



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA
DETERMINACIÓN DE DROGAS.

Autor: Sara Lucas Hernández

Fecha: Julio 2020

Tutor: Dña. Laura Martín Carbajo

ÍNDICE

1	RESUMEN	3
2	INTRODUCCIÓN	4
2.1	DROGAS PSICOACTIVAS O PSICOTRÓPICAS.	5
2.1.1	Alucinógenas/psicodélicas.	5
2.1.2	Depresoras.	7
2.1.3	Estimulantes.	9
3	OBJETIVOS	9
4	MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
5.1	FACTORES QUE AFECTAN AL DESARROLLO DE LA TÉCNICA.....	10
5.1.1	Factores preanalíticos	11
5.1.2	Factores analíticos.....	12
5.2	ETAPAS DEL PLAN ANALÍTICO.	13
5.2.1	Cribado de tóxicos (5) (20).	13
5.2.1.1	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay – ELISA:.....	13
5.2.1.2	RadiolImmunoAssay – RIA:	14
5.2.1.3	Kinetic Interaction of Microparticles in Solution – KIMS.....	15
5.2.1.4	Cloned Enzyme Donor ImmunoAssay – CEDIA.....	15
5.2.2	Confirmación de la presencia de tóxicos.....	16
5.2.2.1	Cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC/MS).	16
6	CONCLUSIONES	18
7	BIBLIOGRAFÍA	19

1 RESUMEN

El empleo de drogas tanto de origen vegetal como sintético para el tratamiento de distintas afecciones con el fin de mejorar la calidad de vida es algo común desde el origen del ser humano.

Las múltiples drogas disponibles en el reino vegetal, y que posteriormente se consiguieron elaborar en los laboratorios, en ocasiones, han sido fruto de un uso desmesurado e inadecuado. Si bien su principal cometido es el de mejorar, en la medida de lo posible, aquellas enfermedades que interfieren con nuestro estilo de vida muchas veces han acabado siendo el origen de problemas de gran importancia y de mal pronóstico.

En especial, ciertos grupos terapéuticos conocidos coloquialmente como “drogas de abuso”, sustancias que se han empleado para el tratamiento de enfermedades como son la depresión, el dolor, la ansiedad, la epilepsia, etcétera por su efecto a nivel central, y que son susceptibles de un mal uso. También entran dentro de este grupo fármacos que ya no se emplean en la terapéutica, por su perjuicio a la salud, pero tienen gran relevancia toxicológica. Su uso puede acarrear serios problemas si estas drogas son empleadas con fines fraudulentos e incluso ser las causantes del desarrollo de otras enfermedades y en los peores casos, ser motivo de producir la muerte.

En esta memoria, nos centraremos en distinguir la variedad de grupos terapéuticos de interés en el laboratorio toxicológico, sus efectos a nivel del organismo, y aquellos métodos analíticos que nos facilitan su detección para poder realizar un diagnóstico correcto de él o de los agentes desencadenantes de la intoxicación y poner en marcha una solución terapéutica lo más acertada y temprana posible.

ABSTRACT

From the origin of the human being, the use of drugs of both plant and synthetic origin for the treatment of different illnesses in order to improve the quality of life has been a common issue.

The multiple drugs available in the plant kingdom, which were subsequently managed in laboratories, have sometimes been the result of excessive and inappropriate use. Although its main task is to improve, as far as possible, those diseases that interfere with our lifestyle, they have often ended up by being the origin of problems of great importance and a poor prognosis.

In particular, certain therapeutic groups colloquially known as "drugs of abuse". These substances have been used for the treatment of diseases such as depression, pain, anxiety, epilepsy, etc. due to their central effect, and which are susceptible to misuse. Also included in this group are drugs that are no longer used in therapeutics, due to their harm to health, and they still have great toxicological relevance. Their use can cause serious problems if these drugs are used for fraudulent purposes. Furthermore, they can even be the cause of the development of other diseases and in the worst cases, cause death.

In this report, we will focus on distinguishing the variety of therapeutic groups of interest in the toxicological laboratory and their effects at the organism level. At the same time, we look for those analytical methods that facilitate their detection in order to make a correct

diagnosis of it or of the triggering agents of poisoning and implement a therapeutic solution as accurate and early as possible.

PALABRAS CLAVE: drogas de abuso, intoxicación, método analítico, laboratorio toxicológico, screening toxicológico

2 INTRODUCCIÓN

Para poder iniciar nuestra investigación debemos hacer hincapié en la definición de algunos conceptos que nos ayudarán a sentar las bases de este artículo.

Cuando nos referimos a la palabra *droga*, existen múltiples acepciones en función del contexto en el que nos situemos, sin embargo, en esta ocasión nos es útil la que se emplea en el ámbito de la medicina y la farmacología:

“Término de uso variado. En medicina se refiere a toda sustancia con potencial para prevenir o curar una enfermedad o aumentar la salud física o mental y en farmacología como toda sustancia química que modifica los procesos fisiológicos y bioquímicos de los tejidos o los organismos. De ahí que una droga sea una sustancia que está o pueda estar incluida en la Farmacopea.” (1)

En base a esta definición, podemos observar que droga y fármaco son términos idénticos, sin embargo, la palabra droga en el lenguaje coloquial hace referencia a *drogas psicoactivas*. Dicho grupo de drogas se define a su vez como: *“Sustancia que afecta a la mente o a los procesos mentales. En sentido estricto, una sustancia psicoactiva o psicotrópica es cualquier sustancia química que ejerce sus efectos principales o importantes en el sistema nervioso central (SNC). Algunos autores aplican el término a los medicamentos que se utilizan fundamentalmente en el tratamiento de los trastornos mentales: ansiolíticos, sedantes, antidepresivos, antimaníacos y neurolépticos. Otros utilizan este término para referirse a las sustancias que tienen un elevado potencial de abuso debido a sus efectos sobre el estado de ánimo, la conciencia o ambos: estimulantes, alucinógenos, opiáceos, sedantes/hipnóticos (incluido el alcohol), etcétera” (1)*

Debido a la acción que producen a nivel del sistema nervioso central estas drogas, causan en la persona que las consume sensación de satisfacción e incluso un impulso psíquico, y en ocasiones también físico, que empuja a tomarlas de manera continua en busca de una sensación placentera y de alivio. (2) Este uso continuado y compulsivo de la droga produce una serie de consecuencias de gran relevancia, perjudicando la salud del que los consume, en contraposición al efecto que cabe esperar de las mismas. Estas consecuencias se traducen en una serie de respuestas fisiológicas que describimos a continuación:

- a) Adicción: *“Consumo repetido de una o varias sustancias psicoactivas, hasta el punto de que el consumidor (denominado adicto) se intoxica periódicamente o de forma continua (...) tiene una enorme dificultad para interrumpir voluntariamente o modificar el consumo de la sustancia y se muestra decidido a obtener sustancias psicoactivas por cualquier medio”. (1)*

El denominado adicto es incapaz de poner límites a su consumo, incluso cuando este es perjudicial y produce problemas significativos. La toma de la sustancia interfiere con su vida personal, hasta el punto de abandonar responsabilidades como el trabajo, únicamente para obtener la droga. El sujeto es capaz de anteponer el consumo a cualquier otra cosa.

- b) Tolerancia: es el resultado de, consumir una droga de una forma continuada y que el organismo se habitúe a ella. La tolerancia es la cualidad de una sustancia de que con el uso continuado y con la misma dosis, produzca un efecto paulatinamente menor.
(2) En consecuencia, se desarrolla dependencia psíquica y física (1).

Consumir de manera continua y durante un período de tiempo prolongado estas sustancias, produce una serie de cambios en el órgano en el que ejercen su acción, en este caso el sistema nervioso central. Se denominan cambios neuroadaptativos, considerándose la etiología fisiológica del síndrome de abstinencia. No aparecen con un consumo puntual o en períodos cortos, es necesario un uso continuado, provocando que el cese brusco de la administración genere tal malestar en el paciente que este sienta la necesidad de volver a consumir la droga para que su organismo continúe realizando procesos fisiológicos de manera normal. Ese malestar en el paciente se manifiesta en síntomas de tipo físico como mareos, sudoración, falta de apetito, dificultad para dormir, intranquilidad, etcétera y también de carácter psicológico como cambios en la conducta, irritabilidad y deseo intenso por consumir la droga (3).

Los dos tipos de síntomas son característicos de este síndrome, pero el desarrollo de este no se produce tras el consumo de todas las drogas psicoactivas, ni es exclusivo de este grupo. Cada droga tendrá un síndrome de abstinencia de diferente intensidad y duración en función de cómo interactúe con nuestro cuerpo, y en especial con el sistema nervioso central haciendo que predominen unos síntomas u otros. Además, existen otros factores que determinarán en qué medida se sufrirá este síndrome como: predisposición genética, tipo de droga, cantidad tomada, vía de administración, enfermedades mentales concomitantes, etcétera (4)

Por todas estas características, las drogas psicoactivas son consideradas como drogas susceptibles de un uso ilícito, puesto que su adquisición está prohibida si no ha sido administrada bajo el control y la prescripción de un médico especialista para tratar enfermedades concretas. Además, muchas de ellas ya no se emplean en la clínica ya que se ha observado que la relación beneficio/riesgo es desfavorable y su uso tiene consecuencias negativas en la salud. Son una de las responsables de mayor número de intoxicaciones referidas en la práctica clínica y también de gran interés en el ámbito jurídico y policial, debido al tráfico que existe en torno al consumo ilegal de las mismas.

En las intoxicaciones por estas drogas, es crucial conocer la naturaleza de la sustancia, cuantificarla para determinar la gravedad de dicha intoxicación y sus consecuencias en el organismo, así como establecer un pronóstico y la posible estrategia terapéutica que ha de seguirse para subsanarla (5) (6).

2.1 DROGAS PSICOACTIVAS O PSICOTRÓPICAS.

Para identificar el causante del cuadro toxicológico, debemos conocer la estructura de estas drogas, centrándonos en esta ocasión en las drogas psicotrópicas o psicoactivas.

Las drogas psicoactivas, se dividen a su vez en tres grupos distintos en función de su acción predominante en el SNC:

2.1.1 Alucinógenas/psicodélicas.

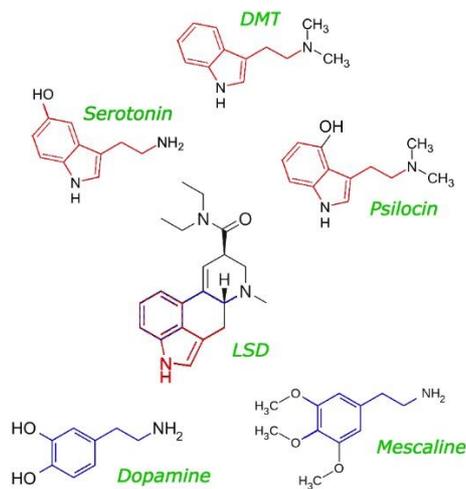
Varios ejemplos son el **THC** (delta-9-tetrahidrocannabinol), el **LSD** (dietilamida del ácido lisérgico) y **derivados de mescalina**.

Con el consumo de estas drogas se consigue que nuestra percepción de la realidad cambie, percibiendo de manera distinta la distancia y el tiempo, las emociones de manera más intensas e incluso algunos sujetos afirman ver colores o formas inusuales y escuchar sonidos extraños (7) (8).

El mecanismo de acción del LSD y los derivados de la mescalina es similar, debido a las similitudes estructurales de estas drogas con los neurotransmisores serotonina, dopamina y noradrenalina, interfiriendo en el papel que ejercen dichas moléculas endógenas en los circuitos neuronales.

La mescalina tiene grandes similitudes estructurales con la dopamina (8) (9).

En el caso del LSD, interfiere con las funciones de la serotonina al ser un agonista parcial del receptor de este neurotransmisor. La serotonina (5-HT) está implicada en la regulación del estado de ánimo, los sentidos, el apetito, las emociones, el deseo sexual, la temperatura corporal, etcétera (7). Al unirse a este receptor presináptico, lo bloquea inhibiendo la liberación de serotonina, lo que explicaría los efectos del LSD en las funciones descritas anteriormente (8).



(10)

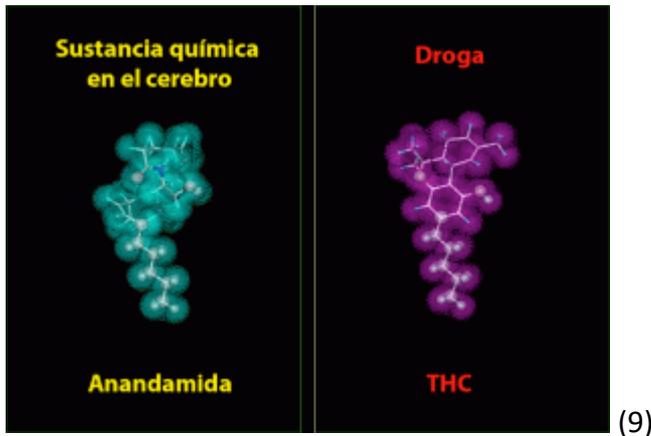
A diferencia de otras drogas psicoactivas, este grupo en general carece de un efecto adictivo, aunque existen excepciones. El consumidor no experimenta un deseo incontrolable por consumir la droga, sin embargo, se pueden desarrollar fenómenos de tolerancia como en el caso de LSD, de tal forma que paulatinamente necesitaremos consumir mayor cantidad de droga para experimentar los efectos iniciales, siendo especialmente peligroso por el comportamiento impredecible de esta droga (7).

Por lo general, el consumo es con fines recreativos y puntuales y los casos de intoxicación o sobredosis no son frecuentes, o por lo menos el consumo de dosis altas, no produce efectos adversos graves o mortales (7).

El THC es el principal compuesto psicoactivo de la marihuana, resina fruto de la mezcla de hojas y brotes de la planta hembra *Cannabis sativa* (9)

Los efectos de esta sustancia tienen que ver con su similitud estructural con la anandamida, un cannabinoide endógeno. Esta molécula, actúa como neurotransmisor en el llamado sistema endocannabinoide, una red neuronal implicada en el placer, la memoria, el pensamiento, la concentración, la percepción del tiempo y el espacio. La similitud entre ambas provoca que la unión del THC a los receptores cannabinoideos de las neuronas de este sistema, provoque una interferencia en el desarrollo normal de las múltiples funciones

mentales y físicas que controla, teniendo como resultado los efectos típicos de las drogas alucinógenas descritas antes (11)



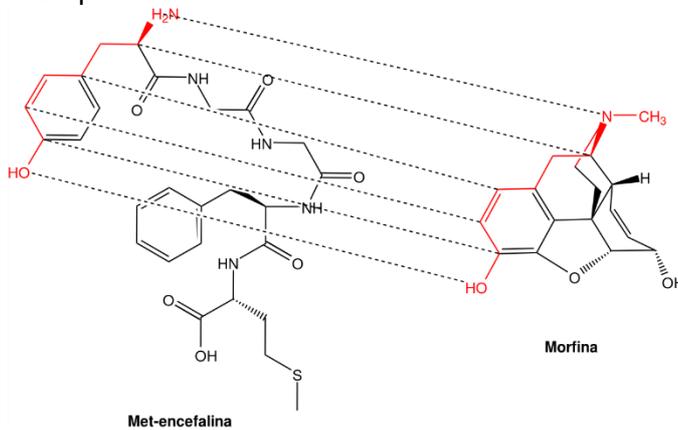
En el caso de esta droga, se observa síndrome de abstinencia al dejar de consumirla, ya que el cerebro disminuye la síntesis de manera endógena de cannabinoides y la sensibilidad a sus efectos, de tal forma que la persona que experimenta un cese en el consumo, comienza a sufrir malestar físico como irritabilidad, falta de apetito, dificultad para conciliar el sueño, y un fuerte deseo por volver a consumir la droga, aunque la clínica en este caso no es tan grave como la que se produce con otras sustancias (12).

2.1.2 Depresoras.

Son: **opioides, opioides sintéticos, barbitúricos y benzodiacepinas.**

Este grupo de fármacos se emplea para suprimir ciertos impulsos nerviosos no deseados como puede ser el dolor, pero también ejercen acciones como sedantes, tranquilizantes e hipnóticos.

Los opioides reciben este nombre por el opio, que es un látex que se obtiene a partir de las cápsulas inmaduras de la amapola o adormidera muy rico en alcaloides, los responsables de su actividad. Su estructura química es muy similar al de las endorfinas, encefalinas y dinorfinas, que son péptidos opioides endógenos que actúan como neurotransmisores. Estas se unen de manera específica a los receptores opioides situados en el cerebro y el resto de nuestro cuerpo.



Este receptor está compuesto por distintas subunidades, cada una con múltiples funciones, aunque todas tiene una en común: la unión a ellas produce analgesia. También puede darse

sedación, enlentecer el tránsito intestinal e incluso regular el centro respiratorio, disminuyendo la frecuencia respiratoria, de ahí su uso como antitusígenos (14).

Los opioides de origen natural son la morfina, la codeína y la tebaína y están presentes en el opio. Existen derivados semisintéticos que se sintetizan en el laboratorio a partir de opioides naturales y algunos ejemplos son la hidrocodona, oxicodona y heroína. También se sintetizan de forma completa algunos opioides, los opioides sintéticos como el fentanilo (15).

Todos los opiáceos se unen con gran afinidad a los receptores opioides, bloqueando la transmisión neuronal impidiendo que ciertos impulsos nerviosos se envíen a nivel del cerebro, la médula espinal, el intestino y también a nivel del centro respiratorio, pudiendo causar una parada de la respiración, uno de los principales problemas de estas drogas. Sus efectos principales los ejercen a nivel del cerebro, donde se encuentra el centro de recompensa, un área con numerosos receptores opioides. La unión a estos produce la liberación de grandes cantidades de dopamina, neurotransmisor que produce relajación y euforia. Estos efectos al consumir la droga son los que pueden llevar a una adicción (15).

Su consumo debe ser puntual y siempre bajo el control y prescripción de un médico especialista para el tratamiento de dolores oncológicos, dolores crónicos o puntuales y muy intensos, diarreas severas, etcétera. Aun así, por sus fuertes efectos son susceptibles de generar adicción y desembocar en una fuerte dependencia siendo una de las sustancias que mayor síndrome de abstinencia producen al dejar de tomarlos, ocasionando vómitos, escalofríos y dolores musculares y de huesos, entre otros. Las intoxicaciones por estas drogas son muy comunes, especialmente en los casos en los que se consumen junto con alcohol u otros fármacos sedantes, se consume más cantidad de la prescrita o por otras vías de administración a la indicada (16).

El pronóstico de la intoxicación por opiáceos es variable en función de si se ve afectada o no la función respiratoria. En cualquier caso, una intoxicación siempre se aborda realizando un control de la función respiratoria y con soporte respiratorio en caso de que fuese necesario. Además, existe un fármaco, la naloxona, que revierte los efectos de los opiáceos a nivel del sistema nervioso central. La gravedad del cuadro dependerá también de la cantidad que se haya consumido, el tiempo que se consuma, y sus efectos a nivel del organismo. Si no se aborda con rapidez, puede tener efectos adversos muy graves o mortales (16)

Otros depresores del sistema nervioso central son los barbitúricos y las benzodiacepinas. El uso de las últimas ha experimentado un gran aumento por su versatilidad. Los barbitúricos se usan con menos frecuencia actualmente porque tienen mayor riesgo de producir intoxicaciones que las benzodiacepinas (15). Ambas tienen un mecanismo de acción similar, no idéntico, que se basa en el aumento de un neurotransmisor inhibitorio, el GABA (ácido gamma-aminobutírico). Este aumenta la inhibición de la actividad cerebral, de ahí que sean usados para la ansiedad, el insomnio por el letargo que producen, etcétera (15).

Cuando comienzan a consumirse estos fármacos, es usual sentirse somnoliento y aletargado, pero rápidamente el cuerpo se acostumbra y a medida que pasa el tiempo, desarrolla tolerancia a sus efectos siendo necesario consumir más cantidad. Esto desemboca en dependencia y síndrome de abstinencia como ya hemos comentado. Sin embargo, en el caso de los depresores del sistema nervioso central, el cese de su consumo produce un fuerte efecto rebote manifestándose en forma de convulsiones que pueden generar problemas más graves por ello es importante que, siempre que se quiera dejar de consumirlos, se haga bajo control médico (15). Si bien las intoxicaciones por benzodiacepinas son complicadas, no suelen tener un desenlace fatal, pero las producidas por el consumo excesivo de barbitúricos

pueden ocasionar coma, conmoción cerebral por caídas y la muerte por fallos respiratorios y cardíacos (17).

2.1.3 Estimulantes.

Son la cocaína, anfetamina y metanfetaminas como el MDMA (3,4-metilenedioximetanfetamina).

La cocaína es de origen natural y su estructura es de alcaloide tropánico.

Por su parte las anfetaminas y metanfetaminas son de origen sintético, siendo la última de mayor potencia y con mayores efectos en el cerebro. También la que tiene una duración de los efectos mayor, ya que el organismo tarda más en eliminarla (18).

Los efectos de estas drogas son aumentar la actividad cerebral (1), es decir, causan mayor rapidez mental y mantienen alerta a las personas que las consumen, acciones muy útiles en el tratamiento de enfermedades como TDAH (trastorno por déficit de atención e hiperactividad). Sin embargo, su uso con fines recreativos ocasiona muchos problemas ya que, del mismo modo, que aumentan la energía y la agilidad, también aumentan la frecuencia cardíaca y la respiratoria pudiendo dar lugar a un colapso orgánico (15).

Estos estimulantes actúan aumentando las concentraciones de dopamina por bloqueo del enzima MAO (monoaminoxidasa), cuya función es la de degradación de monoaminas como la dopamina, la noradrenalina, etcétera una vez realiza su función. Al no ser degradadas, sus niveles aumentan en el espacio sináptico neuronal, produciendo una oleada de los efectos de la dopamina que son la euforia y también de la noradrenalina, que causa un aumento de la presión arterial y de la frecuencia respiratoria (15) (19). Como pasa con todas las drogas psicoactivas, llega un punto en el que el excesivo consumo de la droga hace que el organismo tolere sus efectos y necesite consumir más cantidad para sentirlos, lo que conduce a una intoxicación fruto del consumo abusivo. Las consecuencias clínicas de esta pueden variar en función de los órganos y estructuras que se vean afectadas, pero a menudo cursan con problemas cardíacos o de colapsos por la falta de riego sanguíneo (19).

Nuevamente, un cese abrupto en la toma da lugar a manifestaciones clínicas variadas como depresión, fatiga y aumento del apetito fruto del síndrome de abstinencia que aparece (19).

3 OBJETIVOS

La presente memoria bibliográfica, busca conocer la naturaleza y estructura de las moléculas que conforman distintos grupos terapéuticos clasificados como “drogas de abuso”, con el fin de seleccionar el método analítico adecuado para su detección, determinación y cuantificación pudiendo establecer un pronóstico y un tratamiento al problema que generen.

Además, se hará una discusión de la selectividad, eficacia y rapidez de los distintos métodos analíticos empleados, así como la explicación del desarrollo de las técnicas.

4 MATERIAL Y MÉTODOS.

La información empleada para la realización de este trabajo se ha obtenido mediante el estudio de una amplia bibliografía centrada en drogas de abuso y su detección en el laboratorio. Para ello se han empleado bases de datos científicas y especializadas, revistas científicas y organismos y agencias internacionales y nacionales como son: Pubmed,

Medline, Ministerio de Sanidad y Consumo de España, National Institute on Drug Abuse (NIDA), Google Scholar, etcétera.

Toda la búsqueda realizada se ha llevado a cabo en soporte digital, en castellano y en inglés y usando para ello palabras clave como: “drug abuse”, “screening toxicológico”, “método analítico”, intentando seleccionar aquellas fuentes lo más actualizadas posibles.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El laboratorio toxicológico tiene un papel muy importante a la hora de evaluar el alcance de una intoxicación, ya sea accidental o fruto de un consumo abusivo de drogas de cualquier tipo (5) (20) o simplemente permite conocer si el sujeto consume una determinada droga (20).

Nos ayuda a conocer la etiología de la intoxicación que generalmente es de tipo mixto, es decir, está causada por varios agentes y es inusual que sea por uno solo (5); permite llevar un seguimiento del tratamiento de pacientes, ya sea porque se encuentran en situaciones de vigilancia especiales (enfermedades renales, hepáticas, embarazo...), y se quiere conocer si se está siguiendo o no de forma adecuada un tratamiento (5) o porque se busca monitorizar el tratamiento de una persona adicta (20).

En función del objetivo que tengamos, haremos hincapié en unas características de los métodos analíticos o en otras. Si buscamos saber cuál ha sido el motivo de una sobredosis o intoxicación, necesitamos que la técnica analítica empleada sea rápida ya que esto nos permitirá, junto con los signos clínicos que se manifiesten, actuar rápidamente a la hora de establecer una solución terapéutica (20) (5). Por otro lado, si buscamos monitorizar un tratamiento o conocer la presencia o la ausencia de una droga en particular, no necesitamos que la técnica sea rápida, buscaremos que esta sea específica y precisa (20). Al mismo tiempo debemos tener en cuenta que el laboratorio toxicológico cuenta con una serie de limitaciones (6) como son “*insuficiencias de los métodos analíticos, calidad de las técnicas analíticas y la variabilidad intra e interindividual del sujeto (absorción, distribución, metabolismo, eliminación o asociación a otras sustancias)*” (6) que determinarán cómo se interpretan los resultados y cuál será el diagnóstico final. Además, no todos los laboratorios tienen el mismo alcance, y no están igual de avanzados en materia tecnológica o de profesionales de laboratorio por cuestiones económicas (5). Se dispondrá de unos equipos u otros en función de las técnicas que se vayan a emplear, lo cual siempre viene determinado por el tóxico que se quiera analizar (5). Para ello se deben llevar a cabo estudios de epidemiología local, atender a los de informes de alerta sanitaria por la aparición de nuevas drogas o aumento en el consumo de las ya conocidas y prestar especial interés por aquellos tóxicos que generen mayor impacto clínico (5).

5.1 FACTORES QUE AFECTAN AL DESARROLLO DE LA TÉCNICA.

Previamente a la elaboración del análisis de sustancias tóxicas, hay una serie de factores a tener en cuenta para poder realizarlo de forma correcta y, sobre todo, que los resultados que se obtengan puedan ser interpretados de manera adecuada para llevar a cabo la mejor estrategia terapéutica (5) (6) (20).

5.1.1 Factores preanalíticos

Existen **factores preanalíticos** (20) de interés como son la droga consumida, la dosis, la vía de administración, la frecuencia de consumo, su metabolización por el cuerpo, la variabilidad genética entre individuos e incluso la técnica empleada para determinar la droga (20). Son de especial interés estas características, puesto que determinarán que el tiempo de detección de la droga sea específico y limitado. Fuera de este período podemos obtener un falso negativo (20).

Así cada droga contará con unos tiempos de detección en la muestra tras su consumo. Algunos ejemplos de estos tiempos medidos en días en muestras de orina son: *“anfetaminas 1-2, benzodiazepinas 3-10 según frecuencia de consumo, barbitúricos 4-7 según vida media del fármaco, cocaína, opiáceos y metanfetaminas 3 días o cannabinoides 28”* (5).

Material de muestra

El material de muestra también es relevante ya que cada uno tiene sus ventajas y desventajas, además no todos serán susceptibles de ser analizados por el mismo método (20).

Si el material de muestra es la sangre, la correlación entre el consumo y los efectos tóxicos que produce la droga tiene gran exactitud y además nos da un mayor conocimiento de la farmacocinética de esta. Generalmente se interpreta como consumo reciente si el resultado da positivo (5). Sus limitaciones residen en su extracción, ya que puede ser dolorosa y además se obtienen volúmenes pequeños, incluso se necesita prepararla previamente al análisis (20).

Las muestras de orina son muy útiles a la hora de realizar análisis cualitativos como los usados en el cribado toxicológico por su facilidad de obtención, pudiendo conseguir grandes volúmenes con elevadas concentraciones de droga o de sus metabolitos (20), pero resulta ser una prueba muy poco fiable por su fácil adulteración, la inexactitud de los resultados y, sobre todo, la poca correlación con las manifestaciones clínicas (5).

El pelo por su parte tiene una gran ventaja y es que nos permite conocer si se han consumido drogas, aunque haya sido hace mucho tiempo. Nos informa de un consumo crónico o intoxicaciones pasadas. La droga se mantiene muy estable y además es muy difícil de adulterar (5).

Por último, entre los materiales de muestra más empleados, los fluidos orales como la saliva (5) son de elección a la hora de realizar pruebas en el momento y en el mismo lugar por la facilidad de obtención de la muestra y por una mayor abundancia de droga pura frente a sus metabolitos (20). El problema se encuentra en que la técnica analítica que emplea dicho material es algo limitada en cuanto a especificidad y sensibilidad, pero puede aportar resultados fiables si se asocia a pruebas de confirmación (5).

Para aquellos materiales de muestra que sean susceptibles de ser adulterados, como la orina, se recomienda mantener una cadena de custodia en determinadas situaciones con el fin de evitar que esto ocurra (20) (5).

Metabolismo

El metabolismo de las drogas por parte del organismo es otro aspecto sobre el que incidir. Los resultados pueden verse afectados por las similitudes que comparten las drogas con otros fármacos, los metabolitos fruto de la metabolización o incluso la ingesta de ciertos alimentos con estructura química parecida (20). Algunos ejemplos de gran relevancia clínica son la analogía estructural existente entre *“el antihistamínico de tipo 2 ranitidina y las anfetaminas, los fármacos anticongestivos y las efedrinas y algunos antitusígenos como el*

dextrometorfano con la codeína” (20). Esa similitud estructural puede acarrear problemas en la etapa de cribado del screening toxicológico, debido a que las moléculas que se parezcan a la droga objeto de estudio pueden interferir en el desarrollo de las técnicas inmunoanalíticas uniéndose al anticuerpo antidroga dando reacciones cruzadas (20).

Nuestros resultados pueden verse modificados por dos procesos característicos del metabolismo: la inducción enzimática y los polimorfismos genéticos (20). Esta última ha sido ampliamente estudiada debido a que es un aspecto muy característico de la variabilidad interindividual, dándose ejemplos descritos en numerosas ocasiones como los polimorfismos para el CYP3A4, que producen una rápida metabolización de la metadona impidiendo su localización durante su tiempo de detección (20). También la duplicidad en el CYP2D6, que favorece la rápida conversión de codeína a morfina ocasionando intoxicaciones (20). Otro ejemplo, en este caso de inducción enzimática, es el metabolismo de opiáceos que se ve afectado por fármacos capaces de inducir el CYP450 que disminuyen las concentraciones de estos fármacos, y como consecuencia, ejercen en menor medida sus efectos terapéuticos (20).

Fruto de las múltiples interacciones existentes, es de vital importancia que la interpretación de los resultados obtenidos en el laboratorio se haga apoyándose en los informes elaborados por los clínicos con el objetivo de tener en cuenta tratamientos bajo los que está el paciente, aspectos relevantes de su dieta o medicación administrada en el momento del ingreso (5) (20).

5.1.2 Factores analíticos.

Una vez llevado a cabo la elección del material de muestra adecuado para la técnica de detección escogida, existen una serie de **factores analíticos** (20) referentes a los métodos de análisis.

Para determinar que los resultados son positivos o negativos se establece un punto de corte previo conocido como *“cut-off”* (20), que supone la concentración mínima de droga diagnosticada o de su metabolito para interpretar como positivo el resultado y si es inferior, dar por negativa la prueba (20). No tiene por qué coincidir con el límite de detección de la técnica, lo que ayuda a descartar falsos positivos ya que, si establezco el punto de corte más alto que el límite de detección conseguimos que, aunque la droga esté presente, sólo salgan a la luz aquellos valores que tengan relevancia para nosotros (5). Este valor no es fijo, sino que se establece en función del objetivo de determinar esa droga y la sensibilidad y especificidad requeridas (20). Así pues, será más bajo en el ámbito clínico por la relevancia de los resultados y sus consecuencias, tratando de que la mínima presencia de una droga sea analizada rápida y eficazmente. En el ámbito laboral se establecerán puntos de corte más elevados para evitar dar por positivo un resultado que no lo es y evitar así los problemas con la justicia (20) que puede acarrear dicho error. Se fijará por tanto en función de cuántos *“posibles verdaderos/falsos positivos/negativos”* (20) queramos que haya. Los valores de los puntos de corte o *“cut-off”* se establecen atendiendo a referencias publicadas por agencias y organismos regulatorios en materia sanitaria como puede ser el NIDA (National Institute of Drug of Abuse) o el Ministerio de Sanidad en España (Plan Nacional sobre Drogas).

Una vez fijados los puntos de corte, procederemos a llevar a cabo la técnica más adecuada para el material de muestra recogido. No todas tendrán las mismas características, pues cada una está destinada a ser empleada en una determinada etapa del estudio toxicológico. Cuando realizamos el cribado toxicológico buscamos simplemente detectar la droga, es decir, buscamos sensibilidad que se describe como la capacidad de detectar una droga en

particular. Si queremos identificar qué droga en concreto es la que está presente en la muestra, como ocurre en la etapa de confirmación, buscaremos que el método sea específico, pero sin perder sensibilidad (20).

5.2 ETAPAS DEL PLAN ANALÍTICO.

Para el análisis de sustancias tóxicas o *screening toxicológico* (6) se sigue un plan analítico que consta de las siguientes etapas (5):

5.2.1 Cribado de tóxicos (5) (20).

Los métodos analíticos que se usan durante esta etapa buscan detectar una droga concreta, sus metabolitos o moléculas relacionadas (5). Las técnicas deben ser sensibles, rápidas y capaces de analizar volúmenes de muestra relativamente grandes (20), además de tener un coste no muy elevado y de fácil manejo. Están dirigidas a ser el primer paso para la búsqueda de una sustancia y por ello nos interesa que sepan discriminar los verdaderos negativos (20), o lo que es lo mismo, que tengan alta sensibilidad analítica. Si la concentración de droga encontrada está por debajo del punto de corte establecido, se considerarán resultados negativos sin necesidad de ser confirmados, pero si los valores son superiores se asume que el resultado es positivo. Asumimos ya que, debido a la falta de especificidad de la técnica, es muy común que aumenten los falsos positivos, siendo necesario un análisis confirmatorio para dar por verdadero positivo el resultado, lo cual se hará en la segunda etapa con otras técnicas (20). No nos dan información sobre la cantidad de droga consumida, el alcance de la intoxicación o el momento en el que se ha consumido, ni permite diferenciar un consumo puntual de uno crónico, simplemente nos dan una idea de cuál podría haber sido el o los causantes de la intoxicación (5).

Con ese objetivo, las técnicas más empleadas en esta etapa son las fundamentadas en el **inmunoanálisis** (20) (5) (6). Se trata de una técnica basada en el empleo de una reacción inmunológica que se desarrolla entre un antígeno (elemento a reconocer) y un anticuerpo (elemento que hace el reconocimiento) que se unen de manera específica y con afinidad a través de uniones como puentes de hidrogeno, entre otras (21). Son técnicas cualitativas (5), aunque algunas de ellas pueden considerarse semicuantitativas (20). Pueden clasificarse en función del mecanismo de reacción o por el tipo de marcador empleado para hacer un seguimiento del proceso (20). Entre las más usadas encontramos:

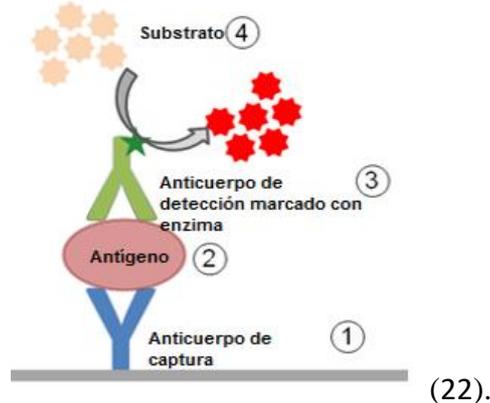
5.2.1.1 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay – ELISA:

Esta técnica se basa en el empleo de un anticuerpo de captura (22) el cual recubre la placa sobre la que se llevará a cabo el proceso. Dicho anticuerpo es capaz de reconocer el antígeno para el que ha sido creado, en este caso una droga en concreto, de tal forma que una vez se añade la muestra (orina, sangre...) se produzca la unión entre ambos. Posteriormente se añade el anticuerpo de detección (22) marcado con un enzima, que reconocerá también los antígenos y se formará el complejo anticuerpo de detección marcado-antígeno-anticuerpo de captura. Por último, se añade el sustrato del enzima desencadenándose la reacción enzimática pertinente que dará un producto coloreado (22) que podrá cuantificarse a través de un espectrofotómetro.

Es una técnica está destinada a detectar sustancias a bajas concentraciones en el material de muestra (21). Su uso está muy extendido en los laboratorios por su facilidad, ya que no requiere profesional de laboratorio especializado y por la rapidez del proceso. Se pueden

clasificar de múltiples maneras en función de si medimos el número de complejos formados o atendiendo a si el enzima se conjuga con antígeno o anticuerpo, si el sustrato da lugar a reacciones colorimétricas, ultravioletas, fluorescentes etcétera (21). En definitiva, existen múltiples técnicas con numerosa terminología (EMIT, EIA...¹) pero todas referidas al mismo fundamento (21).

Tiene gran utilidad a la hora de hacer determinaciones de urgencia o de forma rutinaria (5), siendo capaz de detectar tales drogas como: opiáceos, cannabis, cocaína, anfetaminas, barbitúricos, benzodiacepinas, metadona, alcohol en muestras como orina o sangre. Cuentan con una sensibilidad analítica alta y una especificidad variable, ya que dentro de una misma familia de fármacos no es capaz de discernir entre moléculas distintas (5).



5.2.1.2 RadiImmunoAssay – RIA:

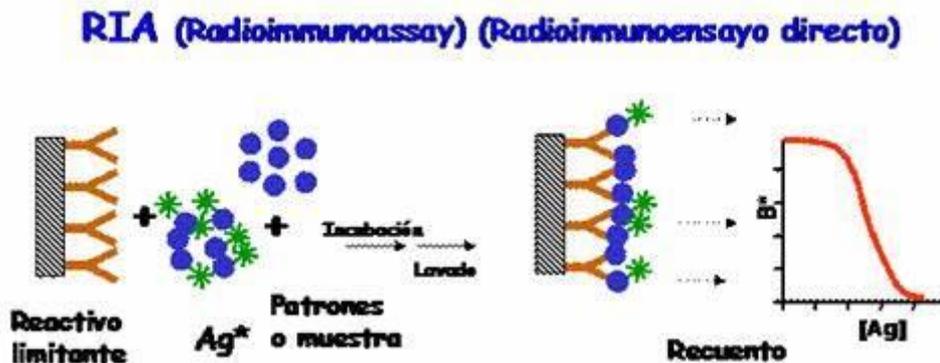
Este método se basa en usar radioisótopos (5) con el fin de determinar un antígeno (Ag) o anticuerpo (Ac) concreto en la muestra.

Para la realización de este, contamos con antígenos específicos para cada droga marcados con radioisótopos como H^3 , C^{14} , P^{32} , I^{125} (23), entre otros. Asimismo, se dispone de los anticuerpos correspondientes para estos antígenos marcados (21) (23). Una vez que tenemos la muestra, donde sospechamos que hay una droga determinada y que sería nuestro antígeno de estudio o antígeno libre, añadimos los antígenos marcados y los anticuerpos de antígeno marcado (23).

Al coexistir en el suero dos antígenos iguales para un mismo anticuerpo, específico para ambos, habrá una competición por unirse a este (21) (23). Se formarán los complejos Ag marcado-Ac y Ag libre-Ac que son precipitables y, aquellos Ag marcados que no hayan formado complejo, se separarán por distintos métodos (adsorción, precipitación o doble anticuerpo) (21). Para determinar si la droga está presente, se medirá la radioactividad emitida por el complejo Ag marcado-Ac precipitado y se comparará con la que emite el Ag marcado que no forma complejo (21), de tal manera que, si la radioactividad es del 100 %, no hay complejos Ag libre-Ac lo que indica que la droga no está en la muestra y no ha competido con el Ag marcado para unirse al Ac (23). Sin embargo, si la radioactividad es menor del 100% se habrán formado complejos Ag libre-Ac e interpretamos que la droga está presente en la muestra (23).

¹ EMIT: Enzyme Multipled ImmunoAssay; EIA: Enzyme ImmunoAssay.

En la actualidad, esta técnica ha sido desbancada por el ELISA ya que es más económica, fácil de manejar y con mayor seguridad debido a que no emplea radiación (23), sin embargo, RIA tiene mayor sensibilidad (21).



5.2.1.3 Kinetic Interaction of Microparticles in Solution – KIMS

Este inmunoensayo se basa en las interacciones que se dan entre distintas micropartículas en una solución (24)(20). Mediremos el grado de presencia de la droga en base a la absorbancia emitida, es decir, atendiendo a cómo va variando la luz transmitida por parte de la muestra. Se trata por tanto de una turbimetría (24).

Su fundamento se basa en un reactivo que contiene un antígeno marcado, que será igual que la droga a detectar, con una micropartícula de látex (24). Se adicionará un anticuerpo específico para el antígeno, de tal forma que se unen, se aglutinan y crean un precipitado (24). Esta unión se produce en forma de red, que impide la transmisión de la luz dando valores bajos de absorbancia. Cuando se añade la muestra con el metabolito a detectar, es decir con nuestro antígeno libre que es la droga, este compite con el antígeno marcado para unirse al anticuerpo. La unión de la droga (antígeno libre) al anticuerpo, no da lugar a una aglutinación y posterior precipitado, por lo que no se forma ese entramado y la luz podrá transmitirse y los valores de absorbancia aumentarán (24).

La cantidad de absorbancia emitida por la muestra es por tanto directamente proporcional a la cantidad de droga que exista en la muestra (24).

Esta técnica funciona muy bien y de manera específica en muestras de orina, que suele ser la muestra de elección para la etapa de cribado, ya que está diseñada para tener en cuenta las características de esta muestra (24).

5.2.1.4 Cloned Enzyme Donor ImmunoAssay – CEDIA

Este método se fundamenta en el empleo de un enzima dividido en dos partes inactivas que cuando se unen al sustrato, la droga que busco o un metabolito de esta, se activa y da lugar a una reacción cuyo producto es de color y que podrá cuantificarse por espectrofotometría (24). En este caso el enzima será la beta-galactosidasa e irá conjugado a un metabolito de la droga (24) que pretendemos encontrar, con la que competirá para unirse a los anticuerpos específicos. Cuando añadimos la muestra, si la droga problema está presente, se unirá al anticuerpo y los fragmentos de enzima inactiva se activarán. Es decir, si hay droga en la muestra actúa como sustrato del enzima marcado con un metabolito de la droga y al unirse al anticuerpo, desencadena la reacción (24).

Si no hay droga, el metabolito marcado por el enzima se unirá al anticuerpo y se inhibirá así el proceso. Al no haber sustrato para la reacción, no se formará producto coloreado (24).

Los inmunoanálisis son técnicas que se caracterizan por su sencillez en el manejo, de ahí su presencia en prácticamente todos los laboratorios analíticos, y además son mucho más económicas que los métodos de confirmación. Además, permiten analizar muestras con un gran número de drogas presente en la muestra (24). Muchas veces nos encontramos que estas técnicas están automatizadas para agilizar el proceso y van acopladas a métodos de confirmación para dar resultados fiables.

Frente a la alta sensibilidad que aportan, su gran limitación es la falta de especificidad de los anticuerpos que se emplean. Esto da lugar a que se puedan desarrollar *reacciones cruzadas* (20) (5) por parte de cada sustancia con moléculas con las que comparte analogía estructural. El laboratorio debe aportar un informe con las reacciones cruzadas de cada sustancia para que, en caso de obtener un positivo en el cribado, se tenga en cuenta y se realice un análisis de confirmación para verificar el resultado (5) (20).

Algunas reacciones cruzadas que se dan durante el cribado de sustancias en muestras de orina mediante inmunoanálisis son: “anfetaminas con antigripales como efedrina y pseudoefedrina; barbitúricos, tetrahidro cannabino (THC; metabolito del cannabis) y oxacepam (metabolito benzodiazepinas) con antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y estos últimos también con clorpromazina; morfina (metabolito de opiáceos) con codeína, tebaína, hidrocodona, etc.” (20).

5.2.2 Confirmación de la presencia de tóxicos.

Para confirmar que los resultados positivos obtenidos en el screening son verdaderos positivos, emplearemos técnicas de confirmación basadas en reacciones fisicoquímicas distintas al inmunoanálisis, con mayor especificidad pero que mantengan buena sensibilidad (5). Para esta etapa el método analítico más empleado y testado es:

5.2.2.1 Cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC/MS).

“La cromatografía de gases-masas es una técnica que combina la capacidad de separación que presenta la cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas. Esta combinación permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas con un alto grado de efectividad” (25).

Las cromatografías se fundamentan en la separación de los elementos de la muestra mediante un mecanismo que consta de dos fases: la fase móvil y la fase estacionaria (5). Hay diferentes tipos atendiendo al estado físico de cada una de las fases: sólido, líquido o gas. Así encontraremos si la fase móvil es líquida, cromatografía en fase líquida con fase estacionaria sólida, líquida o gel y si la fase móvil es un gas, cromatografía en fase gaseosa con fase estacionaria líquida o sólida (5).

En numerosas ocasiones, para poder llevar a cabo la técnica de la manera correcta, debemos preparar previamente la muestra y en el caso de la cromatografía de gases es una

preparación costosa, pues es un requisito indispensable que la sustancia sea volátil o se derivatice² para que sea volátil (5) (20).

El proceso se lleva a cabo introduciendo parte de la muestra que se quiere separar en una corriente de gas inerte, que no afecta a la muestra y suele ser de Helio (26), a elevada temperatura (400 °C máximo). La corriente pasará por una columna cromatográfica (26) con fase estacionaria sólida o líquida que separará los componentes en función de la afinidad de los sustratos por el material de la columna, de tal forma que irán saliendo paulatinamente de la columna hasta un sistema de detección, en este caso un espectrómetro de masas (26).

Es una técnica con múltiples ventajas como son su alta sensibilidad y especificidad y no requiere reactivos costosos, sin embargo, sólo es válida para sustancias con peso molecular menor de 1000 Da (27), necesita ser realizada por personal cualificado y los equipos sí son de elevado coste, lo que determina que sólo esté en aquellos laboratorios especializados y punteros, garantizando la obtención de datos fiables al cabo de poco tiempo (5) (20).

Tras la separación de los componentes de la mezcla, esta se conduce al espectrómetro de masas. Primero hay que introducir la mezcla, que sale de la columna cromatográfica a presión atmosférica, al dispositivo a alto vacío (26). Una vez dentro, se ioniza la muestra mediante el uso de electrones que impactan a gran velocidad y con una energía determinada, favoreciendo la emisión de electrones por las moléculas y quedando estas ionizadas (26). Las partículas ionizadas se aceleran y alcanzarán una velocidad concreta en función de su masa. Según se van detectando los iones formados a partir de las moléculas presentes en la muestra, se va creando el espectro de masas de las sustancias, que es único y específico para cada compuesto químico, lo que permite identificar, casi sin lugar a error, la sustancia problema (26).

Acoplar ambas técnicas es de gran utilidad a la hora de separar, determinar y cuantificar sustancias en mezclas con muchos compuestos (26), permitiendo conocer de manera inequívoca ante que sustancia nos encontramos (26). De ahí que sea el método de elección para la confirmación de los presuntivos resultados positivos obtenidos en el cribado.

² Derivatización: “consiste en modificar químicamente un compuesto para producir un derivado con nuevas propiedades que permitan su análisis” (5).

6 CONCLUSIONES

Cada vez con mayor frecuencia, las drogas de abuso han ocupado un espacio importante en nuestra sociedad ocasionando problemas que afectan al desarrollo de la vida cotidiana. En base al consumo creciente de estas drogas, se ha vuelto algo rutinario su caracterización con fines jurídicos y en el ámbito clínico para manejar de manera correcta sus efectos e implantar un tratamiento que nos encamine a una pronta recuperación.

Para la cuantificación de estas drogas, es necesario llevar a cabo un plan analítico dividido en dos etapas: cribado toxicológico y confirmación de la presencia de tóxicos.

La primera etapa se caracteriza por realizarse empleando como material de muestra la orina y con técnicas basadas en inmunoensayos (KIMS, ELISA, RIA...). Técnicas con elevada sensibilidad, pero que carecen de una especificidad acorde. Son muy útiles a la hora de descartar o evidenciar la presencia de drogas, pero los resultados que se obtienen siempre son presuntivos y necesitan una confirmación. Además, no se puede establecer un diagnóstico en base a los resultados que obtenemos de estas ya que, al emplear como muestra la orina, la información que esta nos da siempre es de consumos pasados y los resultados nunca se correlacionan con los efectos fisiológicos o cambios en el comportamiento que sufre el paciente que consideramos bajo los efectos de sustancias.

Siempre es necesario recurrir a la confirmación de estos datos, empleando para ello métodos basados en principios químicos distintos y con especificidad y selectividad altas. Para ello recurrimos a la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC/MS), que es el método más fiable y con mayor aceptación de uso. Su empleo garantiza identificar casi con total seguridad cuál es la droga presente en la muestra. Su alta especificidad la coloca a la cabeza de los métodos cromatográficos con fines de determinación de drogas de abuso.

Una vez determinadas las drogas presentes en la muestra, sí podemos garantizar qué drogas son las causantes del daño y quiénes están bajo sus efectos. El desarrollo de una terapia para paliar sus efectos siempre debe hacerse apoyada en médicos u otros facultativos que velen por el bienestar del paciente y consigan que la situación tenga una resolución positiva.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Ministerio de Sanidad y Consumo. Gobierno de España. Glosario de términos de alcohol y drogas. 1994. Disponible en: https://www.who.int/substance_abuse/terminology/lexicon_alcohol_drugs_spanish.pdf
2. En genérico.com [Internet]. Fármacos: tolerancia, dependencia y síndrome de abstinencia. Mayo 2012. Disponible en: <https://www.engenerico.com/farmacos-tolerancia-dependencia-sindrome-abstinencia/>
3. National Institute on Drug Abuse (NIDA). Entendiendo el uso de drogas y la adicción – DrugFacts. Mayo 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/drugfacts/entendiendo-el-uso-de-drogas-y-la-adiccion>
4. Amanda Lautieri, B.A. American Addiction Centres. Drug and Alcohol Withdrawal Symptoms, Timelines and Treatment. Mayo 2020. Disponible en: <https://americanaddictioncenters.org/withdrawal-timelines-treatments>
5. Huarte Arregui E., García San Martín M.D. Libro electrónico de toxicología clínica. El laboratorio en toxicología. Disponible en: [file:///C:/Users/saril/Downloads/Laboratorio%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/saril/Downloads/Laboratorio%20(2).pdf)
6. Chueca Rodríguez M.P., Serrano Rodríguez S., Carrasco del Amo M.E., Galar Baranguá G.M., Zabalegui Goicoechea A. El laboratorio en el Screening Toxicológico. Julio - agosto 1990.
7. National Institute on Drug Abuse (NIDA). Los alucinógenos- DrugFacts. Mayo 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/drugfacts/los-alucinogenos>
8. Psicofármacos.info [Internet]. Clasificación de las drogas. LSD. Junio 2008. Disponible en: <https://psicofarmacos.info/?contenido=drogas&farma=lsd-dietilamida-de-acido-lisergico-acido-tripi-tripa-trip-viaje>
9. National Institute on Drug Abuse (NIDA). ¿Qué es la marihuana? Junio 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/que-es-la-marihuana>
10. Molecules. 2015. Disponible en: <https://frontiersofthemind.files.wordpress.com/2015/02/molecules.jpg>
11. National Institute on Drug Abuse (NIDA). ¿Cómo produce sus efectos la marihuana? 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/la-marihuana/como-produce-sus-efectos-la-marihuana>
12. National Institute on Drug Abuse (NIDA). ¿Es la marihuana adictiva? 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/la-marihuana/la-marihuana-es-adictiva>
13. Wikipedia. Correlación estructural entre encefalinas y la morfina. Disponible en: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c0/Correlación_estructural_entre_las_encefalinas_y_la_morfina.svg/1200px-Correlación_estructural_entre_las_encefalinas_y_la_morfina.svg.png
14. Martín-Aragón Álvarez S. Farmacología y Farmacoterapia. 2018.
15. National Institute on Drug Abuse (NIDA). ¿Qué tipo de medicamentos recetados se usan comúnmente en forma indebida? Junio 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/los-medicamentos-de-prescripcion-abuso-y-adiccion/que-tipos-de-medicamentos-recetados-se-usan-comunmente-en-forma-indebida>
16. Medline Plus. Intoxicación por opiáceos. Junio 2019. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000948.htm>
17. Medline Plus. Sobredosis e intoxicación por barbitúricos. Junio 2019. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000951.htm>

18. National Institute on Drug Abuse (NIDA). ¿Qué es la metanfetamina? Junio 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/abuso-y-adiccion-la-metanfetamina/que-es-la-metanfetamina>
19. National Institute on Drug Abuse (NIDA). La cocaína – DrugFacts. Junio 2020. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/drugfacts/la-cocaina>
20. Comisión de Monitorización de Fármacos y Toxicología Clínica de la Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular. Ed. Cont. Lab. Clín. Importancia del laboratorio clínico en el análisis de drogas de abuso. 2012-2013.
21. Galván Cejudo A., Túnez Fiñana I. inmunoanálisis. Disponible en: <https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/18%20INMUNOANALISIS.pdf>
22. Horlock Claire. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA). Disponible en: <http://inmunologia.eu/tecnicas-experimentales/ensayo-de-inmunoabsorcion-ligado-enzima-elisa>
23. Fundamentos clínicos. Radioinmunoanálisis. Disponible en: <https://fundamentosclinicos.com/content/ria-radioinmunoanalisis>
24. Vargas Aguilar M.A. Estudio de marcadores biológicos de drogas de abuso. Utilidad médico-laboral. 2015.
25. Martín O., Miranda A. Cromatografía de gases/masas (GC/MS). Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02-gases%20masas.pdf>
26. Droguet M., Gutiérrez M.C. Identificación de los compuestos volátiles por CG-MS. Disponible en: <https://core.ac.uk/reader/41780740>
27. CSIC. Cromatografía de gases. Disponible en: https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf