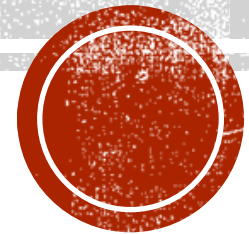


SCREENING DE DROGAS DE ABUSO EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS: INTERFERENCIAS HABITUALES



Carlos Javier García Uceda Serrano

Residente 1º Año Análisis Clínicos

27/11/2019

ÍNDICE

- ❑ Introducción
- ❑ Importancia del Laboratorio de Urgencias
- ❑ Métodos de detección de drogas de abuso
- ❑ Método del Laboratorio de Urgencias del CHUB
- ❑ Interferencias y falsos positivos
- ❑ Caso clínico



INTRODUCCIÓN

- **Drogas de abuso:** Grupo de sustancias, ilegales o legales usadas al margen de las indicaciones o dosis reconocidas, cuyo consumo conlleva cuadros clínicos físicos y conductuales caracterizados por tolerancia y dependencia.
- **Principales drogas de abuso:** Tabaco, alcohol, cannabis, cocaína, benzodiazepinas, opiáceos, anfetaminas, metanfetaminas.
- **Características:**
 - Moléculas de masa molecular pequeña-media
 - Concentraciones pequeñas
 - Ausencia fisiológica en el organismo

PROBLEMAS ANALÍTICOS DE
SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD



INTRODUCCIÓN

➤ Muestras biológicas

MATERIAL	VENTAJAS	INCONVENIENTES	MÉTODOS DISPONIBLES
SANGRE	Mejor relación consumo-concentración	Método invasivo, volumen limitado, tiempos de detección cortos, etapas de preanalítica	Inmunoanálisis, CG/EM, CL/EM
ORINA	Método no invasivo, volúmenes altos, concentraciones altas	Fácilmente manipulable, presencia de metabolitos secundarios	Inmunoanálisis, GC/EM, CL/EM
PELO	Largo tiempo de detección, método no invasivo	Análisis complejo, falta de estandarización	CG/EM, CL/EM
SUDOR	Menor cantidad de metabolitos secundarios, método no invasivo	Falta de estandarización, bajas concentraciones, volumen limitado	CG/EM, CL/EM
SALIVA	Método no invasivo, detección de consumo reciente	Falta de estandarización, volumen limitado, contaminación	Inmunoanálisis, CL/EM



INTRODUCCIÓN

➤ Usos del análisis de drogas de abuso en el laboratorio clínico:

- Diagnóstico de consumo en ambientes laborales
- Seguimiento en el tratamiento de adicciones
- Seguimiento de pacientes hospitalizados
- Peticiones a instancia judicial
- URGENCIAS MÉDICAS

IMPLICACIONES LEGALES Y
MORALES



IMPORTANCIA DEL LABORATORIO DE URGENCIAS

➤ Laboratorio de urgencias:

- Diagnóstico o diagnóstico diferencial de intoxicaciones
- Psicosis producidas por drogas; intentos de autolisis
- Consumo de drogas durante el embarazo y en el neonato
- Detección del uso ilícito de una droga o un fármaco
- Identificación de patrones de consumo epidemiológicos



➤ Intoxicaciones: Situación más común de análisis de drogas de abuso en Urgencias

- 4293 casos notificados en España en 2017 (Observatorio Español de Drogas y Adicciones OEDA)
- En el 60,1 % de los casos, más de una droga de abuso involucrada
- 696 defunciones asociadas a reacción aguda tras consumo de drogas de abuso
- Perfil de defunción: Varón soltero mayor de 44 años que no fallece por agravamiento de patología previa al consumo, que ha consumido recientemente y en cuyo análisis toxicológico aparece más de una sustancia activa, preferentemente hipnosedantes y opioides



IMPORTANCIA DEL LABORATORIO DE URGENCIAS

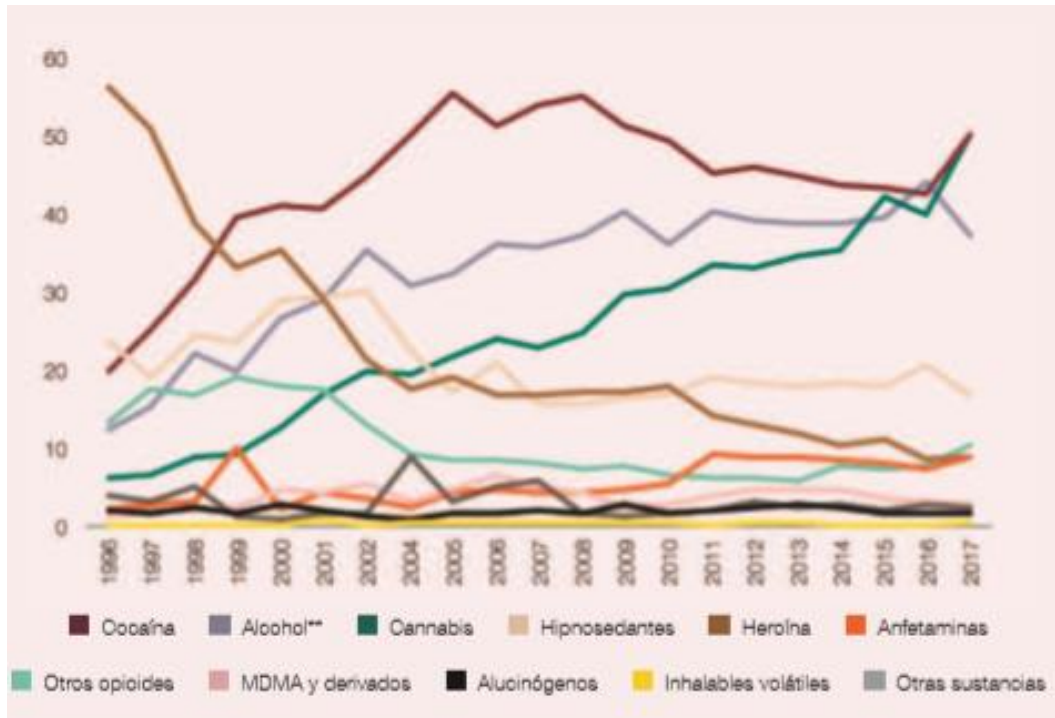


Figura 1. Porcentaje de intoxicaciones por año para cada droga de abuso atendidas en Urgencias

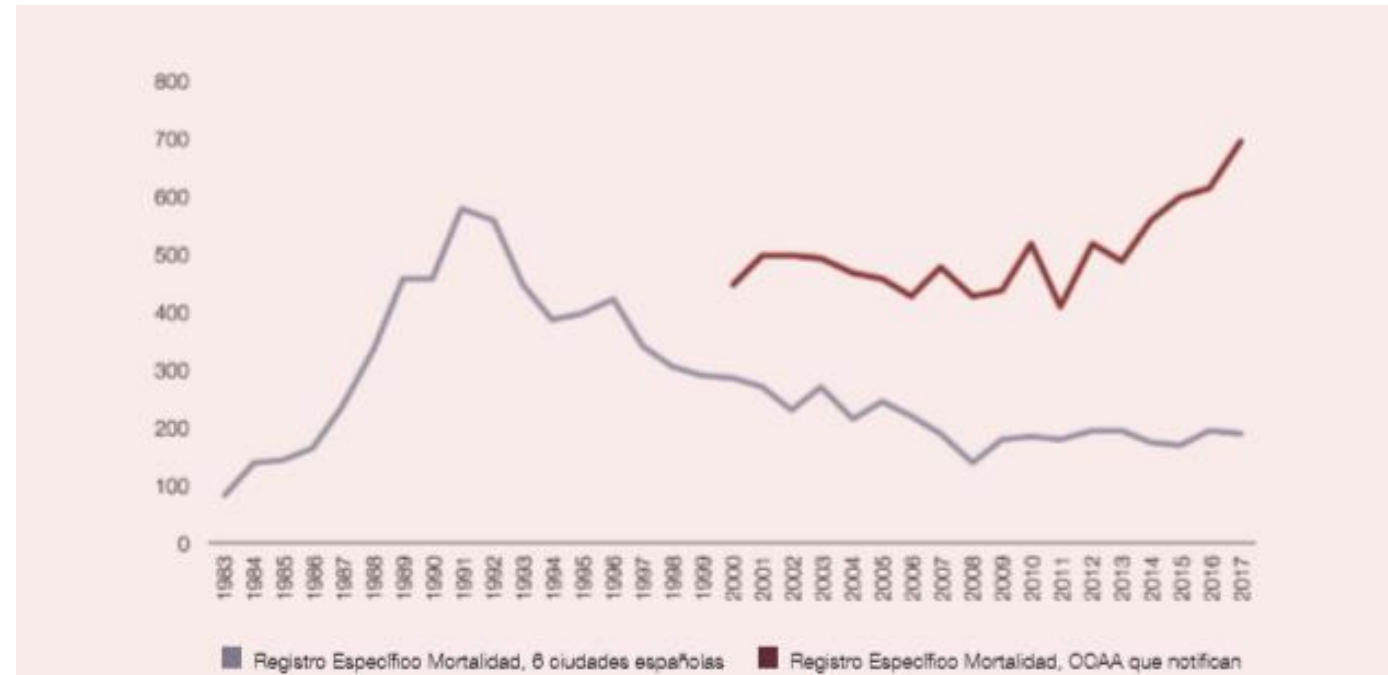


Figura 2. Número total de defunciones por año debido a intoxicaciones con drogas de abuso



IMPORTANCIA DEL LABORATORIO DE URGENCIAS

➤ Laboratorio de Urgencias del CHUB

	Nº peticiones
2014	1113
2015	1166
2016	1138
2017	1306
2018	1149

- Estabilidad en el número de peticiones y en el porcentaje de positivos
- Mayor cantidad de positivos en benzodiacepinas, cannabis y cocaína
- Tendencia de crecimiento en cocaína, opiáceos y anfetaminas

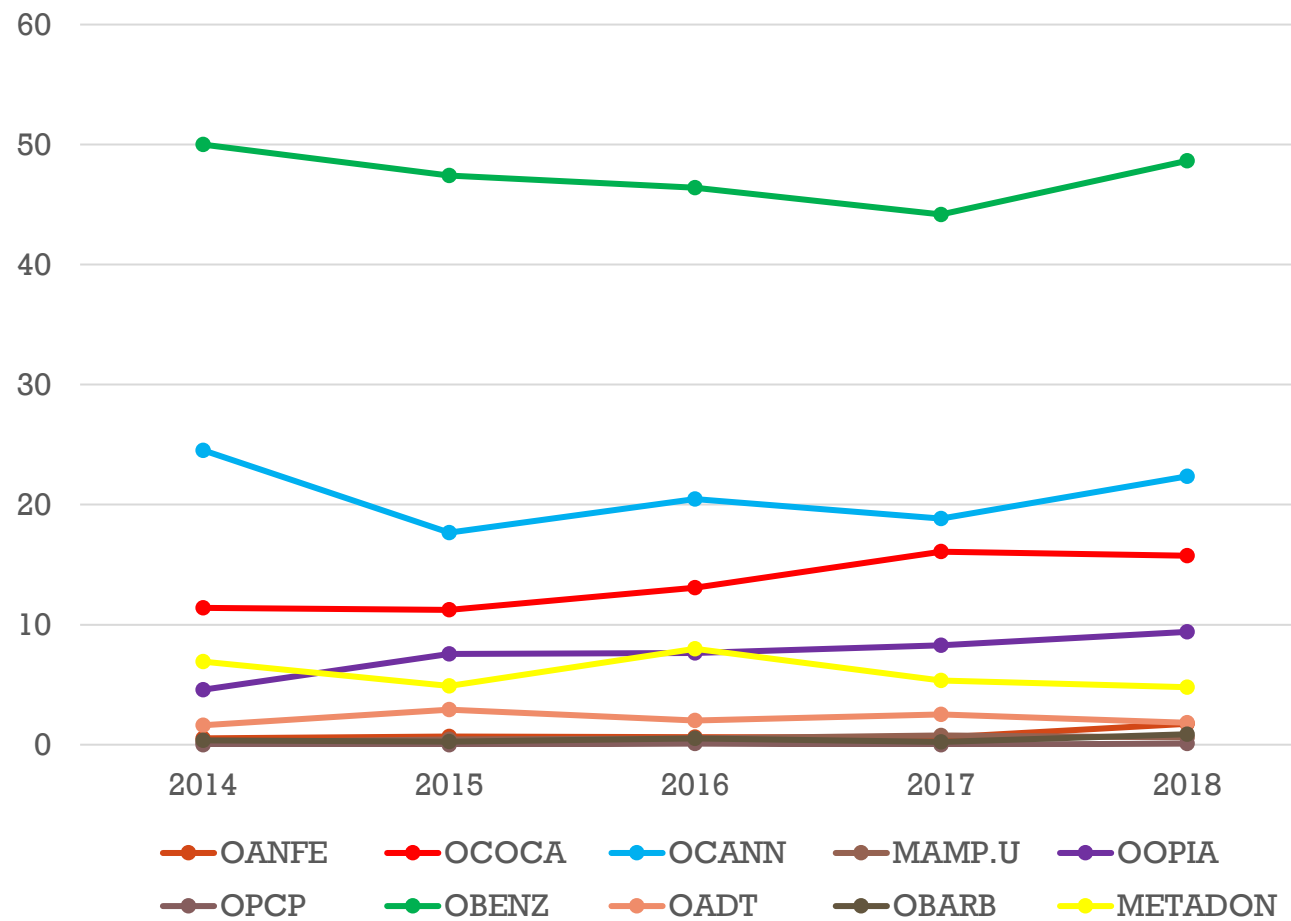


Figura 3. Porcentaje de positivos para el screening de cada droga de abuso por año



IMPORTANCIA DEL LABORATORIO DE URGENCIAS

- Intoxicación por drogas de abuso en Urgencias: cuadros clínicos muy poco específicos con intervenciones médicas orientadas a mantener las constantes vitales y aplicar antídotos si existen.

PLAN ESCANDINAVO

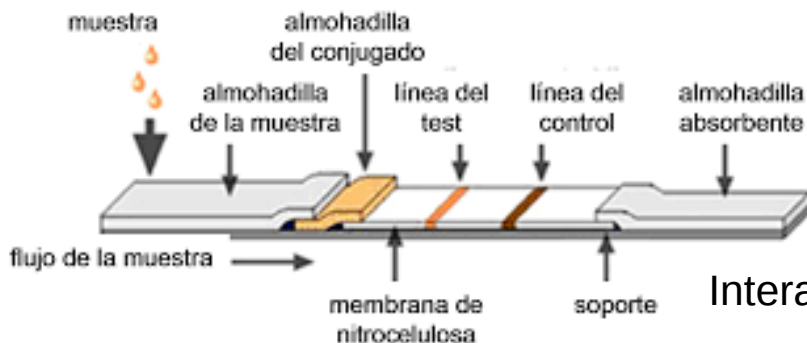
- Se prefiere una **actitud expectante, conservadora y no agresiva** para evitar las consecuencias negativas de un tratamiento que puede resultar innecesario
- **Soluciones:**
 - Antídotos ante un coma de origen desconocido: Naloxona (si se sospecha adicción), Glucosa, Tiamina (si se sospecha alcoholismo), Flumazenilo
 - Descontaminación digestiva
 - Incremento de la eliminación renal
- En el laboratorio de Urgencias se escogen procedimientos analíticos que prioricen la **rapidez** y la **sensibilidad** sobre otros parámetros como la **especificidad**



MÉTODOS DE DETECCIÓN DE DROGAS DE ABUSO

- **INMUNOENSAYOS: INMUNOCROMATOGRAFÍA Y OTROS TIPOS (CEDIA, EMIT, FPIA...)**
- **Inmunoensayo homogéneo competitivo:** Basado en la reacción competitiva entre el antígeno a analizar (droga en orina) y un antígeno marcado conjugado con un anticuerpo:
 - Mejor rendimiento para moléculas pequeñas. Solo requieren un anticuerpo específico.
- **Ventajas:** Fácilmente automatizables, tiempos de respuesta cortos, volúmenes de muestras pequeños, coste asequible, no pretratamiento de la muestra, fácil manejo. **Desventaja:** Especificidad

INMUNOCROMATOGRAFÍA DE FLUJO LATERAL (COMPETITIVO)



-**Almohadilla de muestra:** Anticuerpo específico de la droga a determinar. La muestra solubiliza y rehidrata y se produce interacción con la droga si existe

-Migración por capilaridad del conjugado por la membrana de nitrocelulosa

-**Línea del test:** Antígeno marcado con partículas de látex coloreado

Ausencia de droga

Interacción antígeno marcado- anticuerpo
LÍNEA COLOREADA

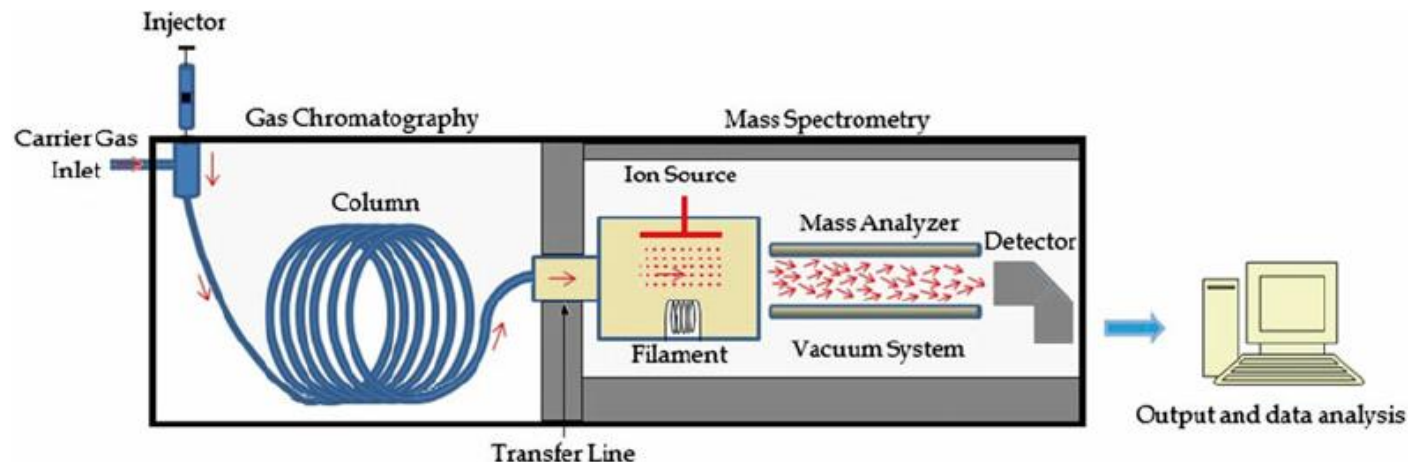
Presencia de droga

No Interacción antígeno marcado- anticuerpo
NO LÍNEA COLOREADA



MÉTODOS DE DETECCIÓN DE DROGAS DE ABUSO

- **CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG/EM)**
- **Ventajas:** Alta especificidad, alta sensibilidad. **Desventajas:** Pretratamiento de la muestra, tiempos de respuesta mayores, análisis más complejo, alto coste económico.
- Separación de la droga mediante cromatografía de gases (alta selectividad y especificidad). Identificación mediante detector de masas (elevada sensibilidad).
- El uso de estándares internos hace posible la cuantificación. Obtención de valores inferiores o superiores a puntos de corte establecidos.



MÉTODOS DE DETECCIÓN DE DROGAS DE ABUSO

➤ Comparación Inmunoensayo y CG/EM

	Sensibilidad	Especificidad	Preamanalítica	Tiempo de respuesta	Complejidad	Coste económico
InmunoE	Alta	Baja	Baja	Bajo	Baja	Bajo
CG/EM	Alta	Alta	Alta	Alto	Alta	Alto

- **Inmunoanálisis como técnica de screening:** Sus características le aportan la **rapidez** necesaria para este tipo de técnicas. Los positivos han de confirmarse por otro método.
- **GC/EM como técnica confirmatoria de los positivos** arrojados por el screening debido a su alta especificidad. **Técnica Gold-Standard**

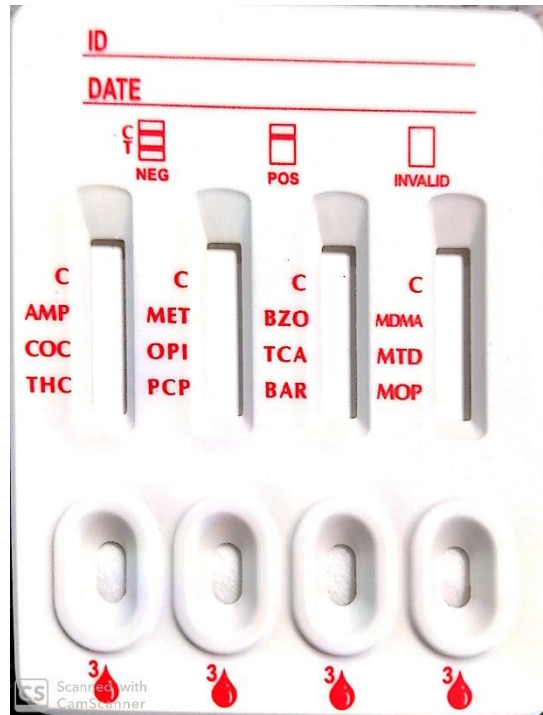


MÉTODO EN LABORATORIO DE URGENCIAS DEL CHUB

- **Inmunocromatografía:** Técnica rápida y sensible (muy bajo porcentaje de falsos negativos)
- **Orina:**
 - Altas concentraciones de la droga y/o sus metabolitos
 - Muestra no invasiva. Escasa posibilidad de contagio de VIH, VHB, VHC...
 - Grandes volúmenes de muestra
 - Tiempos de detección relativamente largos
 - Adaptada a numerosos métodos analíticos
- **One-Step Multi Line Screen Test Device (Sure Step)**
 - Detección cualitativa de múltiples drogas en un mismo test
 - Almacenamiento: Sellado a temperatura ambiente o refrigerado (T entre 2 y 30 °C). Atemperar antes de usar
 - Recogida de muestras de orina: Orina de cualquier momento del día en recipiente limpio y seco
Las orinas pueden ser conservadas un máximo de 48 horas entre 2 y 8 °C. Para conservar más tiempo, $T < -20\text{ °C}$
 - Centrifugación de la orina antes de ser usada en el test

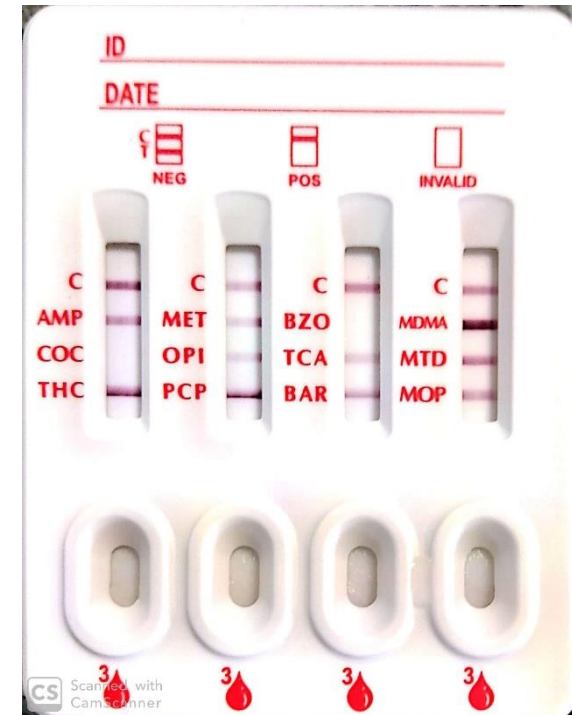


MÉTODO EN LABORATORIO DE URGENCIAS DEL CHUB



3 gotas por pocillo

Leer pasados de 5 a 10 min



- Test válido si aparece línea visible en la zona de C (control)
- Aparición de línea visible: la orina no contiene esa droga o la contiene por debajo del punto de corte de la técnica. La cantidad de droga no es suficiente para saturar los anticuerpos, los cuales reaccionan con los sistema antígeno-colorante del sistema



MÉTODO EN LABORATORIO DE URGENCIAS DEL CHUB

- **Puntos de corte:** Establecidos por el fabricante mediante el uso de calibradores propios para cada droga de abuso.

Droga de abuso	Calibrador	Punto de corte (ng/ml)
Anfetamina	D-anfetamina	1000
Barbitúricos	Secobarbital	300
Benzodiacepinas	Oxacepam	300
Cocaína	Benzoilecgonina	300
Cannabinoides (THC)	11-nor-THC-9-COOH	50
Metadona	Metadona	300
Metanfetamina	D-metanfetamina	1000
Éxtasis	D,L-metilendioximetanfetamina	500
Opiáceos/Morfina	Morfina	300
Fenciclidina	Fenciclidina	25
Antidepresivos tricíclicos	Nortriptilina	1000



MÉTODO EN LABORATORIO DE URGENCIAS DEL CHUB

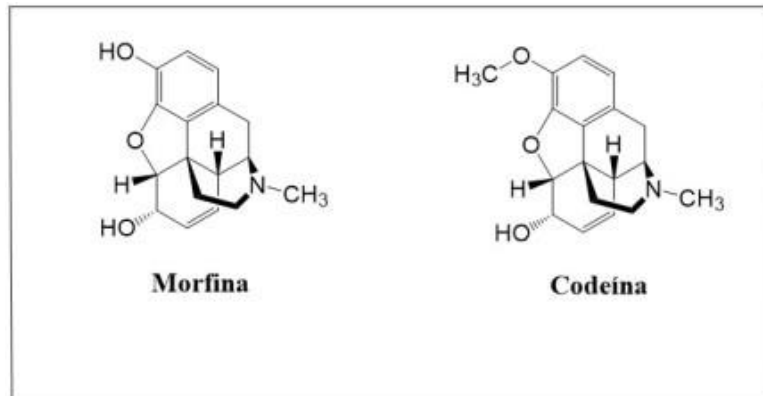
➤ Tabla de correspondencia con SIGLO

Droga de abuso	Nom. SURE STEP	Nom. SIGLO
Anfetamina	AMP	OANFE
Barbitúricos	BAR	OBARB
Benzodiacepinas	BZO	OBENZ
Cocaína	COC	OCOCA
Cannabinoides (THC)	THC	OCANN
Metadona	MTD	OMETA
Metanfetamina	MET	MAMP.U
Éxtasis	MDMA	OEXTA
Opiáceos/Morfina	OPI/MOP	OOPIA
Fenciclidina	PCP	OPCP
Antidepresivos tricíclicos	TCA	OADT



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

- **Falso positivo:** Ocurre cuando la técnica identifica como positiva la presencia de una determinada droga de abuso cuando en realidad no lo está.
- Comunes en las técnicas inmunocromatográficas debido a la baja especificidad.
- Tipos de falsos positivos:
 - Medicación que metaboliza a la droga diana (p.ej. Morfina desde codeína)
 - Exposición ambiental a la droga (p.ej. Fumadores pasivos de cannabis)
 - Exposición alimentaria (p.ej. Semillas de amapola positivizan a opiáceos)
 - Semejanza estructural o funcional con la droga diana (REACTIVIDAD CRUZADA)



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

- **Reactividad cruzada:** Capacidad potencial de un ensayo para dar un resultado positivo como consecuencia de la analogía estructural entre compuestos o de la presencia de grupos funcionales similares a los de la droga diana que hagan que el anticuerpo del ensayo sea reconocido en ausencia de la droga.
- Datos provistos por el fabricante: Calibrador usado para cada droga y % reactividad cruzada con otros analitos susceptibles de positivizar el test:
 - Obtención de la concentración necesaria de un analito determinado para producir un falso positivo

$$\% \text{ RC} = \frac{[\text{droga en el punto de corte}]}{[\text{analito del falso positivo}]} \times 100$$

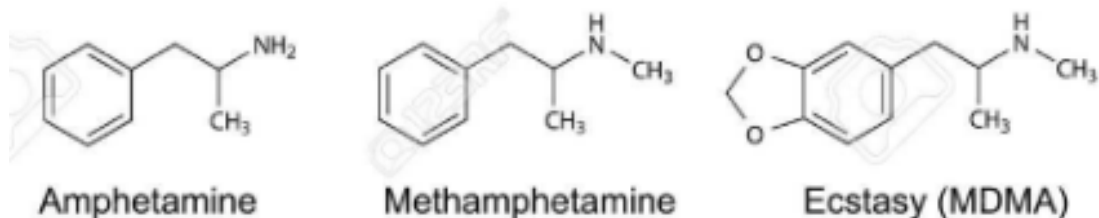
- Así, para un método de opiáceos con punto de corte = 300 ng/ml calibrado con morfina y un %RC = 5% para oxicodona, se obtiene que serían necesarios 6000 ng/ml de este analito para dar un falso positivo



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

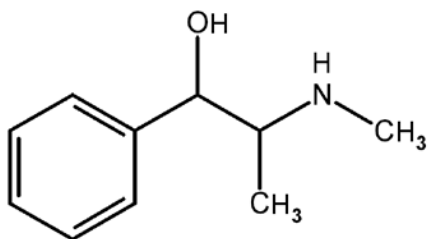


➤ ANFETAMINA, METANFETAMINA Y EXTASIS (MDMA)



- **Isómero D:** Mayor actividad estimulante del SNC. Uso como droga de abuso
- **Isómero L:** Presente en fármacos con actividad vasoconstrictora periférica. Falsos positivos. Se recomienda método de separación enantiomérica

➤ Interferencias de efedrina y pseudoefedrina por semejanza estructural



Uso como descongestionante, potenciadora de la concentración, tratamiento de la hipotensión asociada a la anestesia y como adelgazante supresora del apetito

Efedrina y pseudoefedrina: Se diferencian en la configuración espacial de sus átomos (-OH y metilo)

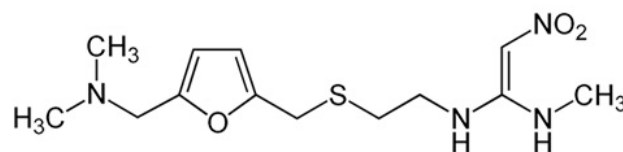


INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS



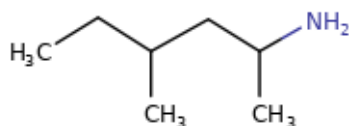
➤ ANFETAMINA, METANFETAMINA Y EXTASIS (MDMA)

- Interferencias con otras moléculas sin semejanza estructural como clorpromazina, prometazina o ranitidina



➔ **Ranitidina:** Antagonista de los receptores de histamina. Tratamiento de ulcera péptica y reflujo gastroesofágico. Falsos positivos principalmente en el test de metanfetaminas.

- Interferencia con metilhexanamina: Sustancia totalmente prohibida usada como suplemento dietético.



➔ **Metilhexanamina, dimetilamilamina o DMAA :** Interferencias en el test de anfetaminas.

➤ Otros interferentes:

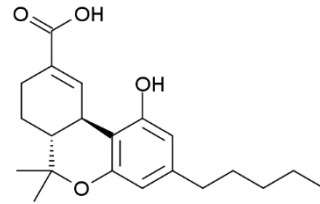
- Bupropión: Tratamiento de trastornos depresivos. Asociado a uso crónico
- Atomoxetina: Tratamiento del TDAH. Asociado a sobredosis
- Labetalol: Tratamiento de hipertensión. Reactividad cruzada con metabolito 3-amino-fenilbutano-labetalol



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

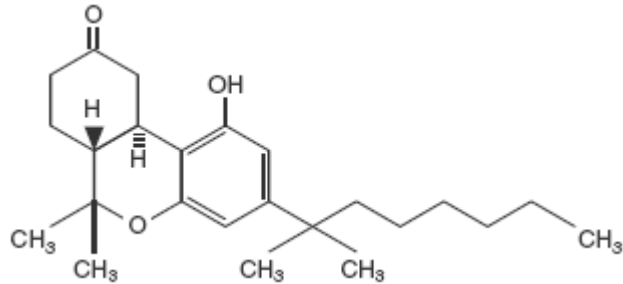


➤ CANNABINOIDES



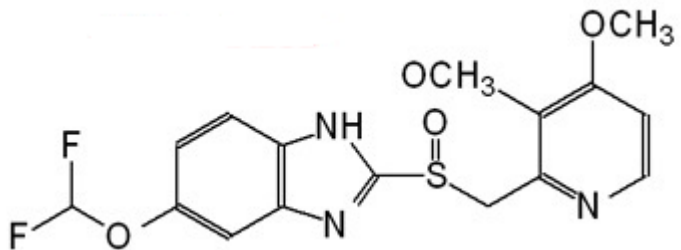
11-nor Δ 9-tetrahydrocannabinol-9-ácido carboxílico

➤ Interferencia por semejanza estructural con **dronabinol** (nabilone)



- Análogo sintético del 11-nor-THC-9-COOH
- Uso principal para el tratamiento de náuseas y vómitos severos producidos por la quimioterapia
- Uso para estimulación del apetito y manejo del glaucoma

➤ Falsos positivos asociados a inhibidores de la bomba de protones



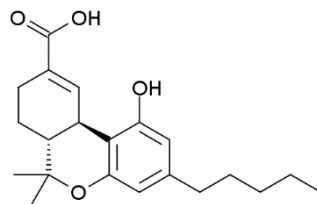
- **Pantoprazol**: Reducción de la cantidad de ácido estomacal para tratamiento de la esofagitis erosiva o el síndrome de Zollinger-Ellison



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

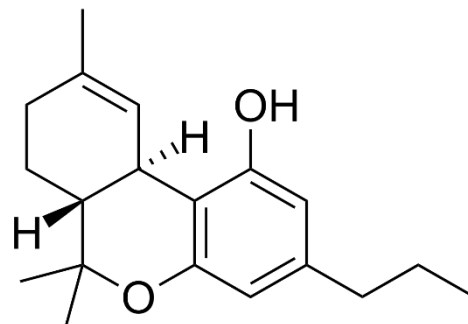


➤ CANNABINOIDES



11-nor Δ 9-tetrahydrocannabinol-9-ácido carboxílico

- Proposición de la **tetrahydrocannabivarina (THCV)** como indicador exclusivo de consumo de cannabis.

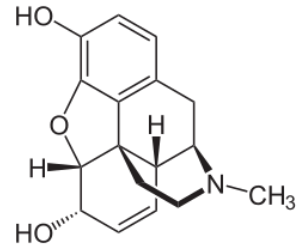


- Producto presente en el cannabis. No metabolizado a partir de cannabinoides pese a su estructura.
 - Puede indicar el consumo de marihuana sin la excusa del uso de un fármaco



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

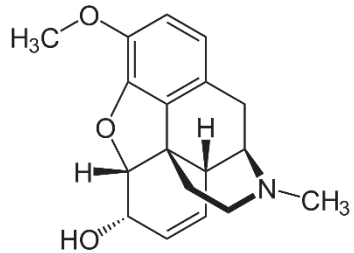
➤ OPIACEOS Y MORFINA



Ambos calibrados con morfina



➤ **Codeína:** Principal interferente de falsos positivos por analogía estructural y por metabolización a morfina



- Uso habitual como antitusivo
- Transformación hepática lenta a morfina
- Pacientes con duplicación del gen CYP2D6: Rápida metabolización a morfina. Causa de intoxicaciones y falsos positivos.

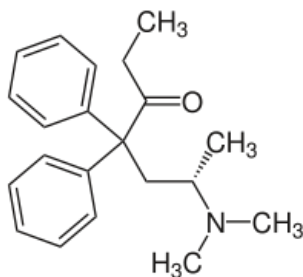
➤ Se han descrito falsos positivos con antibióticos basados en **quinolonas**:

- Ensayos de interferencia positivos para levofloxacin y ofloxacin
- No se hallan interferencias para ciprofloxacino y norfloxacino

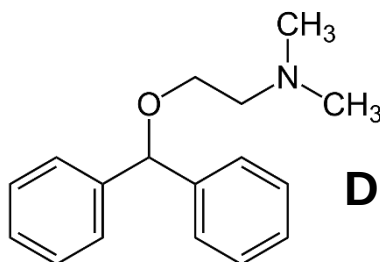


INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

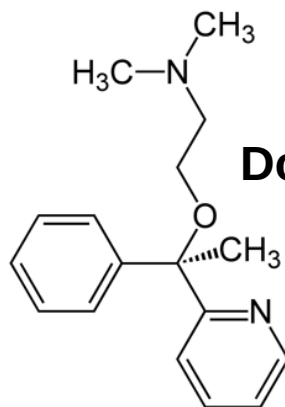
➤ METADONA



➤ Interferencias por reactividad cruzada con compuestos con gran semejanza estructural



Difenhidramina



Doxilamina



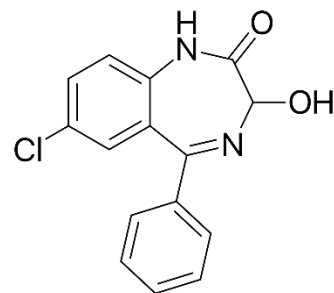
- Medicamentos ampliamente utilizados para tratar el insomnio.
- Doxilamina: Dormidina
- La Difenhidramina necesita menos dosis que la Doxilamina para provocar un falso positivo



INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

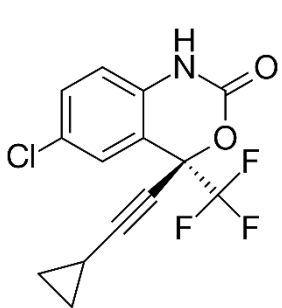


➤ BENZODIACEPINAS

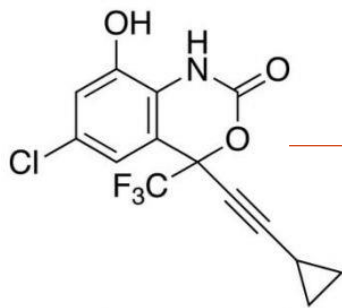


Calibrador: Oxazepam

➤ **Efavirenz:** Principal generador de falsos positivos para benzodiazepinas.



Efavirenz



8-OH-Efavirenz

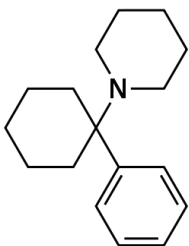
- Usado como antirretroviral para el tratamiento en paciente contagiados con VIH
- Estudio: 46 de cada 50 pacientes con tratamiento de Efavirenz dieron positivo al control de benzodiazepinas.
- Falso positivo: Provocado por el metabolito 8-OH-Efavirenz

➤ Casos demostrados de falsos positivos asociados al consumo de **sertralina** a grandes concentraciones (tratamiento depresión, TOCs, ataques de pánico y estrés postraumático)



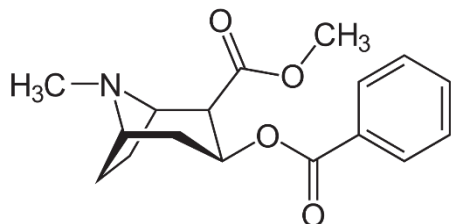
INTERFERENCIAS Y FALSOS POSITIVOS

➤ FENCICLIDINA



- El antitusivo dextrometorfano es el generador más habitual de falsos positivos para la fenciclidina
- Falsos positivos con ibuprofeno, especialmente en población pediátrica
- Se reporta algún caso positivo por interferencia con tramadol

➤ COCAÍNA



- Se caracteriza por presentar pocos casos de falsos positivos.
- Se reporta algún caso por interferencias con amoxicilina o tras el consumo de agua tónica o una infusión de te de hoja de coca

- **AINES:** Provocan interferencias para varias pruebas de droga, especialmente el ibuprofeno. Los falsos positivos más comunes se dan para barbitúricos, cannabinoides, metadona y fenciclidina



CASO CLÍNICO

- Mujer, **13 años**, derivada a Urgencias con mareo, cefalea, vómitos y anisocoria
- **Antecedentes:** alergia estacional
- **Tratamiento:**
 - Stopcold: Cetirizina (antihistamínico) y pseudoefedrina (descongestivo y antitusivo)
 - Alerius: Desloratadina (alivio estornudos y lagrimeo de ojos)
 - Avamys: Furoato de fluticasona (antiinflamatorio)
 - Salbutamol (Broncodilatador)
- **Análisis**
 - Tóxicos en orina: Éxtasis positivo, Metadona y Opiáceos dudosos
- Madre y paciente niegan consumo de tóxicos. Stopcold tomado por última vez 3 días antes y Alerius 1 día antes.
- Ingreso en observación y recogida de nueva muestra de orina.
 - Positivo en Éxtasis (Inmunocromatografía)
 - Negativo en Éxtasis en laboratorio externo (CG/EM)
- Asociación cetirizina, desloratadina y pseudoefedrina: mareos, cefalea, cansancio, taquicardia.
- PSEUDOEFEEDRINA: Falso positivo para EXTASIS



CONCLUSIONES

- ❑ Conocer límites de especificidad de los métodos de screening de drogas de abuso
- ❑ Importante respetar los requisitos técnicos de la prueba (volumen de muestra, tiempo de lectura, temperatura del reactivo al realizar la prueba...)
- ❑ Técnica de lectura visual subjetiva. En caso de duda ponerse en contacto con el clínico y repetir el test con nueva muestra si fuera necesario



**SAY NO
TO DRUGS**



**SAY YES
TO PIZZA**

GRACIAS POR SU



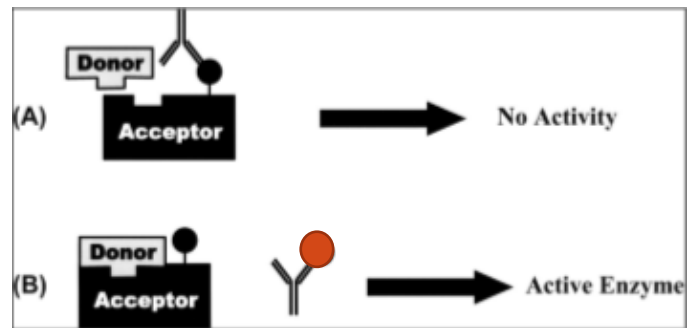
ATENCION



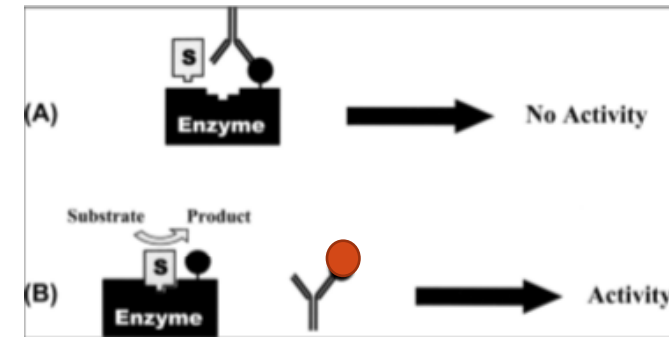
MÉTODOS DE DETECCIÓN DE DROGAS DE ABUSO

➤ OTROS TIPOS DE INMUNOENSAYOS

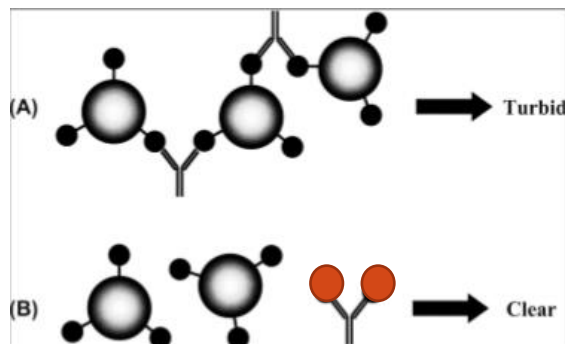
Cloned Enzyme Donor ImmunoAssay (CEDIA)



Enzyme Multiplexed ImmunoAssay (EMIT)



Kinetic Interaction of Microparticles in Solution (KIMS)



Fluorescence Polarization ImmunoAssay (FPIA)

