

Tabla 1. Porcentajes de consumo de las principales sustancias de abuso en los últimos 30 días en la población española.



receta- y un 10% consume cannabis en cualquiera de sus formas, siendo estas las drogas más abundantes después del alcohol, que es consumido por dos tercios de la población, y el tabaco, consumido por un 40% aproximadamente. ²

Según datos de la DEA (Drug Enforcement Administration), en los últimos nueve años en Estados Unidos ha habido un incremento del 576% en el número de muertes debidas al consumo de opioides sintéticos, y fentanilo y sus derivados ³. La mayoría de los opioides sintéticos son moléculas que fueron sintetizadas por laboratorios farmacéuticos con el objetivo de encontrar nuevos fármacos analgésicos y que nunca llegaron a comercializarse, pero que ahora son adquiridas de manera ilícita por los consumidores.

El **dopaje** es el uso de métodos prohibidos o consumo de sustancias prohibidas (incluidas en una lista que contiene, entre otros, drogas de abuso y hormonas), con el objetivo de obtener de manera no natural un mejor rendimiento en una competición deportiva. A nivel mundial está regulado por la WADA (World Anti-Doping Agency) y en España está regulado por la Agencia Española de Protección de la Salud en el Deporte (AEPSAD). Según datos del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, un 0,8% de las 5.788 muestras de federados y federadas analizadas dieron un resultado positivo a sustancias prohibidas. Las sustancias detectadas fueron mayoritariamente estimulantes (28,8%), anabolizantes (15,4%) y hormonas relacionadas con factores de crecimiento (13,5%).⁴

1.2. Situación actual de la determinación de drogas en muestras biológicas

La detección de drogas en muestras biológicas se lleva a cabo en dos procesos consecutivos. Primero, se realiza un **test rápido o test de cribado** que permita un resultado cualitativo (positivo o negativo), generalmente mediante reacciones inmunoquímicas que se producen en kits que vienen con los reactivos ya preparados y a los que solo debe añadirse una pequeña cantidad de muestra biológica, conocidos como **prueba indiciaria**.

Seguidamente, y en caso de obtener un resultado positivo, se toman muestras de fluido oral en un recolector precintado, que se enviará a laboratorio para realizar la **prueba confirmatoria**, que consiste en la detección de la sustancia de manera cuantitativa, mediante métodos analíticos. También se debe tomar una muestra de sangre y una segunda muestra del fluido biológico, realizado por profesionales sanitarios habilitados para ello, para poder llevar a cabo una **prueba de contraste o contranálisis**.

1.2.1. Pruebas indiciarias o iniciales

Su fundamento es inmunológico y permiten la detección instantánea de la presencia de drogas en la saliva y la orina.

Los métodos inmunológicos se basan en la unión entre anticuerpos específicos presentes en los kits y las sustancias de abuso (antígeno) presentes en la muestra biológica.

Hay tres tipos de pruebas iniciales inmunológicas

- **Técnicas inmunoquímicas:** el antígeno presente en la muestra biológica (A) compite por el sitio de unión del anticuerpo fijado (Ac) con un antígeno marcado presente en el

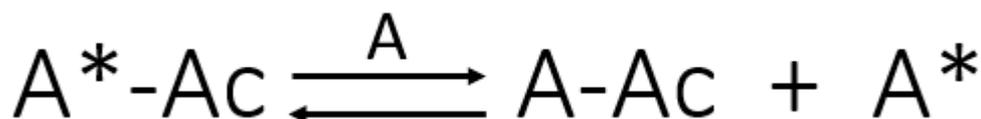


Figura 1. Equilibrio de reacción antígenos-anticuerpo

dispositivo (A*), generalmente con fluoróforo. El antígeno marcado (A*), cuando es desplazado por el antígeno (A) producirá un cambio de color visible a simple vista o una señal que podrá medirse con espectrómetro de fluorescencia

- **Técnicas radioinmunoquímicas:** El fundamento es el mismo que las técnicas inmunoquímicas, la diferencia reside en que el antígeno marcado en este tipo de prueba está marcado con un isótopo radiactivo, generalmente yodo (^{125}I). Una vez desplazado el equilibrio al añadir el antígeno no marcado (A), se separa la fracción libre de antígeno marcado con isótopo radiactivo (A*) del conjunto A-Ac y se realiza una curva de calibración para después extrapolar el valor de las muestras desconocidas (A-Ac). Esta prueba es menos frecuente -aunque más precisa- debido al coste y riesgo asociados a la manipulación de material radiactivo.
- **Técnicas inmunoenzimáticas:** Estas técnicas requieren un componente más que las anteriores, además del anticuerpo específico (Ac), el antígeno problema de la muestra (A) y el antígeno marcado (A*) con una enzima (normalmente peroxidasa o glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), necesitan un sustrato capaz de producir una señal cuando se une a la enzima del antígeno marcado. De esta manera, la enzima del antígeno marcado solo será activa cuando sea desplazado y esté libre y será inactiva si está unido al anticuerpo (Ac). La intensidad de la señal óptica será proporcional a la cantidad de antígeno marcado desplazado, es decir, a la cantidad de analito.⁵

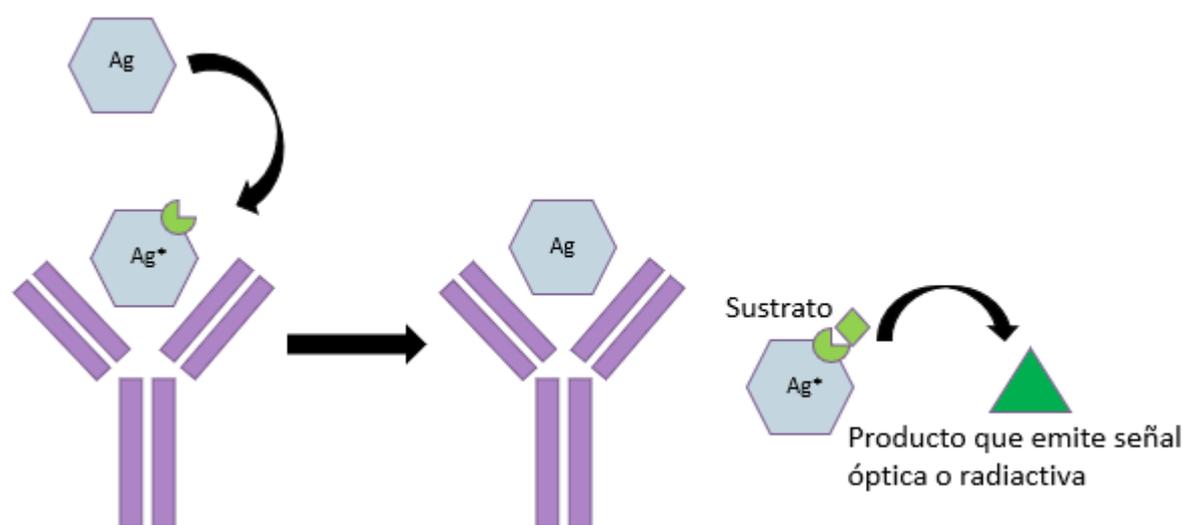


Figura 2. Mecanismo de reacción antígeno-anticuerpo en pruebas inmunoenzimáticas

1.2.2. Pruebas confirmatorias

Son las pruebas que se realizan cuando se obtiene un resultado positivo en las pruebas iniciales. Consisten en métodos más complejos y sofisticados que permiten un resultado cuantitativo preciso, aunque suponen un mayor tiempo y coste que las iniciales.

Los métodos analíticos de elección son la **cromatografía**, que es un método analítico que permite separar las diferentes moléculas contenidas en una mezcla mediante los diferentes tiempos de retención de cada una; y la **espectrometría de masas**, método físico que permite la detección de sustancias por la medida de las masas de los iones resultantes de la fragmentación de una molécula tras ser irradiada con energía.

Se recomienda que, para análisis de sustancias en orina y sangre, se utilicen técnicas de **cromatografía de gases (GC)**. La cromatografía de gases es una técnica que utiliza un gas inerte (generalmente helio, nitrógeno, argón...) como fase móvil (para transportar el analito). El analito es introducido mediante una micro jeringa a través de una columna (fase estacionaria) y posteriormente volatilizado en una cámara de vaporización. La columna permitirá la separación de las moléculas por su punto de ebullición, conduciéndolas hasta el detector.^{5,6}

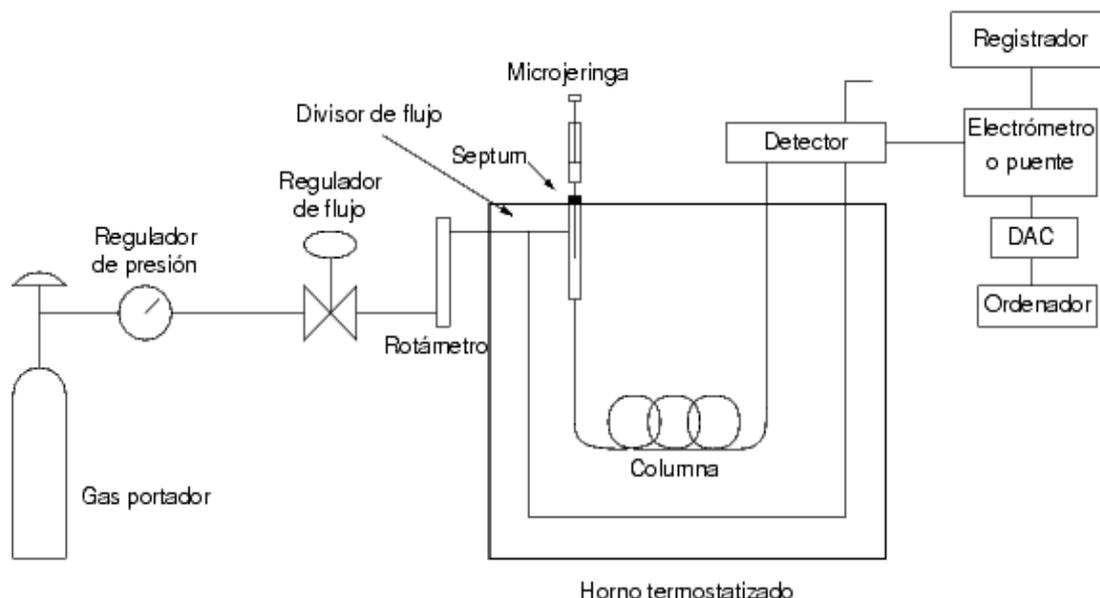


Figura 3. Esquema de un cromatógrafo de gases

El detector puede ser detector de captura de electrones (GC-ECD, utilizado en compuestos halogenados principalmente) o detector de ionización de llama (GC-FID), que consiste en una llama de aire o hidrógeno que oxida las moléculas orgánicas presentes en nuestra muestra, produciendo iones que se recogen por el detector.

La **cromatografía líquida o de líquidos (LC)**, es un método físico para la separación de compuestos, que tiene el mismo fundamento que la cromatografía de gases, pero en este caso en lugar de utilizar un gas como fase móvil, se utiliza un líquido a alta presión que eluye la muestra.

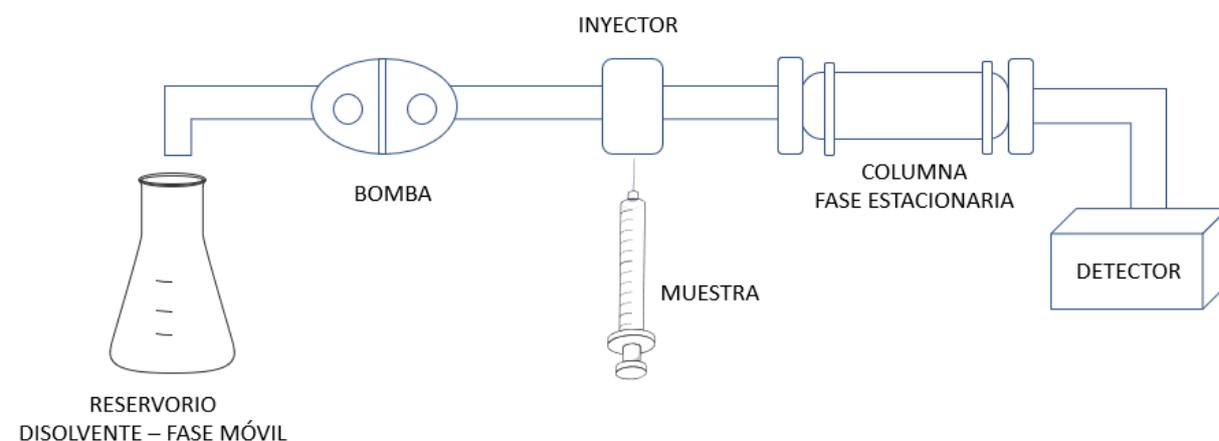


Figura 4. Esquema de un cromatógrafo de HPLC volátiles.

Se recomienda utilizar **espectrometría de masas de alta resolución (HR-MS)** para la identificación de sustancias orgánicas no volátiles. La espectrometría de masas de alta resolución es un método analítico que permite la separación y medida de las masas de los iones resultantes de la fragmentación de una molécula tras ser irradiada con energía.

FUENTE DE IONIZACIÓN

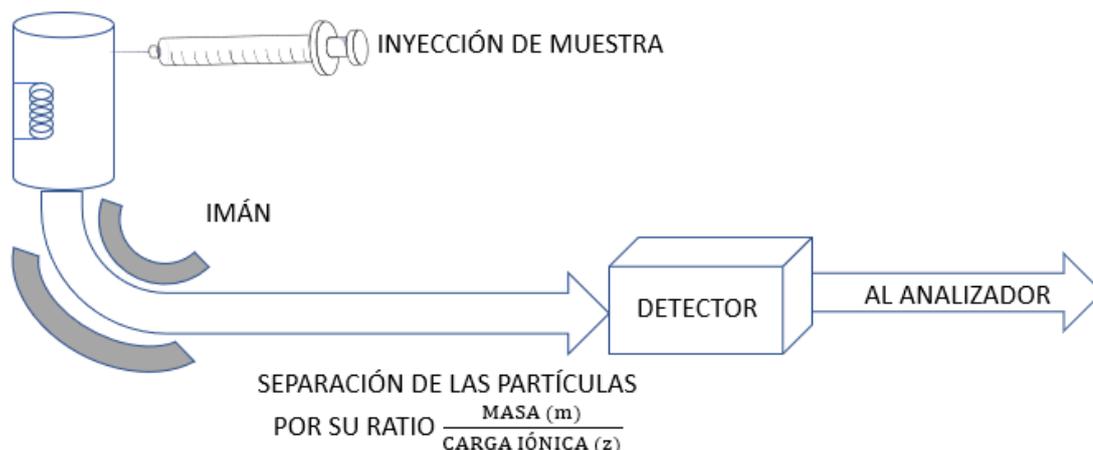


Figura 5. Esquema de un espectrómetro de masas

Para sustancias concretas, frecuentemente requeridas para ser detectadas como el etanol, la OMS propone que debe analizarse mediante **cromatografía de gases con detector de ionización de llama por inyección directa (GC-FID)** o de columna (HS-GC-FID).⁷

Así mismo, la detección de los metabolitos conjugados de etanol (etilglucurónido, sulfato de etilo) mediante **LC-MS-MS** o **GC-MS**, técnicas que combinan en tándem la separación de sustancias por cromatografía y la detección de moléculas con alta sensibilidad por espectroscopía de masas, permite confirmar o excluir la ingestión de bebidas alcohólicas cuando no se detecte alcohol en la orina o la sangre.

Para el análisis de pelo, esta misma guía recomienda utilizar para la detección de sustancias de abuso las técnicas de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas simple (GC-MS) o capaz de aislar por peso molecular (GC-MS-MS) y cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS); en el caso de hipnóticos, benzodiazepinas y similares recomienda cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas; y para la detección de GHB y cannabinoides, GC-MS-MS (o LC-MS-MS).⁸

Aunque pueden encontrarse sustancias psicoactivas en una gran diversidad de tejidos biológicos, se limitan a orina, sangre y saliva por dificultades prácticas a la hora de obtener y tratar la muestra (principalmente por falta de protocolo); siendo la orina la muestra que se utiliza con fines toxicológicos cualitativos (dar positivo o negativo a una sustancia), mientras que las muestras de sangre se utilizan en medicina forense. Con todo esto, la elección del tipo de muestra dependerá siempre de la sustancia que se quiere detectar, el tipo de paciente (ej. Pediátrico) y del tiempo desde la exposición.⁵

En la siguiente tabla se puede observar un resumen de las características más importantes de las diferentes muestras biológicas que son utilizadas para llevar a cabo la determinación de drogas de abuso.

Tabla 2. Características de las principales muestras biológicas

	Tiempo de detección	Analitos	Adulteración	Conservación	Invasividad
Orina	2-5 días (hasta 30 en cannabinoides)	Metabolitos	Posible y frecuente	-20°C	No invasivo
Saliva	0-6 horas	Droga inalterada	Difícil	-20°C	No invasivo
Sudor	0-7 días	Droga inalterada	Difícil	-20°C	No invasivo
Pelo	Semanas a meses	Droga inalterada	Interferencias con tratamientos capilares	Temperatura ambiente	No invasivo
Sangre	0-8 horas (variable según sustancia)	Droga inalterada	Difícil	-20°C	Invasivo

Fuente: L. Antonilli, P. Nencini

1.2.3. Dispositivos de detección de muestras

Dispositivos de detección rápida de drogas en muestras biológicas tienen que cumplir:

- La **sensibilidad** en un dispositivo es la capacidad para distinguir entre concentraciones semejantes de analito, correspondiendo a la pendiente de la curva de calibración del instrumento. En otras palabras, la proporción de individuos que han dado positivo en una sustancia que la han consumido realmente.
- La **especificidad** en un dispositivo es la capacidad del método analítico para discriminar entre diferentes analitos y detectar únicamente el que se busca al realizar la prueba. Es decir, que un individuo que ha dado negativo a una sustancia, realmente no la haya consumido.

Las pruebas inmunoquímicas están caracterizadas por tener una alta sensibilidad, lo que supone que la posibilidad de obtener un resultado falso negativo es remota. No ocurre así con los falsos positivos, que son más comunes debido al antígeno al que se dirigen los anticuerpos de los test, que puede dar lugar a **reactividad cruzada**, al reaccionar con moléculas o grupos farmacológicos similares o **interferencias** con moléculas que no guardan ninguna similitud.⁵

Curva de calibración: Representación gráfica bidimensional, que muestra la variación de la señal analítica con la concentración del analito

Los dispositivos de detección o pruebas iniciales son métodos de análisis cualitativos (positivo o negativo) y semicuantitativo (positivo si es por encima de un **valor umbral o de corte**).

Valor de corte: se define como una concentración mínima para obtener un resultado positivo; todo valor por debajo de esta concentración deberá suponerse negativo y considerar que la cantidad en el individuo es despreciable o irrelevante para el estudio al que se ha sometido. Este valor está preestablecido por consenso internacional, en función de valores estadísticos poblacionales, a través de organismos como NEQAS (National External Quality Assessment Scheme), SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration) y NIDA (National Institute of Drug Abuse).

El dispositivo que utiliza actualmente la dirección general de tráfico (DGT) es el DrugWipe®5S, que presenta una especificidad del 95%.^{9,10}



Figura 6. Dispositivo DrugWipe® 5 S

1.3. Sustancias susceptibles de ser detectadas en muestras biológicas

Las sustancias que se busca detectar son aquellas sustancias psicoactivas más frecuentemente consumidas por la población. En algunos casos, lo que se detecta es un metabolito de la droga; esto es debido al comportamiento farmacocinético de cada molécula, así como sus características fisicoquímicas. Estas características fisicoquímicas como el carácter ácido-base, la solubilidad o la polaridad, van a ser críticas a la hora de decidir los disolventes para la extracción y el método de detección.⁵

En la tabla se muestran las sustancias más frecuentemente encontradas:

Tabla 3. Sustancias de abuso más habituales que se detectan

Grupo toxicológico	Sustancia
Opiáceos	Morfina Morfina-6-glucuronido Codeína 6-monoacetilmorfina
Cocaína (metabolitos)	Benzoilecgonina Metiléster de ecgonina
Cannabinoides	Cannabidiol (CBD) Δ -9-tetrahidrocannabinol Δ -9-tetrahidrocannabinol glucorónido
Anfetaminas	Anfetamina Metanfetamina 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA) Metilendioxianfetamina (MDA)
Alcohol	Etanol
GHB	Ácido γ -hidroxibutírico (GHB)

Fuente: L. Antonilli, P. Nencini

1.3.1. Opioides

Dentro de este gran grupo se incluyen los opiáceos naturales como la morfina y la codeína; y los opioides semisintéticos como la heroína, la oxicodona y buprenorfina; o sintéticos, como la metadona y el fentanilo, entre otros.

- **Morfina:** entre el 60 y el 80% de la dosis absorbida sufre de conjugación en la segunda fase del metabolismo hepático, dando lugar a dos metabolitos principales: **morfina-3-hidroxiglucurónido** (inactivo) y **morfina-6-hidroxiglucurónido** (activo y con mayor potencia analgésica), que pueden ser detectados hasta 48 horas después en orina.
- **Heroína:** es rápidamente metabolizada a **6-monoacetil morfina** (6-MAM) por esterasas plasmáticas, detectable hasta 8 horas después en orina. Después sufre el mismo

metabolismo que la morfina. La detección de 6-MAM mediante cromatografía será el único indicador de consumo de heroína.

- **Codeína**: al ser consumida por vía oral, sufre metabolismo de primer paso que la conjuga a codeína-6-glucurónido, y solamente un 10% se transformará en morfina, que posteriormente será sometida a conjugación hepática. Este proceso permite la detección de los metabolitos de la codeína hasta 3 días después de haber sido consumida.

Los test rápidos inmunoquímicos que se utilizan para el cribado de muestras son capaces de detectar el grupo fenantreno común a las moléculas de esta familia. Para la posterior confirmación, se recomienda utilizar cromatografía de gases o líquida asociadas a espectrometría de masas (GC-MS o LC-MS).⁵

1.3.2. Anfetaminas y derivados

A partir de la estructura de la anfetamina, droga psicoactiva estimulante del SNC, se han ido diseñando y sacando al mercado derivados conocidos como “drogas de diseño”. Estas sustancias de nueva síntesis pueden suponer un problema a la hora de ser detectadas debido a que muchas veces son moléculas desconocidas para el laboratorio.¹¹

Las anfetaminas y sus análogos sufren metabolismo hepático mediante desaminación oxidativa y N-desalquilación, pudiendo sufrir también reacciones sobre el anillo aromáticos. Todas estas moléculas pueden detectarse en orina desde 3 horas hasta varios días después de la ingesta.

El método de elección para la identificación de estas moléculas es HPLC-MS, que permite una detección con mayor especificidad y sensibilidad. Cabe destacar la posible interferencia y posterior falso positivo de otras sustancias farmacológicas utilizadas como descongestivos que poseen un núcleo anfetamínico como ocurre con la efedrina y la pseudoefedrina.⁵

En pacientes en tratamiento con metilfenidato (Rubifen® y Concerta®) es obligatorio portar siempre con ellos un informe médico que acredite que están bajo el tratamiento de estas sustancias por prescripción médica y que no están utilizando sustancias ilegales derivadas de las anfetaminas, en caso de que dieran positivo en el narco test realizado por la Guardia Civil.

¹²

1.3.3. Cocaína

La cocaína puede ser consumida mediante inhalación, administración intranasal o intravenosa y permanece en sangre de manera inalterada aproximadamente una hora. Después, sufre metabolismo hepático transformándose en **benzoilecgonina**, el metabolito principal que es detectado en orina, hasta 3 días después de la exposición, tanto por los test rápidos inmunoquímicos, como por la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

El consumo de cocaína junto a alcohol puede dar lugar a la aparición de una molécula muy característica llamada **cocaetileno**, que permite el diagnóstico de un consumo simultáneo de etanol y cocaína mediante **cromatografía en capa fina de alta resolución** (HPTLC por sus siglas en inglés).⁵

1.3.4. Alcohol

El etanol es absorbido en el sistema gastrointestinal y metabolizado en un 99% por el hígado mediante la enzima alcohol deshidrogenasa y la aldehído deshidrogenasa, dando lugar a acetaldehído y ácido acético, respectivamente.

El contenido de alcohol se detecta en muestras de sangre mediante un método enzimático que permite la detección de NADH, producido en las reacciones químicas de las dos enzimas

involucradas en el metabolismo hepático del etanol, por su pico de absorción a 340 nm en cromatografía de gases.⁵

1.3.5. Cannabinoides

Para la detección rápida de los metabolitos de la marihuana en saliva, se utilizan test de detección rápida basados en la reacción de los cannabinoides -excepto el cannabidiol o CBD- con el reactivo de Duquenois o el reactivo "Fast-blue", dando lugar a un color azul-violeta.

Otra técnica de elección es la detección inmunoquímica del metabolito ácido 11-nor- Δ^9 -tetrahidrocannabinólico mediante marcaje con isótopo radiactivo (RIA), ya que permite el análisis cuantitativo en sangre, detectando una dosis tan baja como 2 pg/mL.

El 80% aproximadamente de la dosis de THC es eliminada en los primeros 5 días tras el consumo, principalmente a través de orina y heces; el resto puede detectarse hasta 30 días después en orina, debido a la circulación enterohepática, la reabsorción renal y la elevada distribución tisular.⁵

Las muestras biológicas pueden ser analizadas por cromatografía líquida y que presentan los siguientes picos: cannabidiol 278 nm, cannabinol 285 nm, Δ^9 -THC 278 nm y ácido Δ^9 -tetrahidrocannabinólico 278 nm y 283 nm.¹³⁻¹⁵

1.3.6. Fenciclidina

También conocida como polvo de ángel o PCP, es un antagonista no competitivo de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA). Su semivida es muy variable en función de características individuales y de método de consumo.

Sufre metabolismo hepático en un 90% de la dosis y puede detectarse en orina el producto hidroxilado hasta varios días después de su exposición.

El método de elección es la cromatografía con espectrometría de masas, ya que, las técnicas inmunoquímicas son poco específicas para PCP y frecuentemente dan reactividad cruzada con ciertos fármacos antipsicóticos.⁵

1.3.7. Khat

Es el nombre que recibe la droga derivada de la planta *Catha edulis*, cuyo principio activo más potente es el alcaloide conocido como catinona. Esta molécula puede detectarse en sangre hasta 10 horas después de su consumo.

Actualmente, no existen técnicas de cribado mediante inmunoensayos capaces de detectar catinona. La única manera de ser detectada es mediante técnicas cromatográficas.¹⁶

1.3.8. Gammahidroxiutarato (GHB)

Se absorbe con rapidez en el intestino y puede ser detectado en orina solamente hasta 12 horas después de ser consumido, lo que dificulta su detección.

El método de elección es HPLC para detectar tanto GHB como su precursor GBL, la forma lactónica.⁵

1.3.9. Benzodiazepinas

La mayoría de las benzodiazepinas son medicamentos de prescripción médica. Dentro de esta familia hay que prestar especial atención al flunitrazepam, principio activo del Rohipnol, conocido por su uso delictivo para anular la voluntad de víctimas e incapacitarlas, generalmente para llevar a cabo agresiones sexuales.¹⁷

Se pueden detectar mediante pruebas inmunoquímicas, RIA o ensayos inmunoenzimáticos, pero no son sustancias susceptibles de buscar en test rápidos.

El método analítico confirmatorio de elección es cromatografía de gases (GC-MS) o líquida de alta eficacia (HPLC) en sangre, orina y saliva.¹⁸

2. Objetivos

Este trabajo es una revisión bibliográfica del proceso de detección de drogas de abuso en muestras biológicas, que permite determinar sustancias psicoactivas o prohibidas o sus metabolitos de manera cuali y cuantitativa.

3. Material y metodología

Para realizar esta revisión bibliográfica se ha consultado la base de datos PubMed con el objetivo de encontrar artículos de revistas científicas relacionadas con el tema a tratar.

Las búsquedas iniciales realizadas incluían las palabras “DRUG” “DETECTION” y se utilizó como criterio de exclusión artículos de más de 10 años de antigüedad.

Para búsquedas específicas de sustancias se utilizó la búsqueda avanzada de artículos en PubMed incluyendo: (nombre de la sustancia en inglés) AND (DETECTION); y nuevamente con un filtro de artículos de menos de 10 años de antigüedad.

A su vez, y para contrastar la información encontrada en las bases de datos, se han consultado diferentes títulos que pueden encontrarse en la biblioteca de la facultad de Farmacia de la UCM, así como en la biblioteca on-line de la UCM en formato e-book.

4. Resultados y discusión

4.1. Características de los tejidos biológicos

4.1.1. Orina

Es la muestra más utilizada debido a la facilidad para la obtención (prueba no invasiva), el gran volumen de muestra que se recoge de una vez y la amplitud del intervalo de tiempo en el que se detectan las sustancias.

Los metabolitos actúan como marcadores biológicos del uso de la sustancia.

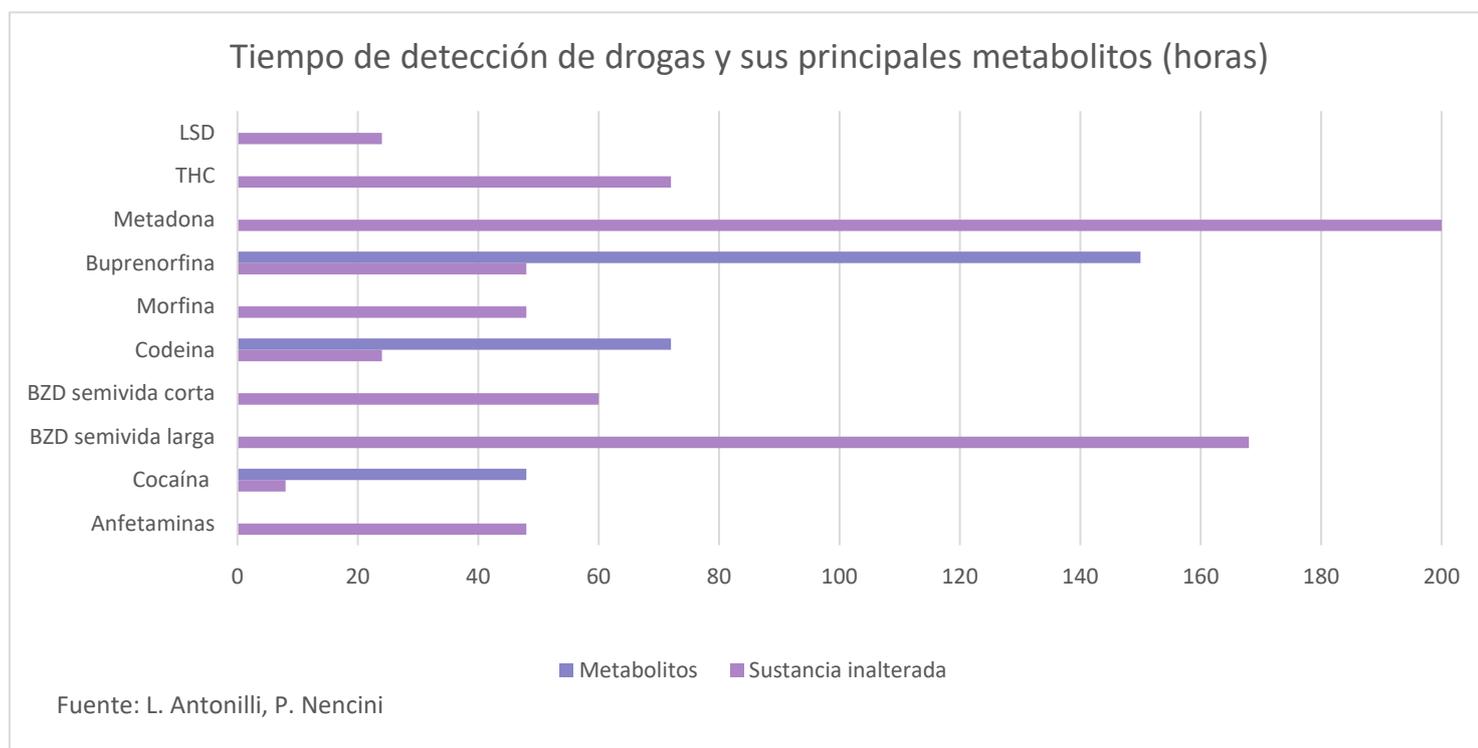
El margen temporal en el que se puede detectar la sustancia o sus metabolitos en orina depende de la farmacocinética de la sustancia química en sí y de la variabilidad intraindividual en el metabolismo y excreción.

En la Tabla 4 se puede observar el intervalo de tiempo durante el que se puede detectar cada sustancia -y sus metabolitos, si procede- en orina. La excepción sería el THC y sus derivados, que al ser moléculas de gran lipofilia y afinidad por los tejidos del organismo, aumentan el tiempo de detección en orina cuanto mayor sea la exposición en el tiempo (cronicidad); llegando a detectarse hasta 30 días después de la última exposición, en individuos que consumen a diario.

El análisis de la orina permite detectar numerosas sustancias, pero no proporciona información acerca del método de consumo o de la cantidad, solo permite un resultado cualitativo (positivo/negativo). Se debe tener especial cuidado con un resultado negativo, ya que, puede

haberse producido una exposición reciente de sustancias y que aún no se haya producido la excreción de estas (falso negativo).

Tabla 4. Gráfico de tiempo de detección de drogas y sus metabolitos en horas



Toma de muestras

La orina debe recogerse en un recipiente estéril, nuevo y limpio, que puede ser de 100 o 150mL, provenientes de una única micción (siempre descartando la primera parte de esta); o de 2L, en caso de requerir orina eliminada en 24 h.

Las muestras deben identificarse y rotularse inmediatamente y conservarse a 4°C tan pronto como sea posible.

4.1.2. Sangre

Es el método de elección en casos de intoxicación aguda y en investigación porque da un resultado cuantitativo difícilmente expuesto a adulteración de la cantidad presente en el organismo y permite detectar una exposición reciente, ya que las sustancias tienen una semivida en sangre corta.

Tabla 5. Semividas plasmáticas de las principales sustancias de abuso

	Sustancia	Semivida plasmática (horas)
Derivados opioides	Heroína	<5 min
	Morfina	3
	Glucurónido de morfina	7.5
	Codeína	3
	Metadona	36
Anfetaminas y análogos	Anfetaminas	12
	MDMA	6
Cocaína y metabolitos	Cocaína	1
	Benzoilecgonina	7.5

Benzodiazepinas	Diazepam (Valium [®])	48
	Flunitrazepam (Rohipnol)	25
Cannabis y metabolitos	Cannabinoides	25-28

Fuente: L. Antonilli, P. Nencini

Como inconveniente, supone un método más invasivo y que según circunstancias fisiológicas del individuo puede no ser recomendable (enfermedad, hipotensión, hipovolemia, agitación...). Además, si la muestra no se toma con la suficiente celeridad, es probable que la sustancia ya está distribuida por los diferentes órganos del cuerpo y sea indetectable en sangre.

Toma de muestras

Para la extracción de sangre, el primer paso es desinfectar la piel con alcohol durante unos 15 segundos aproximadamente, a excepción de que el objetivo de la extracción sea determinar alcoholemia, en cuyo caso se utilizara otro antiséptico no alcohólico (ej. jabón, povidona yodada). Después, se llevará a cabo la extracción de sangre mediante vía o jeringa directa, generalmente a partir de la vena, obteniendo un **volumen mínimo de 5 mL por tubo**; utilizando tubos heparinizados para prevenir la coagulación de la sangre. Estos tubos también contienen otras sustancias para inhibir la actividad enzimática como el fluoruro cálcico o el oxalato potásico.

Las muestras extraídas deben identificarse y rotularse inmediatamente y conservarse a 4°C tan pronto como sea posible.

Si el objetivo de la extracción incluye la detección de sustancias desconocidas se recogerá un volumen de 5 mL en una jeringa sin anticoagulante para poder separar suero.

Los recipientes utilizados en la extracción deben ser productos sanitarios de un único uso que en ninguna circunstancia deben enjuagarse con alcohol u otros disolventes orgánicos.¹⁹

4.1.3. Pelo

La naturaleza única de la estructura del pelo permite detectar sustancias en un periodo muy amplio de tiempo -de días hasta meses- desde la última exposición, además su posible adulteración es bastante improbable.

El pelo es una superficie hidrófoba compuesta de células queratinizadas. El interior está compuesto de proteínas fibrosas, en su mayoría α -queratina (muy higroscópica), junto a melanina, minerales y polímeros derivados de la tirosina en mayor proporción.

Se ha establecido que el pelo crece a una velocidad de 0,6-1,4 cm al mes dependiendo de características propias de cada individuo. En el crecimiento se han establecido tres fases: crecimiento (4-8 años) desde el folículo piloso, latencia (varias semanas) y telógena o de caída (4-6 meses). Se estima que en un adulto hay 5 millones de folículos, de los que un millón están en la cabeza.²⁰

Se cree que existen tres mecanismos para la incorporación de sustancias de abuso en el pelo:

- Difusión pasiva desde los capilares sanguíneos que riegan las células germinativas de los folículos pilosos
- Sudor y secreciones en la zona del cuero cabelludo
- Depósito de drogas que se encuentran en el ambiente

Esta última puede dar lugar a falsos positivos y es por ello por lo que debe lavarse adecuadamente una muestra de pelo antes de realizar ningún análisis.

La incorporación de las drogas a la matriz del pelo ocurre de la misma manera que en el resto de los tejidos, las moléculas lipófilas no ionizadas atraviesan fácilmente la barrera lipídica siguiendo una difusión pasiva a favor de gradiente de concentración.

El pH en el interior de las células de queratina es más ácido que el fisiológico (en torno a 3-5), lo que favorece que sustancias básicas como la heroína, morfina, cocaína y anfetaminas, entre otras, difundan y una vez en su interior se ionicen por el bajo pH, lo que favorecerá la unión a los extremos carboxílicos de la melanina presente en el pelo.

Ocurre lo contrario en moléculas ácidas como el Δ -9-tetrahidrocannabinol, ya que estas se encuentran ionizadas a pH fisiológico.

Esto permite la acumulación de sustancias a lo largo del tiempo, permitiendo conocer el perfil de consumo (exposición) de drogas del individuo.

Como inconveniente, se ha observado que los tratamientos capilares como el tinte, decoloración o rizado permanente que consisten en bases fuertes, pueden dañar la cutícula y melanina del pelo o incluso degradar las moléculas de las drogas que se encuentren en este.⁵

Después de varios estudios realizados en población consumidora de drogas de abuso, no se ha podido encontrar correlación exacta entre las concentraciones detectadas en el pelo con la dosis consumida por estos individuos. Lo que sí se ha observado en estos estudios es que las concentraciones medias obtenidas sí que se corresponden con un consumo alto, medio o bajo de drogas de abuso, lo que permite acotar la frecuencia de la exposición y si se realiza a dosis altas o bajas.²⁰

Para el consumo crónico del alcohol, es posible detectar los metabolitos etilglucurónido (EtG) y los ésteres etílicos de los ácidos grasos en el cabello.⁵

Toma de muestra

Se recomienda tomar la muestra de la zona occipital del cuero cabelludo ya que esta zona es la que presenta mayor estabilidad en velocidad de crecimiento, y está menos afectada por factores de edad o sexo.

Para el análisis, el mechón se trocea en segmentos de longitud variable, dependiendo de los requerimientos del caso, manteniendo siempre una longitud mínima de 1 cm, ya que, trozos inferiores no permitirían resultados seguros y precisos durante el período del mes que nos interesa.²⁰

4.1.4. Saliva

Debido al gran incremento en el consumo de opioides sintéticos en EEUU³, científicos del departamento de Ciencias Forenses de la Universidad de Houston, Texas desarrollaron un estudio para establecer un **protocolo válido** internacional para la detección de estas sustancias en saliva. Para ello utilizaron columnas de extracción de fase sólida y un cromatógrafo de líquidos con espectrómetro de masas incorporado.

Para analizar las muestras de saliva, se toma una pequeña cantidad del fluido y se mezcla con solución tampón y solución de patrón interno (ISTD por sus siglas en inglés) para obtener la concentración deseada. Esta solución se hace pasar a través de las columnas por gravedad, y después de aclarar con agua destilada y ácido acético y lavar con hexano después de dejarlo secar, las **moléculas ácidas** se eluyen utilizando acetato etílico y las **moléculas básicas**,

utilizando diclorometano: isopropanol: hidróxido de amonio (80:20:5), lavando con metanol entre medias.

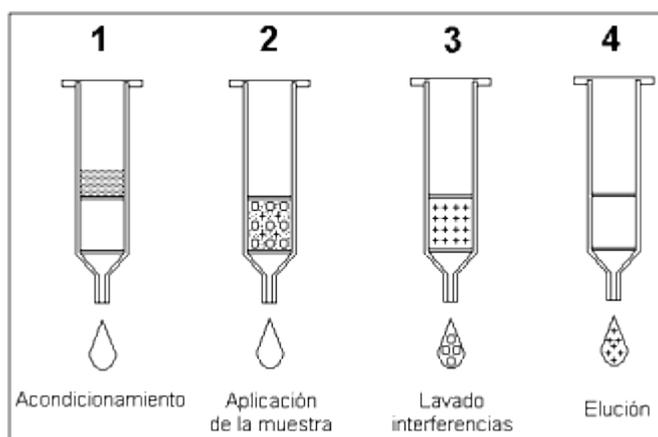


Figura 7. Pasos de extracción en columna de fase sólida

Los eluatos obtenidos se introducen a través del inyector en un cromatógrafo de líquidos (HPLC) y posteriormente se analizan en un espectrómetro de masas.²¹

Toma de muestra

Se frota enérgicamente un hisopo de algodón durante aproximadamente 60 segundos en la cavidad oral del individuo, por la zona interna de las mejillas y con cuidado de no tocar los dientes.

Algunas situaciones psicofísicas individuales, como la ansiedad, ciertas patologías o tratamientos farmacológicos pueden reducir o inhibir la producción de saliva y hacer imposible recoger la muestra.²¹

4.2. Trazabilidad y autenticidad de las muestras

Es importante el proceso de toma de muestras, pero también la cadena de custodia y cumplir con todos los procesos legales vigentes para asegurar la autenticidad de la muestra. Lo principal en un laboratorio de análisis toxicológico es asegurar que el personal responsable de la extracción, conservación y traslado de las muestras se encuentre adecuadamente entrenado y capacitado.²²

Esto es debido a la práctica frecuente por parte de los individuos que van a ser sometidos a análisis, de intentar adulterar y enmascarar las pruebas para evitar resultados positivos.

Dentro de la adulteración de pruebas, generalmente las de orina, diferenciamos dos tipos:

- Sustancias añadidas a la muestra, capaces de interferir con el cribado y el análisis confirmatorio, ricas en vitaminas y azúcares complejos.
- Ingesta de grandes volúmenes de líquidos y/o sustancias diuréticas con el fin de diluir las concentraciones de las sustancias buscadas en la orina.

Esto último ocurre con el Δ -9-tetrahidrocannabinol, que puede diluirse fácilmente para mantener concentraciones en orina por debajo del valor umbral del análisis de cribado.¹³

Hay otras sustancias como la cocaína, anfetaminas y opiáceos, que por su abundante presencia en orina (hasta 10 veces el valor umbral) no permiten el enmascaramiento por dilución. En estos casos, es habitual la técnica de sustitución (llamada coloquialmente “cambiao”) en la cual el individuo investigado entrega como muestra una sustancia no biológica, como suero fisiológico

enriquecido conocido como “*orina sintética*”²³, o una muestra de otro individuo que no ha consumido ninguna sustancia.⁵

En el caso de producirse una sustitución fraudulenta por parte del individuo al que se le ha requerido la muestra, el laboratorio de toxicología forense podría rápidamente determinar que la muestra no es de origen humano mediante análisis de pH, densidad, creatinina y grupos adulterantes oxidantes como nitritos, cromatos y enzima peroxidasa.

En la siguiente tabla se recogen las diferencias entre los valores normales de una muestra de orina y los valores anormales obtenidos en muestras diluidas, sustituidas y adulteradas.^{24,5}

Tabla 6. Valores normales en orina

	Creatinina	pH	Densidad	Nitritos
Orina normal	>22,5 mg/dL	5-7	1005-1035	<0,05 mg/dL
Orina diluida	>5 mg/dL < 10 mg/dL	>7	≈1000	-
Orina sustituida o sintética	≤ 2 mg/dL	4-10	≤1000	-
Orina adulterada	-	≤3 o ≥11	≤1000	5 mg/dL

Fuente: L. Antonilli, P. Nencini

4.3. Cadena de custodia

Previo al análisis de una muestra, se lleva a cabo la **fase preanalítica**, en la cual, cada laboratorio debe elaborar y cumplir un protocolo definido en guías e instrucciones en cuanto a toma, tratamiento y transporte de muestras se refiere. Es un conjunto de normas y recomendaciones que garantizan la autenticidad e identidad de una muestra. Estos protocolos están basados en los códigos de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)²⁵ pero siguen siempre lo establecido en la Ley Orgánica de regulación de las normas para la preparación y remisión de muestras objeto de análisis por el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, responsabilidad del Ministerio de Justicia.²²

El aspecto más importante en la detección de sustancias de abuso en muestras biológicas es asegurar que la muestra analizada es en todo momento, y hasta la obtención de resultados, la muestra que se recogió y que esta no ha sido alterada, sustituida o manipulada.

Para que esto sea posible, es fundamental la correcta recepción, registro y rotulado de las muestras, que incluirá como mínimo nombre o ID (si se pretende mantener anonimato) del individuo, facultativo que solicita, centro de análisis, prueba solicitada, identificador del personal que extrae, fecha, hora, etc. y el registro electrónico de todos los datos de identificación y condiciones de llegada de la muestra. También es obligatorio indicar si hay riesgo potencial de infección en el manejo de una muestra (ej. sangre VIH positiva)

Todos estos procesos están normalizados mediante el uso de formularios impresos, que deben ser revisados y firmados por cada individuo que haya entrado en contacto con la muestra, para después ser conservados el tiempo establecido por la ley.

Distinguimos tres tipos de cadenas de custodia:

- **Cadena de custodia abierta**: el seguimiento y tratamiento de las muestras está intervenido por diferentes organismos y entidades que pueden trabajar bajo diferentes normas.

- **Cadena de custodia cerrada:** todo el proceso desde la toma de la muestra hasta la obtención del resultado está controlado por una misma organización (generalmente, un mismo laboratorio)
- **Cadena de custodia mixta:** es la más habitual, es un tipo de cadena cerrada en la que el proceso está controlado por único organismo, pero reciben ayuda por parte de terceros: transportistas, logística, etc.

Las muestras deben almacenarse en condiciones de luz y temperatura óptimas para asegurar la estabilidad de estas y los analitos que contienen.

El transporte de las muestras debe mantener una temperatura de entre 4 y 8 °C para evitar la ruptura de la cadena de frío, excepto en los casos de muestras de pelo, que pueden mantenerse a temperatura ambiente.²⁶

Previa a la recolección de la muestra es necesario el **consentimiento firmado** por parte del individuo al que se le van a tomar las muestras.⁵

5. Conclusiones

El consumo de sustancias de abuso, entre las que incluimos sustancias como el alcohol, tabaco o cannabis, sigue siendo una actividad frecuente en la sociedad actual, y que se ha mantenido durante los años. Además, recientemente, se han detectado picos en las muertes por sobredosis de analgésicos de nueva síntesis, especialmente en EEUU. Aunque las principales sustancias que se buscan en muestras biológicas han cambiado poco durante el tiempo, también es importante que avancen las técnicas de análisis según aparecen nuevas sustancias y métodos de enmascaramiento.

Es por ello por lo que se requiere un método validado y preciso para la detección de estas sustancias en las muestras biológicas de un individuo. Desde el primer análisis o prueba inicial, es importante tener dispositivos específicos y sensibles en los puntos donde se realizan, y homologados por organismos oficiales para asegurar un correcto cribado entre las personas que se someten a estas pruebas, como ocurre en los test de alcoholemia y de drogas que se realizan en los controles de la Guardia Civil.

En caso de obtener positivos a pruebas iniciales, es crucial realizar un segundo análisis que de un resultado confirmatorio inequívoco y que, idealmente, sea poco invasivo, como un análisis de orina.

Un resultado positivo en una prueba inicial no proporciona información sobre cantidad, tiempo ni vía de exposición a la sustancia. Tampoco confirma con certeza que la exposición se haya producido, pudiendo dar un resultado falso positivo por interferencias o reactividad cruzada, o incluso un error en la toma de la muestra.

Un resultado negativo en una prueba inicial indica no exposición a la sustancia de interés. Sin embargo, debe tenerse en cuenta el tiempo de eliminación de dicha sustancia; por lo tanto, un resultado negativo no significa necesariamente que el individuo no se haya expuesto.

6. Referencias bibliográficas

1. Caudevilla Gállego F. Drogas: conceptos generales, epidemiología y valoración del consumo. Grupo de Intervención en Drogas semFYC; 2004. p. 1–13.
2. Instituto nacional de estadística (INE). Encuesta sobre alcohol y otras drogas en España (EDADES) 2017. Madrid; 2017.

3. Donnell JKO, Halpin J, Mattson CL, Goldberger BA, Gladden RM. Deaths Involving Fentanyl , Fentanyl Analogs , and U-47700 — 10 States , July – December 2016. 2017;66(43):1197–202.
4. Gobierno de España. Estadística Del Control Del Dopaje. Ministerio de Educación Cultura y Deporte. 2018.
5. Antonilli L, Nencini P. 34. Abuso de drogas. In: Medicina de laboratorio: fundamentos y aplicaciones en el diagnóstico clínico. Panamericana; 2015. p. 1055–84.
6. Logan BK, D’Orazio AL, Mohr ALA, Limoges JF, Miles AK, Scarneo CE, et al. Recommendations for toxicological investigation of drug-impaired driving and motor vehicle fatalities-2017 update. J Anal Toxicol. 2018;42(2):63–8.
7. Skoog DA, West DM, Holler J, Crouch SR. Espectrometría de masas. In: Fundamentos de química analítica. 2015. p. 806–15.
8. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Análisis forense de sustancias que facilitan la agresión sexual y otros actos delictivos. In: Naciones Unidas. Nueva York; 2013. p. 9–13, 31–2.
9. SECURETEC. Instrucciones de uso DrugWipe 5S. 2018.
10. Ríos DC, Guisán MC, Jorge OQ. Evaluación del dispositivo Draeger Drugutest 5000 Para la detección de drogas de abuso en saliva. [Internet]. Servicio de Toxicología Forense. Instituto Universitario de Medicina Legal. Santiago de Compostela; 2011. Available from: <http://www.dgt.es/Galerias/seguridad-vial/investigacion/estudios-e-informes/INFORME-EVALUACION-DEL-DISPOSITIVO-DRAEGER-DRUGTEST-17.pdf>
11. Colado MI. Éxtasis (MDMA) y drogas de diseño: Estructura, farmacología, mecanismos de acción y efectos en el ser humano. Trastor Adict. 2008;10(3):175–82.
12. Janssen. Folleto informativo Concerta®. Chile; 2015.
13. Toennes SW, Schneider K, Wunder C, Kauert GF, Moeller MR, Theunissen EL, et al. Influence of Ethanol on the Pharmacokinetic Properties of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in Oral Fluid. J Anal Toxicol [Internet]. 2013 Feb 20;37(3):152–8. Available from: <https://doi.org/10.1093/jat/bkt002>
14. Dobri SCD, Moslehi AH, Davies TC. Are oral fluid testing devices effective for the roadside detection of recent cannabis use? A systematic review. Public Health [Internet]. 2019;171:57–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2019.03.006>
15. Lema-Atán JÁ, de Castro A, Lendoiro E, López-Rivadulla M, Cruz A. Toxicological oral fluid results among Spanish drivers testing positive on on-site drug controls from 2013 to 2015. Drug Alcohol Depend [Internet]. 2019;195:106–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2018.12.003>
16. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito. Métodos recomendados para la identificación y el análisis de las catinonas sintéticas en los materiales incautados. Viena; 2016.
17. National Institute on Drug Abuse (NIDA). Las drogas de club (GHB, ketamina y Rohypnol®). Current Clinical Neurology [Internet]. 2009; Available from: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/drugfacts/las-drogas-de-club-ghb-ketamina-y-rohypnolr>
18. Qriouet Z, Qmichou Z, Bouchoutrouch N, Mahi H, Cherrah Y, Sefrioui H. Analytical Methods Used for the Detection and Quantification of Benzodiazepines. J Anal Methods Chem. 2019;1–11.
19. Departamento de Salud Ambiental. Guía para la obtención, conservación y transporte de muestras para análisis toxicológicos [Internet]. Ministerio de Salud de la Nación. Buenos Aires, Argentina: Departamento de Salud Ambiental. Dirección Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación; 2016. Available from: <https://www.google.com/search?client=firefox-b->

d&q=muestras+d+orina+en+intoxicaciones+

20. Jurado Montoro C. Análisis de drogas de abuso en muestras de pelo. Diagnóstico del consumo crónico. *Trastor Adict.* 2007;9(3):172–83.
21. Truver MT, Swortwood MJ. Quantitative Analysis of Novel Synthetic Opioids, Morphine and Buprenorphine in Oral Fluid by LC-MS-MS. *J Anal Toxicol.* 2018;42(8):554–61.
22. Ministerio de Justicia. Orden JUS/1291/2010 por la que se aprueban las normas para la preparación y remisión de muestras objeto de análisis por el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses [Internet]. *Boletín Oficial Del Estado (BOE)* 2010 p. 43459. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/2010/12/17/pdfs/BOE-A-2010-19389.pdf>
23. CleanU. Synthetic urine [Internet]. [cited 2019 Nov 23]. Available from: <https://www.cleanurin.de/es/cleanurin>
24. Merck Sharp & Dohme (MSD). Manual de valores normales en análisis de orina. 2018. p. 1–2.
25. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Manual de buenas prácticas de laboratorio [Internet]. Sevilla; 2007. Available from: [http://www.icms.us-csic.es/sites/icms.us-csic.es/files/Manual de buenas prácticas en laboratorios.pdf](http://www.icms.us-csic.es/sites/icms.us-csic.es/files/Manual%20de%20buenas%20pr%C3%A1cticas%20en%20laboratorios.pdf)
26. Repetto Kuhn G, Repetto Jiménez M. Análisis químico-toxicológico. In: *Toxicología fundamental*. 4ª ed. Diaz de Santos; 2009. p. 493–519.

Índice de abreviaturas:

A*: antígeno marcado

A: antígeno

A-Ac: complejo antígeno-anticuerpo

Ac: anticuerpo

GC: cromatografía de gases

GC-MS: cromatografía de gases unida a espectroscopia de masas

HPLC: high performance liquid chromatography, en español: cromatografía de líquidos de alta eficacia

ISTD: solución de patrón interno

LC: cromatografía de líquidos

LC-MS: cromatografía de líquidos unida a espectroscopia de masas

LSD: dietilamida de ácido lisérgico

MS: espectroscopia de masas

p.: página

THC: Δ -9-tetrahidrocannabinol