



Metodologías Generales para Identificación de Drogas de Abuso

OMS/ONU

LUCY BRAVO LÓPEZ Q.F. - LSP

Camilo Romero Galeano
GOBERNADOR DE NARIÑO
Dr. Bernardo Ocampo Martínez
DIRECTOR INSTITUTO DEPARTAMENTAL DE SALUD DE NARIÑO



OBJETIVO

Contribuir al conocimiento de los métodos de ensayo generales para Identificación de Sustancias Psicoactivas en Laboratorio

La Toxicología Clínica incluye la prevención, diagnóstico y el manejo de las intoxicaciones. Los servicios de toxicología analítica proveen soportes para esta área de la Toxicología. Esta información emanada de la Toxicología analítica es variada y depende de la complejidad de los laboratorios.

(Toxicología analítica básica/OMS)







GENERALIDADES

www.idsn.gov.co

- Seguridad Química en el Laboratorio: La manipulación segura de sustancias químicas presupone conocimiento de las propiedades y peligros del material, para evitar errores y accidentes fatales.
- Sustancia Psicoactiva (SPA): Toda sustancia lícita o ilícita, de origen natural o sintético que modifica el funcionamiento del sistema nervioso central y puede alterar los estados de conciencia, la percepción y otras funciones del organismo (MPS, 2011).
- Análisis de Laboratorio:
 - Fase Preanalítica: Historia clínica Toma de muestra ficha de laboratorio (de identificación) – exámenes complementarios
 - Fase Analítica: Realización del Ensayo. Exámen físico (color, olor) extracción/aislamiento del analito - Pruebas cualitativas/cuantitativas.
 - Fase Postanalítica: Evaluación de resultados y posterior informe final
- Método de Ensayo: Descripción genérica de la Secuencia lógica de operaciones utilizadas en una medición (VIM 2012 Método de medida)









www.idsn.gov.

"La experimentación con drogas es normal en la adolescencia" (Kaplow et al., 2002)

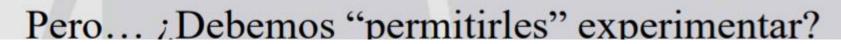


















PROCEDENCIA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

www.idsn.gov.co

AUTOPSIAS JUDICIALES:

- Orina
- Sangre
- Humor vitreo
- Vísceras
- Cabello
- Otros

INDIVIDUOS VIVOS:

- Orina
- Sangre
- Saliva
- Lavado gástrico
- Cabello





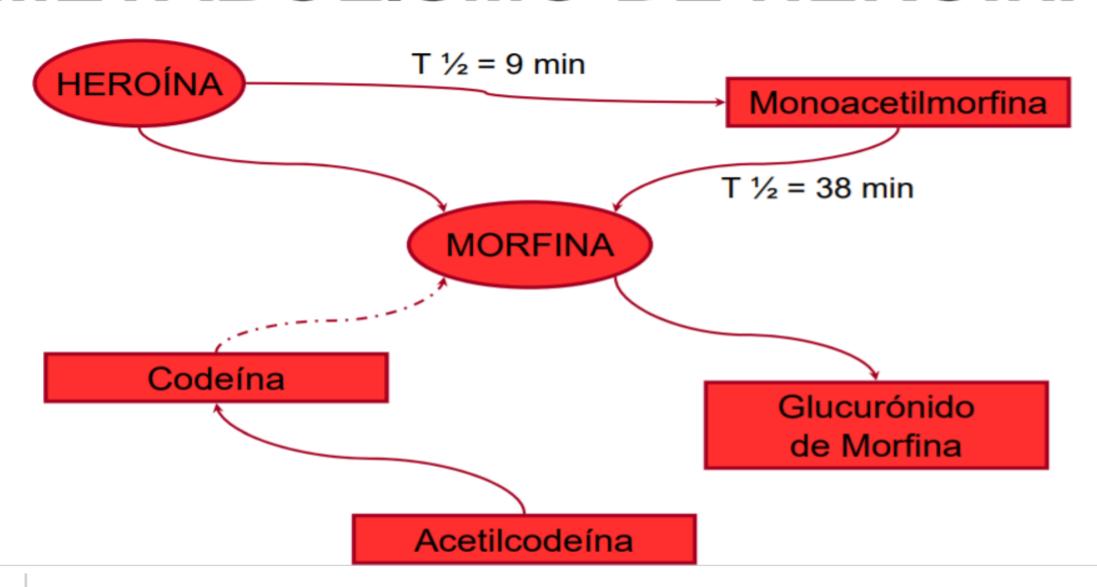




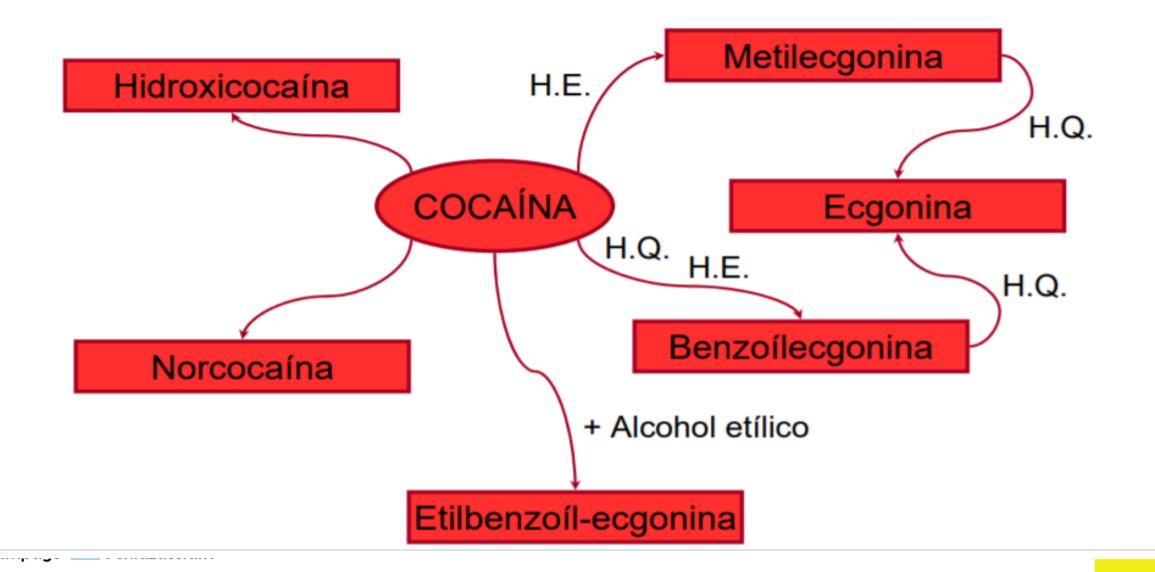
METABOLISMO Y TOMA DE MUESTRA

Camilo Romero Galeano
GOBERNADOR DE NARIÑO
Dr. Bernardo Ocampo Martínez
DIRECTOR INSTITUTO DEPARTAMENTAL DE SALUD DE NARIÑO

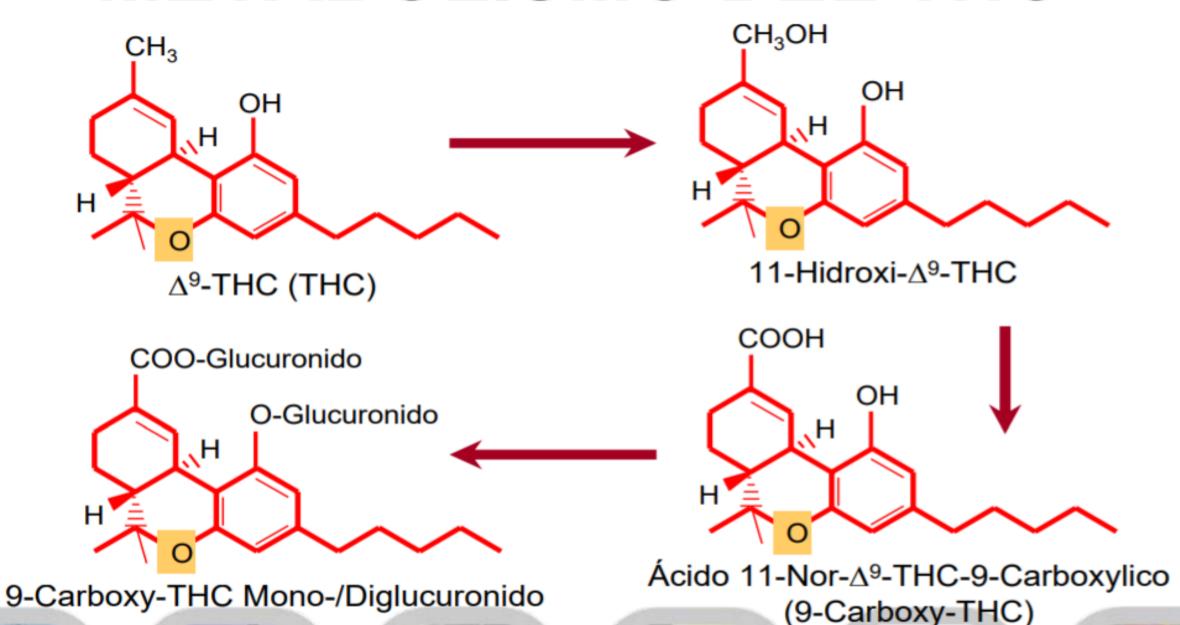
METABOLISMO DE HEROÍNA



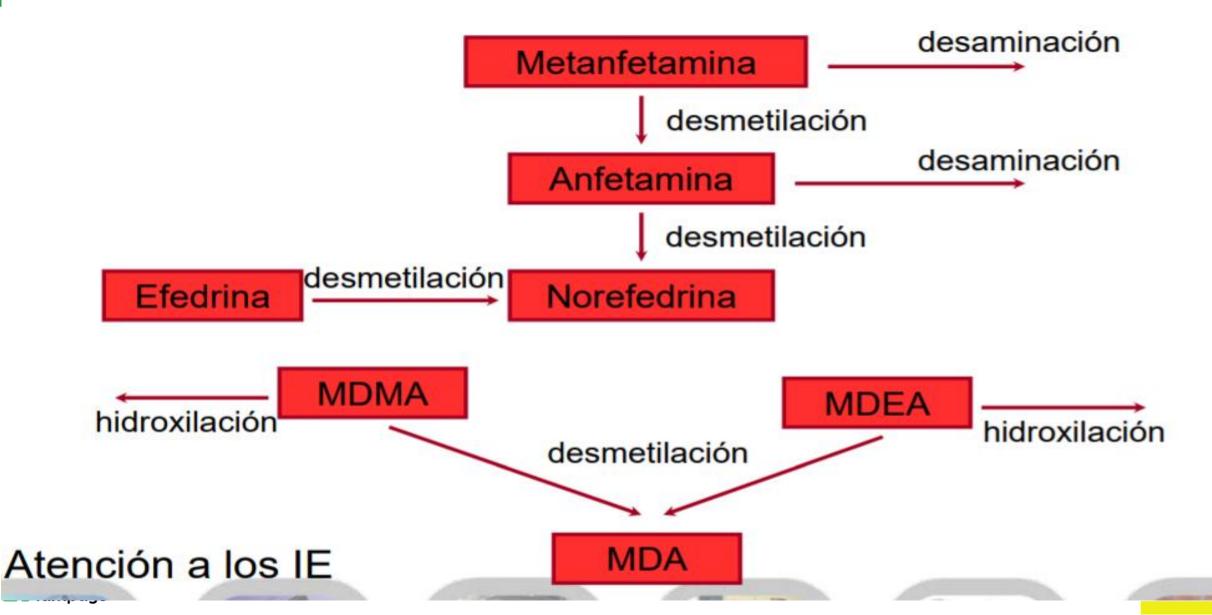
METABOLISMO DE COCAÍNA



METABOLISMO DEL THC



ANFETAMINA Y RELACIONADOS







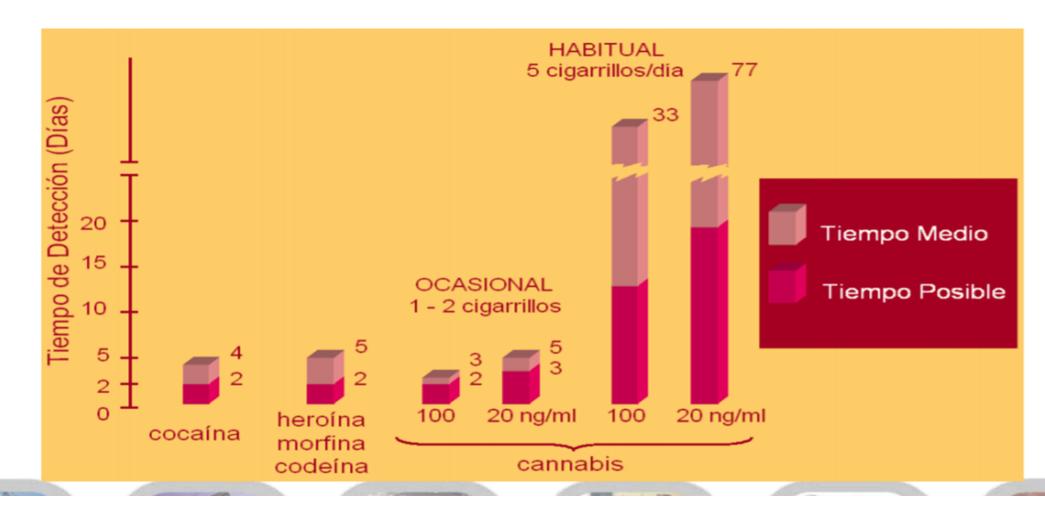
DETECCIÓN SEGÚN MATRIZ

| MATRIZ | DETECCIÓN METABOLITOS /DROGA MADRE VENTAJAS | VENTAJAS | INCONVENIENTES | |
|--------------|--|--|--|--|
| ORINA | Metabolitos específicos Mayor tiempo de detección | Fácil Obtención Mayor Cantidad Concentración mayor Detección horas a semanas | Manipulación fraudulenta No Drogas Madre No valoración del consumo No Grado de Afectación | |
| SANGRE | Droga Madre | Corto tiempo de detección Drogas Madre Orientación Causa-efecto Valoración toxicológica | Extracción cruenta Corto tiempo de detección (h) Concentración muy baja Procedencia | |
| SALIVA | Droga Madre | Facilidad para obtener muestra Dificultad de adulteración Corto tiempo de detección | Corto tiempo de detección (h) | |
| Humor vitreo | Metabolitos específicos | Extracción fácil Muestra muy limpia | Concentraciones bajas | |
| CABELLO | Droga madre | Largo tiempo de detección Concentraciones muy bajas | Análisis laborioso Presencia fundamental de la droga madre | |





TIEMPO DE DETECCIÓN DE RESULTADOS POSITIVOS EN ORINA







TOMA DE MUESTRA

www.idsn.gov.co

- 1. En el lugar de toma de la muestra
- El personal del lugar en que se tome la muestra debe estar capacitado y se encargará de tomar, rotular, envasar y transportar las muestras, asegurando que los procedimientos de toma y almacenamiento se documenten debidamente y se apliquen con los métodos de seguridad necesarios.
- La toma de la muestra será supervisada y presenciada por personal autorizado.
- Disponer de instalaciones sanitarias adecuadas. La sala en que se tome la muestra se inspeccionará para ver si contiene alguna sustancia que pudiera usarse para invalidarla. En la sala no deberá haber recipientes que dispensen jabón ni productos de limpieza.
- La muestra de orina se tomará en dos botellas de 50 ml. Las botellas deberán llenarse al menos en 2/3. Siempre que sea posible, deberá evitarse el uso de recipientes plásticos y tapones de goma, ya que las drogas no polares y sus metabolitos, como los cannabinoides, son muy propensos a absorberse a algunas superficies de plástico y a la mayoría de las de goma. Si, por razones prácticas, se emplean recipientes plásticos desechables, los laboratorios deben realizar pruebas para garantizar que esos recipientes plásticos no alteran la composición o concentración de las drogas o metabolitos en la





TOMA DE MUESTRA

www.idsn.gov.co

- Inmediatamente después de la toma de la muestra, se medirá y registrará su temperatura (32 a 38°C en cuatro minutos) y pH. Si se sospecha de adulteración, se notificará al laboratorio. En tales casos se recomienda una comprobación visual cuidadosa (color, precipitación, espuma, etc.) y el control de la creatinina (180 ± 80 mg/ 100 ml: "normal"; 10 a 30 mg/100 ml: "probablemente diluida"; < 10 mg/100 ml: "diluida") y de la gravedad específica (1,007 a 1,035: "normal").
- Las botellas deberán taparse, sellarse y rotularse debidamente. Se tomarán medidas para mantener la integridad de la muestra, por ejemplo, utilizando un sello de seguridad que permita ver si ha sido adulterado. Es importante que el dador presencie el sellado de la botella y firme o iniciale el sello o el rótulo.
- El rótulo debidamente diligenciado del espécimen se adherirá al recipiente de la orina y no a la tapa para impedir la confusión o el trueque de especímenes o de rótulos identificadores.
- 2. Transporte y Almacenamiento: Mantener refrigerada la muestra, Proteger de la Luz y mantener integridad de muestra.







EN EL LABORATORIO

www.idsn.gov.co

- En el laboratorio, una persona autorizada deberá recibir e inspeccionar cuidadosamente las muestras y los documentos. Una de las dos muestras de orina deberá usarse para hacer el análisis y la otra deberá guardarse, congelada, para hacer otro análisis en caso necesario.
- Una vez que se ha comprobado que las muestras y los formularios de solicitud están en regla, se deberá dar un recibo firmado a quien entrega la muestra.
- El laboratorio deberá llevar registros bien documentados y mantener medidas estrictas de seguridad para garantizar la integridad de las muestras y la confidencialidad de los resultados.
- Si el análisis debe retrasarse más de uno o dos días, los especímenes de orina se guardarán congelados cerrado con llave. En general, los especímenes congelados son estables durante varios meses.

ONU 1995







METODOS DE ANÁLISIS

Tanto las pruebas de detección (presuntivos) como de confirmación son necesarias.

- 1. MÉTODOS PRESUNTIVOS: La prueba de detección debería permitir determinar las muestras que podrían arrojar resultados positivos de manera sumamente fiable, sensible, rápida y económica entre ellas están:
- Pruebas de color o colorimétricas
- Inmunoanálisis









PRUEBAS PRESUNTIVAS

www.idsn.gov.co

Pruebas de Color o Prueba Colorimétrica: (usadas en CCD)

El analito da un color característico con los reactivos apropiados. Debe estar en concentración suficiente y prácticamente en ausencia de interferentes. Los compuestos que tiene grupo funcional similar también pueden reaccionar.

La descripción del color es subjetiva inclusive en personal con visión normal de color. Por ello al realizar la prueba, es muy importante analizar concurrentemente con la muestra:

- Blanco de reactivos: Una muestra apropiada que se sabe que no contiene el compuesto de interés, Ej. si la prueba se realiza en orina, se debe usar un blanco de orina (sin analito), de lo contrario, el agua es adecuada
- Una Muestra positiva conocida, en una concentración apropiada; si la prueba es realizada en orina, entonces usar una muestra de un paciente o de un voluntario que haya tomado el compuesto en cuestión; Sin embargo, esto no siempre es posible por lo cual se puede usar un blanco al que se le ha adicionado el compuesto a identificar (Ej. Orina adicionado del analito de interés) blanco fortificado.







Pruebas Colorimétricas

www.idsn.gov.co

ONU

- Opiáceos:
- Reactivo de Dragendorf
- Reactivo de yodoplatinato potásico acidificado
- R. Cloruro Férrico acidificado
- Cannabinoides
- R. Azúl sólido B (azul rápido B)

- Cocaina
- Reactivo de Dragendorf
- Reactivo de yodoplatinato potásico acidificado
- Cloruro Férrico acidificado
- Anfetaminas, Metanfetaminas y Derivados
- R. Negro rápido
- R. de Ninhidrina
- R. con Fluorescamina







Pruebas Colorimetricas

www.idsn.gov.co

OMS

- Opiáceos:
- Reactivo de yodoplatinato potásico acidificado

- Cocaina
- Reactivo de yodoplatinato potásico acidificado
- Anfetaminas, Metanfetaminas y Derivados
- Reactivo de yodoplatinato potásico acidificado



www.idsn.gov.co



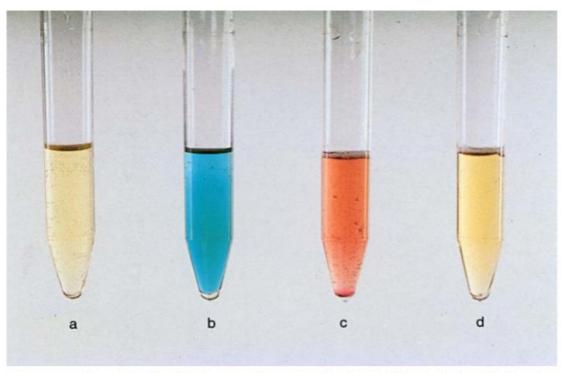


Plate 2. Qualitative test for phenothiazines (FPN test): (a) blank urine, (b) thioridazine, (c) perphenazine, (d) trifluperazine.







PRUEBAS PRESUNTIVAS

www.idsn.gov.co

• Inmunoanálisis:

El inmunoanálisis es el método preferido al cribar un gran número de especímenes en poco tiempo. Los métodos más comúnmente utilizados son, entre otros, el radioinmunoanálisis (RIA), el inmunoanálisis enzimático (IAE), el inmunoanálisis de polarización por fluorescencia (IAPF) y la inhibición de la aglutinación con látex (IAL). El instrumental que requieren el RIA, el IAE, el IAPF y la IAL (versión instrumental en línea) es relativamente costoso.

La técnica utilizada dependerá en la mayoría de los casos del volumen de trabajo del laboratorio. Las técnicas IAE y RIA, por ejemplo, se pueden obtener en versiones para pruebas únicas o múltiples. Los laboratorios que tengan un número reducido de muestras pueden utilizar las versiones para pruebas únicas, o IAL (versión para prueba no instrumental in situ), pero éstas resultan costosas desde el punto de vista del costo del análisis por muestra. Los inmunoanálisis enzimáticos para pruebas múltiples o el IAPF son más apropiados para un gran volumen de trabajo





www.idsn.gov.co

• Para reducir al mínimo la posible inexactitud de los resultados, es preciso prestar la debida atención al mantenimiento del equipo, el control del medio ambiente (estabilidad térmica) y el suministro y el almacenamiento (en frío) de los reactivos relativamente inestables.

Los resultados falsos pueden ser también consecuencia de adulteración de los especímenes, por ejemplo, al añadirse agentes modificadores del pH (vinagre, ácido ascórbico, zumo de limón, disolvente de cal, etc.), de oxidación (hipoclorito de sodio), agentes activos de superficie (detergente, jabón, etc.) y de desactivación de enzimas (glutaraldehído), y medicamentos (como gotas oculares o nasales que contengan tetrahidrozolina), edulcorantes (sacarina) y cloruro de sodio. Las manipulaciones más comunes son la dilución endógena (tomar líquidos en exceso, uso de diuréticos) y la dilución exógena (adición de agua), así como también el intercambio o sustitución del espécimen de orina.



PRUEBAS PRESUNTIVAS - Inmunoanálisis

www.idsn.gov.co

Cuadro I.1 Características generales de los principales inmunoanálisis

| Característica | RIA | IAE | IAPF | IAL |
|---|--------------|------------------|---------|----------------------------------|
| Requisito de instrumentación especial | Sí | Sí | Sí | No ^c /sí ^d |
| Estabilidad de reactivos | 3- 4 semanas | Meses | Meses | >1 año ^{c,d} |
| Costos de reactivos | + | $+++^{a}/++^{b}$ | ++(+) | +++c,d |
| Posibilidad de automatización | Sí | Sí | Sí | $\mathrm{No}^c/\mathrm{Si}^d$ |
| Pruebas por técnico por turno de 8 h | 200-400 | $100-400^{b}$ | 250-300 | 200-350°/>500° |

^aPrueba única

Fuente ONU 1995

^bAnálisis de orina para determinar uso indebido de drogas (d.a.u.), prueba múltiple.

^cPrueba no instrumental *in situ*.

^dPrueba instrumental en línea.





www.idsn.gov.co







METODOS CONFIRMATORIOS

www.idsn.gov.co

Entre las técnicas recomendadas están:

- Cromatografia en Capa Delgada (CCD, CCF o TLC)
- Cromatografia de gases (CG)
- Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC)
- Espectrofotometría

Pueden ser cualitativos, semicuantitativos y/o cuantitativos

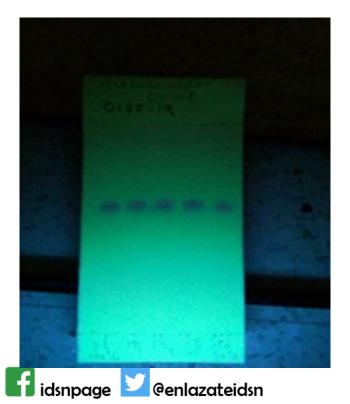




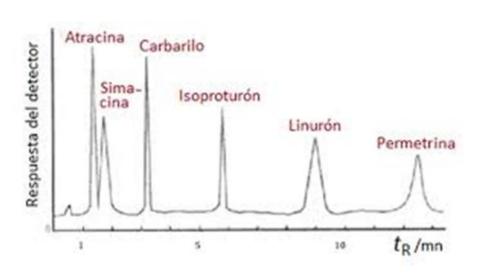
TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

www.idsn.gov.co

Utilizan generalmente dos fases para identificar el compuesto de interés: una fase estacionaria y una fase móvil que permiten por interacción química separar y detectar el analito.





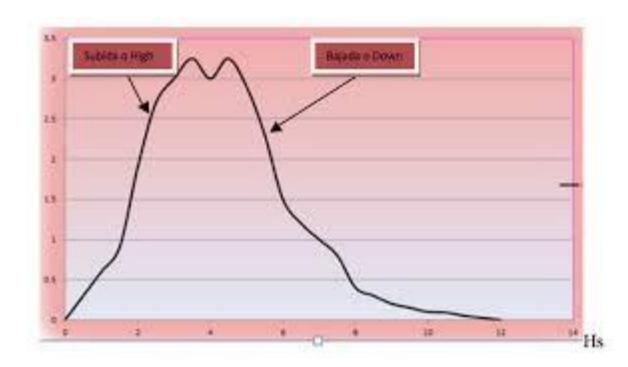


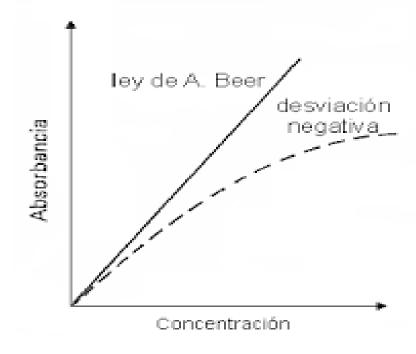


Método Espectrofotométrico

www.idsn.gov.co

• Absorbancia de luz a una longitud de onda determinada. Pueden ser Espectrofotómetro UV/VIS - IR, Espectrofluorómetro.











ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

www.idsn.gov.co

- Método
- Reactivos, Estandar, patrones de trabajo
- Control ambiental
- Gestión metrológica
- Comparaciones interlaboratorio EED
- Personal entrenado/capacitado

Cartas control





BIBLIOGRAFIA

 "Métodos recomendados para la detección y el Análisis de Heroína, cannabinoides, cocaína, anfetamina, metanfetamina, y derivados anfetamínicos con anillo sustituido - en especímenes biológicos".
 ONU, Nueva York, 1995

 R.J. FLANAGAN et al. "Basic Analytical Toxicology". OMS, Genova, 1995

• VIM, 2012











GRACIAS

Calle 15 No. 28-41 Plazuela de Bomboná - San Juan de Pasto - Nariño - Colombia Conmutador: 7235428 - 7236928 - 7233590 - 7223031 - 7293284 - 7296125 Horario de Atención : Lunes a Viernes: 8 am - 12 m y 2pm a 6pm www.idsn.gov.co