



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**TESIS: “DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA
REAL DE UN DISPOSITIVO DE DETECCIÓN DE
DROGAS DE ABUSO”**

MONITOREO TEMPORAL DE MUESTRAS THC POSITIVAS Y CONFIRMACIÓN POR
CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC/MS).

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

Rodolfo Falcón Antonio



MÉXICO, D.F.

AÑO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: Alejandra Quijano Mateos
SECRETARIO: Profesor: Francisco Sánchez BarteZ
VOCAL: Profesor: Héctor Javier Pérez Cano
1er. SUPLENTE: Profesor: Francisco Javier Juárez González
2° SUPLENTE: Profesora: Marisol Hernández Salas

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

SERVICIO DE ADMINISTRACIÓN TRIBUTARIA (SAT): AGENCIA GENERAL DE EVALUACIÓN, ÁREA DE TOXICOLOGÍA.

ASESOR DEL TEMA:

FRANCISCO SÁNCHEZ BARTEZ

SUSTENTANTE:

RODOLFO FALCÓN ANTONIO

RESUMEN

El presente trabajo describe un estudio teórico-práctico que sustenta la experiencia vivida en la evaluación de ampliación del tiempo de vida útil de un dispositivo de detección rápida de drogas.

La creciente competitividad por los puestos de trabajo, así como el panorama social, ha decantado a la implementación de diferentes pruebas previas a la elección del empleado. El aumento del consumo de drogas ilegales entre la población y la cada vez mayor presencia del narcotráfico en la sociedad mexicana, ha llevado a varias empresas a implementar evaluaciones toxicológicas como parte de sus pruebas de selección de personal.

La implementación correcta de estas evaluaciones, depende en gran medida del alcance que se desea obtener, así como de los recursos que disponga la empresa para su ejecución. El uso de pruebas rápidas, permite obtener resultados presuntivos en cuestión de minutos, por lo que su uso es amplio dentro de este tipo de valoraciones.

Al ampliar la vida útil de los dispositivos se puede prolongar el uso de estos dispositivos cuando se tenga una gran cantidad de estos expirados, esto con el objetivo ahorrar recursos para el programa. Esto se podrá hacer siempre y cuando se garantice que los resultados obtenidos son confiables, en este trabajo se realizó la evaluación de tres lotes expirados, cada uno con una fecha de caducidad, durante los 6 meses del estudio, se evaluó su desempeño, confirmó los resultados de la prueba y se estimó un periodo de ampliación de la vida útil del dispositivo.

CONTENIDO

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
OBJETIVOS	6
HIPÓTESIS	6
INTRODUCCIÓN	7
CAPÍTULO 1. LA MARIHUANA.....	9
1.1 Aspectos Principales.....	9
1.2 Modo de Utilización	12
1.3 Mecanismo de acción del Cannabis	14
1.4 Farmacocinética de la Marihuana	15
1.5 Efectos de la Marihuana.....	17
1.6 Detección y Análisis de los Cannabinoides	18
CAPÍTULO 2. Programa institucional para la detección de drogas.....	20
2.1 Uroanálisis en un programa institucional de detección y uso de drogas en el ambiente laboral	20
2.2 Consideraciones del programa	22
2.2.1 Alcance del programa	22
2.2.2 Recursos para el programa	25
2.2.3 Protocolo de Evaluación Toxicológica.....	28
2.2.4 Personal.....	33
CAPÍTULO 3. ANÁLISIS PRESUNTIVO Y CONFIRMATORIO	38
3.1 Análisis Presuntivo	38
3.1.1 Fundamento	38
3.1.2 Desempeño	40
3.2 Pruebas Confirmatorias.....	48
3.2.1 Principales tipos de pruebas confirmatorias.....	49
3.2.2 Cromatografía de gases: Fundamento.....	50
3.2.3 Factores Clave	53
3.3 Partes de un Cromatógrafo de Gases	56
3.3.1 Gas Acarreador (Fase Móvil)	56

3.3.2	Puerto de inyección.....	57	
3.3.3	Horno.....	57	
3.3.4	Columna	58	
3.3.5	Detector.....	62	
CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS: EVALUACIÓN DE DISPOSITIVO DE DETECCIÓN			
RÁPIDA DE DROGAS.....			65
4.1	Plan de Trabajo	66	
4.1.1	Recolección de las muestras	66	
4.1.2	Evaluación rápida	67	
4.1.3	Tomar el tiempo.....	67	
4.1.4	Pretratamiento de la muestra para la obtención del analito	67	
4.1.5	Confirmación de los resultados de la prueba rápida	68	
4.2	Resultados.....	69	
4.2.1	Prueba Presuntiva	69	
4.2.2	Prueba confirmatoria	75	
4.3	Análisis de resultados.....	82	
CONCLUSIONES.....			88
ANEXO 1. EJEMPLO DE CUESTIONARIO DE EVALUACIÓN			90
Bibliografía.....			91

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el área de evaluación toxicológica del Servicio de Administración Tributaria (SAT), se tienen casi 800 dispositivos de detección rápida para 10 sustancias de abuso iCup™, expirados, por lo cual se necesita realizar una valoración de su desempeño, para poder respaldar su uso en la recolección de muestras de orina de los evaluados de nuevo ingreso y personal de confianza, lo cual representaría evitar el desecho de estos dispositivos, lo que significaría la pérdida de dinero por parte de la institución

OBJETIVOS

Estimar la extensión de vida útil del iCup™, por medio de evaluaciones usando muestras de consumidores de marihuana.

Realizar pruebas de los dispositivos, usando muestras positivas, para determinar su capacidad en la detección de los metabolitos

Realizar las pruebas confirmatorias usando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, para confirmar los resultados positivos de las evaluaciones realizadas a los iCup™.

Describir el desarrollo de un programa de detección de drogas dentro de una institución gubernamental con el fin de optimizar los recursos.

HIPÓTESIS

El uso de dispositivos iCup™ se podrá extender más allá de su fecha de expiración, monitoreando los tiempos de reacción y no dependerá del lote a evaluar, si no de la degradación de los compuestos de reacción en el dispositivo.

INTRODUCCIÓN

El consumo de la marihuana en México, durante los últimos años ha ido incrementando de manera sostenida. De acuerdo a estudios^{1,2}, cada vez son más las personas que la consumen, y a una menor edad. El abuso de ésta y otras sustancias legales e ilegales, afectarán en primera instancia al entorno personal y familiar de la persona, y en muchos casos su desempeño laboral.

Usar de cualquier sustancia de abuso durante las horas de trabajo, puede provocar accidentes, lo que significa un riesgo latente para cualquiera institución que tenga sospecha de adicciones de alguno de sus trabajadores. Debido a esto, cada vez más instituciones públicas y privadas, están interesadas en realizar acciones de prevención, detección y rehabilitación. Todas estas acciones dependerán de las necesidades de la empresa, así como de los recursos con los que cuente.

En el caso del consumo de marihuana, suele estar relacionado con situaciones de alto estrés, aumento de horas de trabajo, o por uso recreativo en los trabajadores. Organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización internacional del Trabajo (OIT) coinciden en apuntar que tabaco, alcohol y la marihuana son las drogas de mayor consumo entre los trabajadores^{3,4}.

Actualmente se cuentan con distintos métodos para detectar la presencia de marihuana en el organismo de las personas, entre ellos está el uroanálisis, que debido a la fácil recolección de muestras, es el método más utilizado. Por medio de dispositivos de detección rápida basados en inmunoensayos, se pueden disponer de resultados rápidos por medio de reacciones entre los compuestos derivados del consumo de marihuana y los reactivos específicos para estos presentes en la prueba.

El presente trabajo se centrará en la extensión de la vida útil del dispositivo de detección de drogas ilegales iCup™ para 10 sustancias, con detección de adulterantes. En este caso sólo se estudiará la extensión del uso para la detección de compuestos relacionados con el consumo de marihuana, así mismo, los resultados obtenidos de la evaluación de estos dispositivos, se confirmarán por medio del uso de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). Con esto se busca utilizar el material ya existente dentro de la institución así como estimar el tiempo máximo de uso del iCup™ después de su fecha de expiración.

CAPÍTULO 1. LA MARIHUANA

1.1 Aspectos Principales

Referirse a la Marihuana o al Cannabis, es usualmente asociado con las sustancias psicoactivas contenidas en la planta *Cannabis sativa*. Hace 100 años, la Marihuana era usada en medicamentos como el “Dr. J. Collis Browns Chlorodyne”⁵ y el “Dr. Poppy’s Wonder Elixir”⁶. (usados para tratar diarrea y náuseas durante el final del siglo XIX e inicios del siglo XX). Posteriormente con la llegada de otros fármacos con acción analgésica, como los barbitúricos y la aspirina, el uso de cannabinoides en medicamentos disminuyó.

En 1925, se actualizó la “Convención internacional del Opio”, tratado internacional, firmado originalmente en La Haya en 1912. Su objetivo era restringir el consumo del Opio, sin embargo, durante su actualización se propuso agregar al tratado la prohibición del comercio y uso de la marihuana, derivada de la presión recibida por el gobierno de los Estados Unidos de América, por parte de la industria agraria, ya que los migrantes mexicanos, fueron quienes introdujeron el uso de la marihuana ese país, ellos ocuparon una gran cantidad de los puestos de jornaleros, lo que generó el descontento de los productores que no utilizaban mano de obra migrante, así como de los trabajadores del campo, que perdían sus empleos debido al bajo costo de la mano de obra migrante⁷.

Su utilización de la práctica médica fue eliminada en 1932, año en el que fue retirada de la Farmacopea Británica. Para 1971, la Organización de las Naciones Unidas, promulgó el “Acta de drogas de abuso”, que prohibía la utilización médica tanto de la marihuana, como de los compuestos derivados de esta⁶. Actualmente, sigue siendo una sustancia ilegal en la mayoría de los países, con la excepción de Holanda, Uruguay y algunos lugares de Estados Unidos de América⁸.

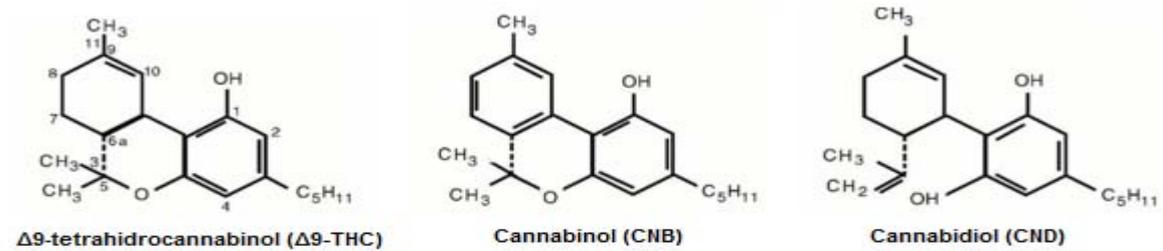


Figura 1. De izquierda a derecha, Delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ9-THC), cannabinol (CNB) y cannabidiol (CND), los 3 principales compuestos del Cannabis. Como se puede observar, los 3 comparten una estructura similar. De los 3, solo el Δ9-THC tiene actividad psicoactiva. Figura: "Pharmacology of cannabis: A briefreview". C., Ashton. British Journal of Psychiatry, 2001. Vol. 178, p. 104).

El principal compuesto psicoactivo en el Cannabis es el delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ9-THC). La planta *Cannabis sativa* contiene más de 421 compuestos químicos diferentes, entre ellos, 61 son cannabinoides. Aparte del Δ9-THC, se pueden encontrar otros cannabinoides en la planta como lo son el cannabidiol (CBD), y el cannabinol (CBN), ambos con efectos en el sistema nervioso, diferentes a los del THC (Figura 1).

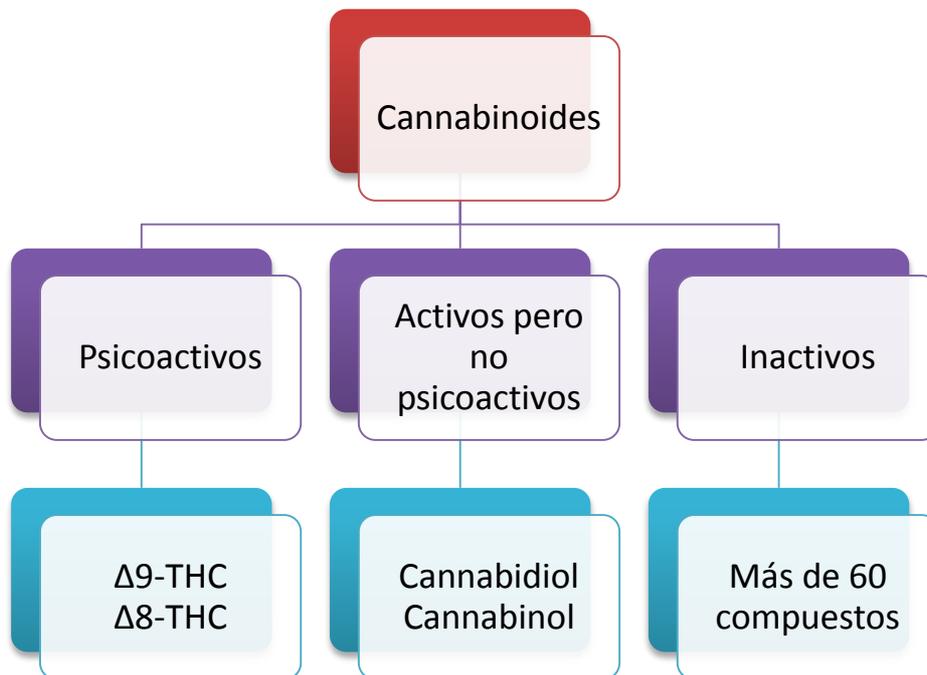


Figura 2 Compuestos cannabinoides encontrados en la planta Cannabis Sativa. Existen más de 60 compuestos cannabinoides en la planta, pero sólo dos, son los principales causantes de los efectos psicoactivos (Figura: P, Sharma; P. Murthy; et. al.; "Chemistry, metabolism, and toxicology of cannabis: clinical implications", Iranian journal of psychiatry, 2012).

La cantidad de THC presente en una muestra de cannabis se utiliza como unidad de medida de la potencia de este. Según datos de la Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (ONUDD), generalmente una muestra de marihuana contiene un 5% de THC en su composición, mientras que al obtener la resina de la planta se puede obtener hasta un 20% de THC, y en el caso del aceite de hashish se puede tener una concentración del 60% del compuesto^{2,9}. Un estudio demostró que el porcentaje de contenido en THC en los cargamentos decomisados de marihuana en los Estados Unidos de América aumentó de 3.4% en 1993, a 8.8% en 2008, esto tras analizar más de 46 mil muestras de decomisos de marihuana realizados entre 1993 y 2008¹⁰. El incremento está relacionado con la mejora de las técnicas de cultivo selectivo de la planta, para obtener, en un menor tiempo, más producto con una mayor concentración de principio activo. Sin embargo, no es claro si este aumento ha hecho que la gente consuma más marihuana, o simplemente ajusten sus dosis. Los botones de la planta son los que contienen la mayor concentración de THC, seguido por las hojas, tallos y semillas. De acuerdo a la ONU, las hojas contienen 10 veces menos THC que los botones, mientras que los tallos y semillas, tienen aproximadamente 100 veces menos⁹. Según el Instituto Nacional Americano sobre el Abuso de Drogas, el humo obtenido del consumo de hojas y tallos secos de la marihuana contiene varias sustancias, que también están presentes en el del tabaco, las cuales, pueden causar enfisema y cáncer. Al unir tabaco y marihuana, el efecto nocivo se incrementa.¹¹

1.2 Modo de Utilización

Existen tres modos principales para el consumo de compuestos cannabinoides: marihuana, hashish, y aceite de hashish.

1.2.1 Marihuana

Es el más difundido de los tres, comúnmente conocido como *hierba*, *mota*, *café*, estos términos se refieren a las flores secas, y tallos de la planta *Cannabis sativa*. El contenido de THC en esta presentación varía entre los 0.5 y 5%^{12,13}, la forma más común para su consumo es por medio de un cigarro, también se pueden usar vaporizadores, *hitters*, *bongs*, *narguile*, pipas de agua y otros dispositivos que ayudarán a la generación de vapores derivados de la combustión de la marihuana¹⁴. Las hojas secas, tallos y botones de la marihuana se pueden utilizar también para la fabricación de productos alimenticios (galletas, brownies, hotcakes), las cuales también tienen efectos psicotrópicos cuando se consumen¹⁵.



Figura 3 Flores secas de *Cannabis sativa*, es la forma más usual de comprarla. Dependiendo de la calidad y concentración de tetrahidrocannabinol, será el precio en que se ofrece. (Foto: “Banks Say No To Marijuana Money, Legal or Not”, Huffington Post, 2014)

1.2.2 Hashish

El hashish es la forma más consumida en países africanos y asiáticos, de ahí que el nombre tenga un origen árabe que significa “hierba seca”. Está hecho a partir de la compresión de las resinas obtenidas del cannabis, es extraído de la planta por medio de procesos químicos o mecánicos, cuyo objetivo será el expulsar la resina de los botones de la planta. La resina contiene una mayor

cantidad de THC, por lo cual el porcentaje presente en el Hashish variará entre el 2 y 20 por ciento^{12,13}. Se vende como bloque en comprimidos, bolas o *ladrillos*^{2,9}, y generalmente cuando llegan a los consumidores, se venden en pequeños cuadros envueltos en papel aluminio. Su consumo es en forma de cigarros, pipas, o usando manzanas como pipa, muchas veces se le agrega tabaco.



Figura 4 El Hashish como barra comprimida de las resinas de la planta de *Cannabis sativa*. (Foto: Drug. Inc. Gallery, Hash, National Geographic Channel)

1.2.3 Aceite de Hashish/Marihuana

Es obtenido a partir de la disolución del THC de la marihuana o hashish con algún solvente orgánico (etanol, acetona, entre otros). Generalmente se macera la hoja o botón del cannabis, para posteriormente agregarle el solvente, se agita y se deja reposar, esto con el objetivo de obtener la mayor cantidad de THC posible¹⁴. Una vez que se ha dejado un tiempo suficiente, se procede a filtrar, y finalmente, se deja evaporar para eliminar el solvente, quedando una pasta espesa de color marrón a negro.

El aceite contiene la mayor concentración de THC de las tres presentaciones con valores que oscilan entre el 15 y el 50% de concentración^{12,13}. Se suele consumir con tabaco o con un cigarro de marihuana, se debe de tener cuidado con el aceite, ya que una sola gota puede causar efectos alucinógenos fuertes¹⁶,

además de ser un poco irritante para la garganta. Otra manera de consumirlo es por medio del uso de un vaporizador.



Figura 5 El aceite de hashish es el producto que contiene más porcentaje de THC. (Foto: "Butane Hash Oil -- The Good, the Bad and the Ugly", Huffington Post, 2014)

1.3 Mecanismo de acción del Cannabis

La planta de Cannabis contiene más de 421 compuestos químicos, de los cuales 61 son cannabinoides¹⁷. Hay que mencionar que al fumar cannabis se producen más de 2 mil compuestos, entre los cuales se hallan compuestos nitrogenados, aminoácidos, hidrocarburos, terpenos y ácidos grasos simples.

Estos compuestos contribuyen a las propiedades farmacológicas y toxicológicas del cannabis. De todos los compuestos cannabinoides el delta-9-tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC) es considerado como el compuesto más psicoactivo. El Δ 9-THC es un aceite viscoso y volátil, con una gran solubilidad en lípidos y una baja solubilidad en agua.

Dos hipótesis actualmente explican el mecanismo *in vivo* de la acción del Δ 9-THC:

- La primera es un modelo basado en una acción inespecífica del glucoronido, que es el compuesto como se secreta el $\Delta 9$ -THC, teniendo interacciones con membranas y organelos celulares inespecíficos en el cerebro¹⁷. De acuerdo a esta teoría, delinear un solo mecanismo de acción es muy difícil, ya que diversos análisis moleculares han demostrado que la acción de THC es en varios sitios intracelulares, que incluyen los receptores opiáceos y benzodiazepínicos. Además los cannabinoides tienen una variedad de efectos en los sistemas enzimáticos, secreciones de hormonas y neurotransmisores. Es esta evidencia de acción difusa, que da sustento a esta hipótesis.
- La segunda sugiere un mecanismo específico con los receptores cannabinoides (Receptores CB). Estos receptores están presentes en el cerebro y en la periferia. Los receptores CB1 se encuentran en el cerebro y están concentrados en regiones anatómicas relacionadas con la memoria, ansiedad, percepción del dolor, cognición, coordinación motora y funciones endócrinas. Los receptores CB2 están localizados en el bazo y en tejidos periféricos, estos receptores se cree que juegan un rol en la acción inmunosupresora de los cannabinoides¹⁷.

1.4 Farmacocinética de la Marihuana

Del THC inhalado al fumar marihuana; casi todo es absorbido a través de los pulmones, lo cual permite su entrada a torrente sanguíneo con lo que se facilita su distribución, los efectos son perceptibles en minutos. Cuando el consumo es por ingesta de alimentos preparados con marihuana, la biodisponibilidad es menor, ya que se tienen concentraciones del 25-30%, que con la misma dosis pero inhalada, en parte esto es debido a su metabolismo previo en el hígado, por lo cual el efecto es retardado (30min-2h), pero la duración es mayor debido a la lenta y continua absorción por parte del intestino^{17,18}.

Una vez absorbido, el THC y otros cannabinoides son rápidamente distribuidos a todos los tejidos dependiendo del flujo sanguíneo. Debido a la naturaleza altamente liposoluble, los cannabinoides son acumulados en tejidos grasos, para posteriormente ser liberados lentamente para ir a otras regiones, incluido el cerebro. Debido a esto, la eliminación del $\Delta 9$ -THC, es de aproximadamente 7 días, y su completa eliminación puede llevar hasta 30 días. Hay que decir que si se consume de manera regular, los niveles cannabinoides presentes en el cuerpo son mayores¹⁸.

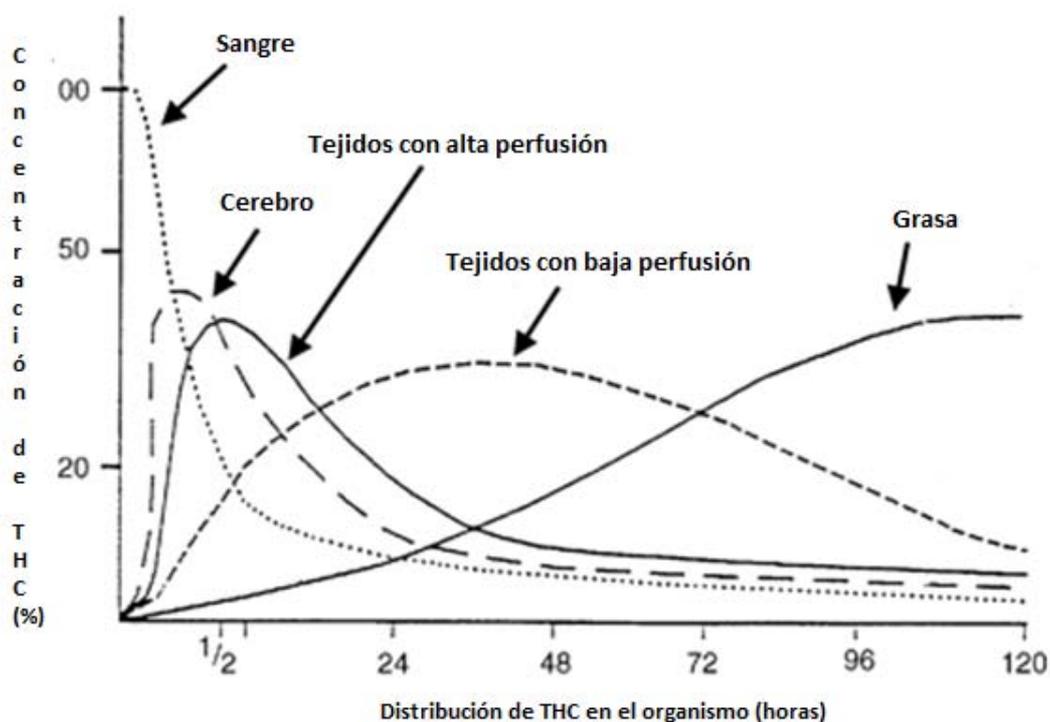


Figura 6 Distribución del THC en el organismo. La distribución del THC después de un consumo en sangre y tejidos. Vea la rápida disminución de los niveles en plasma, y el aumento de concentración en tejidos grasos conforme avanza el tiempo. La distribución estará determinada por el flujo sanguíneo y la perfusión de sangre a los diferentes tejidos (Figura: "Pharmacology of cannabis: A brief review". C., Ashton. British Journal of Psychiatry, 2001. Vol. 178, p. 104).

Los cannabinoides son metabolizados por el hígado. El metabolito de mayor concentración será el 11-hidroxi-THC el cual, es probablemente más potente que el THC y se cree es el responsable de algunos efectos del cannabis. Aparte de este, existen otros metabolitos conocidos, varios de los cuales también son

psicoactivos. Los metabolitos son excretados en orina, pero la mayoría serán reabsorbidos por el intestino, lo que prolonga su acción en el organismo. Debido al efecto de “secuestro” del THC por parte de los tejidos grasos, no hay relación entre los niveles en plasma; orina y el grado de intoxicación por cannabinoides.

1.5 Efectos de la Marihuana

Los efectos que produce el consumo de cannabis pueden variar, pero generalmente son los siguientes:

- Relajación
- Percepción alterada del tiempo
- Falta de concentración
- Cambios de humor
- Taquicardias
- Garganta seca
- Aumento en el apetito
- Vasodilatación
- Disminución de la frecuencia respiratoria

También se han reportado casos de reacciones paranoicas, psicosis y ataques de pánico, aunque estos últimos efectos están relacionados con consumidores psicológicamente vulnerables y depende de la dosis consumida¹⁸. El consumo de cannabis puede provocar una taquicardia relacionada con el consumo, así como también una vasodilatación (que se puede observar en el enrojecimiento de los ojos), baja de presión sanguínea, entre otros. Los efectos cardiovasculares relacionados con el consumo de cannabis pueden representar un riesgo entre personas que presenten afecciones cardiacas. Su abuso también está relacionado con daño pulmonar y con alteraciones en los resultados de electroencefalogramas (EEG).

1.6 Detección y Análisis de los Cannabinoides

La medición de los cannabinoides es necesaria para varios tipos de estudios, entre los que destacan

- Estudios farmacocinéticos
- Tratamientos antidrogas
- Estudios de investigación
- Pruebas de confianza en el trabajo

Se han desarrollado varios métodos para el análisis y detección de los metabolitos derivados del consumo de cannabis. Actualmente, los compuestos cannabinoides pueden ser detectados en saliva, sangre, orina, cabello o uñas. Esto es posible gracias al uso de varias técnicas analíticas, como los inmunoensayos (EMIT, Elisa, polarización fluorescente). De la misma manera se tienen varias técnicas cromatográficas para la detección y cuantificación de los cannabinoides, como son la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), cromatografía de capa fina (CCF), cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (CLAR-EM)¹⁹.

La orina es la forma de detección predilecta, debido a las altas concentraciones, al mayor tiempo de detección y cuantificación de los metabolitos del cannabis, además, las muestras pueden ser fácilmente recolectadas. La detección no dependerá sólo de la sensibilidad del ensayo; sino también de factores como la vía de administración, cantidad absorbida de cannabinoides, grasa corporal del evaluado, metabolismo, excreción, y el tiempo en que se toma la muestra, todo esto tendrá impacto en la detección del $\Delta 9$ -THC y sus metabolitos. Los inmunoensayos son usados como método preliminar; pero, al poder presentarse resultados falsos positivos o falsos negativos debido a la detección de sustancias estructuralmente relacionadas por parte de los anticuerpos, así como el uso de adulterantes que afecten el pH, cualquier resultado positivo o sospechoso, debe confirmarse por medio de una técnica cromatográfica. La concentración promedio encontrada entre los consumidores habituales de cannabis es de 50 ng/mL. Valores por debajo de esto, son asociados con

consumidores ocasionales, o exposición a cannabis involuntaria. Debido a su alta liposolubilidad, la vida media en tejidos del cannabis es de 7 días, y la eliminación completa en el organismo puede tardar hasta 30 días¹⁸, por lo que un resultado positivo, podría estar relacionado a un consumo reciente previo a la evaluación.

Para poder implementar una evaluación toxicológica en el ámbito laboral, es necesario que la institución que desea hacerlo, realice un estudio de sus necesidades, así como tener un protocolo bien establecido para realizar estas actividades, en el siguiente capítulo se desglosarán todas las consideraciones que son necesarias tomar en cuenta para su implementación.

CAPÍTULO 2. Programa institucional para la detección de drogas

2.1 Uroanálisis en un programa institucional de detección y uso de drogas en el ambiente laboral

En el pasado, debido a la falta de evaluaciones idóneas para la selección del personal, se tenían problemas en dónde los empleados participaban en actos ilícitos. El objetivo principal de la evaluación, es tener evidencia de que el trabajador que se va a contratar sea confiable, honesto y se encuentre en sintonía con la visión y misión de la institución o empresa a la que representa.

Los primeros indicios metodológicos en la selección del personal surgen a inicios del siglo XX, con Frederick Winslow Taylor, quien en su libro “Los principios de la Administración Científica”²⁰, planteó las bases de la supervisión del trabajo, así como la asignación a cada trabajador de actividades de acuerdo a sus aptitudes. Él planteó lo siguiente como uno de los principios de la Administración Científica: “Científicamente seleccionar y posteriormente entrenar, enseñar y desarrollar al trabajador, mientras que en el pasado éste elegía su propio trabajo y se autoentrenaba lo mejor que podía”²¹, este fue el inicio de la administración como una disciplina, lo que a la larga llevaría a la evaluación de personal. Sin embargo Winslow no contemplaba la honestidad, confianza y sintonía del trabajador con la empresa.

Con el paso de los años y por el aumento del consumo de drogas, varias empresas (transporte, seguridad privada) e instituciones (militares, seguridad pública, personal aduanal), se han dado a la tarea de implementar programas de detección de drogas, dentro del proceso de selección y seguimiento del personal. Para tener un programa efectivo, se necesita tener una interconexión entre las evaluaciones que se realicen, es decir, complementar la información de una con los resultados de otra. Para el caso de la valoración toxicológica, la información

obtenida de la psicológica y del polígrafo, muchas veces se obtendrán datos clave en posibles consumos de drogas por parte del evaluado. No todos los programas de detección son iguales, ya que dependerán directamente del alcance que se desea, así como del tipo de trabajo de cada persona. Si se considera como primordial por el perfil del puesto, que el trabajador no abuse de alguna sustancia legal o ilegal, el programa tendrá reglas estrictas para garantizar que el evaluado cumpla con las exigencias de la empresa o institución. Si el control que se desea es más con el objetivo de detectar o prevenir pero sin que esto impacte en el desarrollo del trabajador dentro de la empresa o institución, entonces el programa puede ser menos riguroso, y con vistas más hacia la prevención del consumo o la rehabilitación de las personas.

El Servicio de Administración Tributaria (S.A.T.) ha implementado desde hace varios años la evaluación del personal, tanto de nuevo ingreso como de personal que ya labora en la institución, ésta se divide en 4 etapas: Polígrafo, Psicológica, Socioeconómica y Toxicológica. El programa se implementó con el objetivo de demostrar la confiabilidad de la gente que labora o quiere laborar en la institución²². Aunque en el reporte del S.A.T., se menciona lo difícil de erradicar ciertas actitudes arraigadas entre varios servidores públicos para cometer actos de corrupción, el programa tiene como objetivo presente el ir depurando a los servidores públicos proclives a cometer actos de este tipo, y su principal reto es mejorar la imagen pública del personal que labora dentro de la institución²³.

La evaluación se realiza de manera periódica para todo el personal que ya labora en alguna área del S.A.T., y para el personal de nuevo ingreso es una prueba obligatoria. Para realizarla se pide a los evaluados que se presenten durante 2 días a las instalaciones, mientras van pasando por las diferentes pruebas. Finalmente y cuando se han concluido, se reúnen los informes de las diferentes pruebas para poder dar un veredicto final, y mandar el informe al área donde labora o va a laborar.

De todas las evaluaciones realizadas, la Toxicológica es en dónde un egresado de la carrera de Química Farmacéutico Biológica (Q.F.B.) o de otras carreras del

área de ciencias biológicas y de la salud, será el encargado de realizar las actividades de evaluación, análisis y dictamen del personal. Aparte de esto, un evaluador toxicológico debe de contar con habilidades de comunicación, negociación, manejo de sustancias peligrosas, así como, estar capacitado para realizar las pruebas presuntivas y confirmatorias.

La evaluación toxicológica tiene mayor importancia en aquellos puestos donde el trabajador está constantemente expuesto al manejo de sustancias ilegales, o en casos en el que la atención y habilidades del empleado deben estar atento al máximo durante su horario de trabajo. El mejor ejemplo de este tipo de puestos es el caso de los Oficiales de Comercio Exterior (OCE), los cuales se encuentran en cualquiera de las 49 aduanas del país que son manejadas por la Agencia General de Aduanas (AGA). Los OCE, al ser los encargados de determinar la legalidad de las mercancías que ingresan al país, evitar robos dentro de las aduanas, así como de portar y usar armas de fuego, es importante considerar estos requisitos para su selección, ya que los OCE estarán expuestos continuamente a la manipulación de sustancias ilegales así como a intentos de soborno, por lo cual, la evaluación, es de gran utilidad para seleccionar al personal adecuado²³.

2.2 Consideraciones del programa

Antes de implementar un programa de detección de drogas hay que considerar lo siguiente²⁴⁻²⁷:

2.2.1 Alcance del programa

El uso del uroanálisis para la detección de drogas debe de ser considerado como parte de un programa integral para reducir o prevenir el impacto negativo del abuso de sustancias legales o ilegales dentro de una industria u organización.

Esto dependerá del tipo de organización que se posee, así como, el tipo de riesgo que tenga su personal de manipular algún tipo de sustancia ilegal.

Por ejemplo, en caso de ser alguna empresa que se encargue de la manufactura y/o distribución de precursores químicos, todo el personal implicado en el desarrollo, fabricación o transporte de los productos, será considerado como de alto riesgo, debido al posible consumo o tráfico de las sustancias fabricadas por la empresa. En el caso de los organismos gubernamentales encargados de la seguridad de la población, se considerará a todos los trabajadores, como propensos a consumo, tráfico o de recibir sobornos, por lo que todos tendrían que ser evaluados. Por otra parte, una empresa dedicada al marketing, no tendrá algún perfil de puesto que implique estar en contacto con alguna sustancia prohibida, por lo que la evaluación en este caso, debería de ser general, y no se hará énfasis en buscar alguna sustancia en especial. Es por ello que no todos los empleadores pueden tomar la misma decisión a la hora de implementar su programa de prevención/detección de abuso de drogas.

Puede haber casos donde sólo se sospeche del uso de sustancias ilegales, debido a un aumento en los índices de ausentismo, descenso en la productividad, incremento en el número de accidentes, pérdida de producto dentro de las instalaciones de la institución. En caso de que no se encuentre ningún indicador del uso de alguna sustancia de abuso, los administradores deberán analizar si es realmente necesario implementar un programa. La presencia y extensión de un problema de consumo de sustancias ilegales dentro de la estructura laboral, se puede determinar por medio de un sondeo basado en cuestionarios, el cual puede incluir el análisis de muestras de orina, todo esto realizado de manera anónima. Lo que permitirá tener un panorama de la situación presente en la institución, así como los beneficios que se podrían derivar de la implementación del programa,

En la más reciente encuesta nacional de adicciones se estima que 1.2% de la población entre los 12 y los 65 años, ha consumido marihuana, y que el 0.5% consumieron cocaína¹, el grupo más susceptible a consumir este tipo de drogas

son los hombres entre los 18 y los 34 años. El uso de otras sustancias de abuso ilegal es del 0.2%. El abuso de drogas de prescripción como tranquilizantes y antidepresivos fue del 1.8%, este último grupo de sustancias, al ser legales, pueden ser más frecuentes dentro del ámbito laboral, sin embargo, esto no significa que por ser legales, no pueda existir un consumo nocivo. En estos casos, siempre que se encuentre la presencia de un metabolito relacionado con el consumo de un medicamento de prescripción, se debe de realizar la prueba confirmatoria, ya que en caso de encontrar una alta concentración de metabolitos y compuestos relacionados al consumo de este tipo de medicamentos, puede significar una adicción por parte del evaluado.

El programa siempre estará al margen de lo que una institución pueda destinar para la implementación del mismo. Generalmente las grandes empresas e instituciones de gobierno serán las más interesadas en implementarlo, debido a que ayuda a fortalecer la credibilidad, eficacia y operatividad, todo esto en conformidad con objetivos y funciones aplicables en cada institución o empresa, así como asegurar los niveles homogéneos de profesionalización en el desempeño de sus actividades. Permite contar con instituciones públicas o privadas que destaquen por tener empleados competentes, confiables, alejados de la corrupción, con una visión de servicio y cuyo perfil corresponda a los requerimientos del puesto y valores de la empresa.

Asimismo, puede ser como la institución lo requiera, en la mayoría de las de los casos, se buscará algo sencillo, sobre todo si no se tienen sospechas de consumos entre sus trabajadores, y estos no están involucrados en actividades de contacto con sustancias de abuso ilegal. Para estos casos, el programa consistirá en un cuestionario de hábitos y adicciones que se podrá hacer de manera anual para dar un seguimiento de sus empleados. Así como solicitar un examen médico general de manera periódica, para asegurar que la salud de los trabajadores se encuentra bien, y en caso de no estarlo poder tomar cartas en el asunto. Sólo en dónde haya sospecha del consumo de alguna sustancia ilegal, se procederá a realizar una investigación y se le podría pedir al empleado una

muestra para la realización de un análisis toxicológico, en este caso, el empleado deberá de dar su consentimiento para poder realizarlo.

Cuando el empleado tenga un riesgo latente de ingerir sustancias ilegales, aparte de los exámenes médicos generales, se tendrá un modelo más enfocado en la detección, como son los estudios rápidos de detección de compuestos derivados de la ingesta de sustancias ilegales, así como un cuestionario más enfocado a, obtener información relacionada al consumo de sustancias (legales e ilegales), y el porqué de su uso. Dependiendo de los recursos de la empresa, número de trabajadores y periodicidad de estos exámenes, la evaluación se hará por una empresa especializada, o se buscará implementar un área dentro de la compañía encargada de realizar estos estudios.

2.2.2 Recursos para el programa

Ya sea dentro o fuera de la compañía, el área que se usará para la evaluación toxicológica deberá de contar al menos con lo siguiente:

2.2.2.1 Área de recepción de evaluados

El área de recepción deberá ser lo suficientemente amplia para tener a los evaluados cómodos en un área de espera, ésta no deberá tener la visibilidad hacia el cuarto de evaluación, esto con el objetivo de que las personas que esperan, se encuentren tranquilas, y los que se encuentran en evaluación, no se sientan observados.

2.2.2.2 Cuarto de evaluación

Deberá contar con el espacio suficiente para tener todo lo necesario durante la prueba y la aplicación del cuestionario. Generalmente se evalúan a grupos de 3-4 personas, por lo que se deberá de tener lugares suficientes para que todos

puedan realizarla. Sólo el evaluador permitirá el ingreso a dicho espacio. Cuando se realice la toma de la muestra de orina, el cuarto deberá permanecer cerrado, para resguardar las pertenencias personales de los evaluados.

2.2.2.3 Baño

Tendrá que ser de uso exclusivo para la toma de la muestra. Las puertas de los escusados permanecerán abiertas durante la evaluación para evitar posibles intentos de adulteración, además, se deberá contar con supervisión por parte de un evaluador del mismo género, mientras se realiza. Todo esto tiene que ser indicado previamente, durante la aplicación del cuestionario, con el propósito de que los evaluados den su autorización para realizar esta actividad.

2.2.2.4 Almacén de consumibles

Todo lo relacionado con la evaluación y con los consumibles de uso diario en el área, estarán resguardados en un cuarto de acceso restringido. El almacén deberá contar con la humedad y temperatura adecuada, para evitar que ninguno de los consumibles se vea afectado por estas condiciones. Se debe llevar un inventario de manera periódica, para tener un registro fidedigno de lo que se encuentra, así como un registro de entrada y salida de consumibles, para poder garantizar que ninguno sea extraído.

2.2.2.5 Área de retención

Es importante tener un área exclusiva para esta actividad. En caso de tener una muestra presunta positiva. El evaluado será llevado para realizar una nueva encuesta, y se le indicará que su muestra será retenida para realizar una prueba confirmatoria, todo esto se hará con su consentimiento. Todo lo que se requiere hacer para asegurar que la muestra llegue al área de laboratorio sin que sea adulterada, está indicado en el apartado de evaluación de la muestra que se encuentra más adelante en este capítulo. El área debe contar con todos los

materiales necesarios para la retención (cuestionarios, cintas de seguridad, recipientes de transporte)

2.2.2.6 Área de refrigeración

Hay que contar con un área para mantener las muestras, a las que se les realizará el análisis confirmatorio, a bajas temperaturas, con el objetivo de que los compuestos presentes en la muestra no se degraden por acción de la temperatura. Está deberá contar con el espacio suficiente para tener almacenadas las muestras que se vayan reteniendo, esto dependerá de la cantidad de evaluados que tenga la institución, y el promedio de retenciones que se presenten.

2.2.2.7 Área de laboratorio

Ya sea que encuentre en el mismo espacio que las otras áreas o en un espacio separado, dependerá de las necesidades y presupuesto de la institución. El laboratorio debe estar certificado para realizar las actividades de análisis de muestras biológicas²⁸, así como contar con los equipos, materiales, reactivos, servicios y áreas adecuadas para realizar las pruebas confirmatorias. Ésta debe tener acceso restringido y se tendrá que portar el equipo de seguridad necesario antes de ingresar. El acabado sanitario del área debe ser adecuado para su fácil limpieza y para evitar la acumulación de residuos en sus superficies. El sistema de extracción de aire tiene que estar prendido mientras se realizan los análisis para evitar la acumulación de gases de los reactivos en el área.

Toda fauna nociva (insectos, roedores, principalmente) que ingrese, deberá ser eliminada, se tendrá que realizar una limpieza exhaustiva y una fumigación por lo menos 2 veces al año. En caso de que se decida tener por separado el área de evaluación y el área de laboratorio, se deberá contar con una forma de transportación que garantice la seguridad y viabilidad de las muestras para realizar la prueba confirmatoria.

2.2.2.8 Almacén de desechos

El almacén de desechos deberá estar en un área dispuesta para ello, se tendrá que contar con una ruta hacia al almacén que procure no pasar por zonas donde se encuentren trabajadores y lejos de la vista de los evaluados. Todo desecho generado de la prueba confirmatoria así como de las muestras negativas tomadas, se considerará como un residuo peligroso biológico infeccioso (RPBI), y ha de ser manejado como tal, por lo que se debe portar el equipo de seguridad especial para su transporte al almacén. Los desechos serán recogidos por alguna empresa especializada en manejo de residuos peligrosos biológicos infecciosos, para lo cual se tendrá que contar con un calendario definido para recolección de los desechos²⁹.

2.2.3 Protocolo de Evaluación Toxicológica

Una vez que se ha decidido implementar el programa para detección de sustancias de abuso se debe determinar un protocolo para la toma de muestras.

El protocolo indicará de manera detallada todo el proceso de evaluación, desde que se recibe al evaluado, hasta el reporte de resultados de la prueba. Se puede dividir en 5 partes para su desarrollo:

2.2.3.1 Entrevista

La entrevista se llevará a cabo el día de la evaluación. El encargado deberá aplicar un cuestionario cuyo objetivo será recabar información médica básica del evaluado, y de posibles consumos durante su vida de sustancias de abuso. El evaluador ha de mantener un ambiente de confianza para que el evaluado se sienta tranquilo y responda el cuestionario (Ejemplo de cuestionario en el Anexo 1) sin temor a posibles represalias o señalamientos.

Para todo programa para detección de sustancias de abuso se necesita un cuestionario, el cual debe tener como primer objetivo recolectar la mayor información relacionada al consumo o conocimiento por parte del evaluado. Haber consumido alguna sustancia ilegal o medicamento controlado durante la vida, no hace adicto a una persona, por lo cual es muy importante tener un cuestionario sencillo y claro, que permita al evaluado mencionar su historial de consumo de sustancias de abuso (legal e ilegal), durante su entrevista.

El segundo objetivo del cuestionario será tener información relacionada con la historia médica reciente del evaluado, esto se refiere a recabar información relacionada a: Cirugías en los últimos 6 meses previos a la evaluación, el consumo de: algún medicamento, remedio herbolario, vitaminas o complementos alimenticios durante el último mes. Esto con el fin de identificar posibles medicamentos que pudieran interferir con el resultado de la prueba.

El cuestionario debe ser lo más corto posible, con preguntas claras y concisas para evitar la confusión, antes de que el evaluado llene el cuestionario, se debe dar una explicación previa para contestarlo, con el objetivo de aclarar cualquier duda que tuvieran sobre las preguntas, así como responder cuestionamientos relacionados con consumos, conocimientos de sustancias de abuso ilegal, etc. Una vez resueltas sus dudas se dejará a los evaluados llenar el cuestionario. El cuestionario deberá ser llenado en el menor tiempo posible (ya que, generalmente son varios los evaluados). Cuando terminen el cuestionario, lo pasarán al evaluador, ya que éste, ha de revisar que todas las respuestas se hayan contestado de manera idónea. En el anexo 1 se tiene un ejemplo del cuestionario realizado para este trabajo.

Una vez terminado el cuestionario, el evaluador dará instrucciones, de lo que podrá y no podrá hacer el evaluado durante la toma de la muestra de orina. Posteriormente se le pedirá que firme una carta responsiva donde quede documentado, que al evaluado se le ha informado de la toma de muestra, y está de acuerdo en la forma en que se realizará. Es importante mencionar que la toma

de la muestra se realizará con supervisión ocular, ya que es probable que algunos evaluados se inconformen y se nieguen a realizar la toma de la muestra. En estos casos, se procederá a pedirle al evaluado que firme una declaración donde exprese su negativa a realizar la toma, tras esto se podrá retirar.

2.2.3.2 Toma de muestra

Tras la entrevista, se pedirá al evaluado dejar sus objetos personales en el cuarto de evaluación para tomar la muestra de orina, la cual deberá realizarse en un sanitario exclusivo para dicho fin. Durante la toma de muestra el evaluado ha de orinar de tal manera que el supervisor pueda ver en todo momento que la muestra no está siendo alterada. Una vez finalizado, se le pedirá al evaluado que cierre el contenedor de la muestra, pase a lavar sus manos y tome su muestra para dirigirse al cuarto de evaluación.

La supervisión debe ser lo menos invasiva para el evaluado, por lo cual la persona encargada de esta tarea, deberá encontrarse a un par de metros de distancia. Si el evaluado tiene dificultad para orinar, se le darán unos minutos para intentarlo, en caso de que no pueda o no sienta necesidad de orinar, regresará al cuarto de evaluación, se le proporcionará agua y pasados unos minutos procederá nuevamente a la toma de muestra.

El dispositivo a usar depende de las necesidades de la empresa que quiera realizar los controles, el tipo de drogas que pretenda detectar, y del presupuesto con que cuente para la compra de los dispositivos.

Actualmente existen en el mercado varios tipos de dispositivos, sin embargo todos cuentan con componentes para detectar ciertos metabolitos de drogas, la temperatura de la muestra y su pH. Si la muestra presenta una temperatura fuera del rango de los 32-38°C³⁰, después de algunos minutos de ser recolectada, es muy probable que la muestra sea adulterada por lo cual se deberá de pedir al donante que repita la prueba. Por otra parte el pH de la orina suele oscilar entre

4.5 y 8.0, dependiendo de la hora de la toma, alimentos ingeridos previo a esta. Las infecciones en vías urinarias, y problemas hepáticos, pueden provocar que se obtengan valores de pH por encima de 8.0³¹. En estos casos el cuestionario ayudará a detectar resultados anómalos, ya que en casos donde no se pueda establecer una razón para la obtención de resultados anómalos, se deberá de realizar otra toma, o realizar una retención.

El iCup™ fue el dispositivo usado para este trabajo el cual servirá en la detección de 10 sustancias de abuso (legal e ilegal), con detección de adulterantes, y control de temperatura y pH, la información al respecto del dispositivo, así como las pruebas de control de calidad, sensibilidad, forma de uso y tiempo de vida, se discutirán durante el capítulo 3.

2.2.3.3 Análisis Confirmatorio de la muestra

Con la muestra obtenida, se procederá a leer los resultados del dispositivo rápido de detección, se revisará que la temperatura y pH se encuentren en valores normales, y se observará si el dispositivo detectó en la orina alguna sustancia de abuso. En caso de un resultado negativo, el evaluado podrá retirarse en cuanto el evaluador lo indique. Para los casos donde el dispositivo da un resultado positivo, se le informará y se procederá a realizar la retención de la muestra, para hacer pruebas confirmatorias de la misma. En caso de que el evaluado esté de acuerdo, firmará una carta responsiva y él mismo realizará el resguardo de su muestra, pondrá los cintillos de seguridad, y anotará el número de estos en la responsiva, todo esto con el objetivo de que el evaluado tenga la seguridad que su muestra se mandará sellada y protegida al laboratorio. Una vez finalizada la retención, se le dará la encuesta de calidad de la evaluación y pasará a retirarse.

La muestra retenida se enviará al laboratorio para realizar las pruebas confirmatorias. El resultado de la prueba rápida, así como el cuestionario,

servirán para establecer el número de extracciones a realizar, así como para que sustancias se hará la prueba confirmatoria.

2.2.3.4 Reporte de resultados

Una vez finalizado el análisis confirmatorio de la muestra, se procederá a elaborar el reporte de resultados obtenidos de la prueba, el cual deberá contener toda la información obtenida de la cromatografía, así como un informe de los metabolitos encontrados en ella, relacionados con el consumo de alguna droga. En caso de tener un resultado negativo, se deberá sustentar el dictamen con la información recabada por el equipo.

El reporte por parte del laboratorio se juntará con lo reportado en la prueba presuntiva y el cuestionario realizado, toda esta información se presentará al jefe del área para su revisión final y el visto bueno. Finalmente el reporte será enviado junto con las otras pruebas de evaluación del personal para determinar la situación contractual del evaluado.

2.2.3.5 Desecho de muestras

Una vez analizadas las muestras, se deberán mandar a un depósito temporal, alejado del resto de las instalaciones. Éste deberá evitar la intromisión de fauna nociva, así como estar acondicionado para poder mantenerlas por periodos cortos. Ya que los desechos obtenidos de los análisis son biológicos, infecciosos y orgánicos tóxicos, no podrán ser enviados a cualquier basurero, por lo cual se necesitará contratar una empresa especializada en transporte, tratamiento y eliminación de este tipo de residuos. La empresa deberá estar certificada para realizar este tipo de actividades, así como contar con la infraestructura para realizar el tratamiento de los mismos.

Para saber qué empresas están certificadas para realizar este tipo de actividades se debe visitar la página de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT)³², Se elegirá a la empresa dependiendo del tipo de desecho que se tenga, el tratamiento o destino que se quiera dar. Una vez seleccionada, se debe establecer un horario, con el objetivo de nunca tener saturado el almacén temporal; el personal de recolección deberá identificarse para poder entrar y recogerlos, así como entregar un recibo que indique las cantidades y tipo de desecho, esto con el objetivo de tener un registro escrito de que la actividad se realizó.

2.2.4 Personal

El personal involucrado en las evaluaciones será tan importante como lo es tener las instalaciones correctas, y un protocolo bien establecido para realizar las actividades. Para este punto sólo se mencionan aquellos puestos que están en contacto directo con las muestras, y que son personal interno de la institución que realiza la evaluación. En el caso del personal encargado del manejo de desechos biológicos infecciosos, éste deberá cumplir con todo lo establecido en la normativa vigente para este tipo de desechos²⁹.

2.2.4.1 Evaluador y Analista

Para ambos puestos se requiere profesionales de las carreras relacionadas al área de ciencias de la salud, de preferencia con experiencia en análisis clínicos, forenses, toxicológicos, (Químico Farmacéutico Biológico, Químico Farmacéutico Industrial, Ingeniero Bioquímico, Químico Bacteriólogo Parasitólogo, Medicina), habilidades de conversación, de redacción. En el caso de los analistas, deberán contar con la calificación y experiencia necesaria en técnicas de extracción y cromatográficas, así como en el uso de equipos de cromatografía de gases y/o líquidos.

2.2.4.1.1 Evaluador

Se encargará de realizar todo el proceso de la prueba toxicológica. A continuación se enlistan las actividades que realizará durante las evaluaciones:

- Recibir a los evaluados, dirigiéndose con respeto a ellos, haciendo que se sientan en confianza. Procurar responder las dudas y preguntas que tengan por medio de respuestas sencillas y concretas.
- Durante el cuestionario, estará siempre pendiente de que las preguntas hechas sean del entendimiento de los evaluados, por ello es importante dar una explicación previa a su resolución.
- Al momento de explicar la prueba, tiene que dejar en claro que se tendrá que realizar con supervisión, para así evitar confusiones y disminuir la incomodidad de las personas.
- En caso de detectar un resultado positivo durante la prueba rápida, tendrá que preparar el material para realizar la retención.
- En la entrevista hecha durante la retención de la muestra, su objetivo principal será el obtener la mayor información posible de los consumos de la persona, así como sus conocimientos del tema, con el objetivo de poder enfocar a ciertas sustancias el análisis confirmatorio, así como tener información para realizar el informe final del análisis.
- Una vez terminada la evaluación se realizará un reporte de resultados obtenidos, o en caso de haber hecho una retención, deberá de enviar la muestra al laboratorio y esperar por los resultados antes de hacer el reporte.
- Cada mes se deberá de llevar un control del número de retenciones, en donde se indicarán los tipos de sustancias que obligaron a la acción,

rango de edad, y todo lo que pueda llevar a tener una idea de los consumos presentes dentro de la empresa o institución, así como ayudar a idear formas para contrarrestar estos casos.

2.2.4.1.2 Analista

Se encargará de realizar el análisis confirmatorio de muestras retenidas, en las que se obtuvo un resultado positivo durante la evaluación con el dispositivo. Deberá contar con experiencia en análisis fisicoquímicos, así como en el desarrollo e implementación de técnicas de extracción. También tener conocimientos en el manejo de equipos de cromatografía de gases, líquida de alta resolución y cualquier técnica que se utilice dentro del laboratorio para la detección de sustancias. Para realizar su trabajo, el analista, siempre revisará la información que el evaluador manda sobre la muestra. La información personal del evaluado no le será revelada al analista, con el objetivo de evitar filtración de información y evitar que su dictamen no sea interferido por motivos personales.

Una vez que el analista sepa el grupo de sustancias de abuso (legal o ilegal) por las cuales se ha enviado la muestra, podrá iniciar el análisis confirmatorio, el cual consta de los siguientes puntos:

- Tomar una alícuota de la muestra, dependiendo de la sustancia a identificar será el volumen a usar.
- Si es necesario, deberá realizar un tratamiento a la muestra, previo al análisis.
- Preparar el medio para hacer la extracción líquido-líquido de los compuestos de interés para el análisis (metabolitos relacionados a consumo de sustancias de abuso), dependiendo de las características de ésta, será el tipo de solución que se hará.

- Realizar las extracciones líquido-líquido que se consideren necesarias a la muestra, dejando reposar y posteriormente reponiendo el medio.
- Una vez finalizado, la muestra obtenida empezará a evaporar, por medio del uso de una parrilla dentro de una campana de extracción, esto con el objetivo de disminuir lo más posible la cantidad de solventes orgánicos presentes en ésta.
- Si se necesita agregar algún agente para finalizar la extracción se agrega y se tapa mientras se sigue calentando. De no ser así se tapa la muestra y se retira de la parrilla.
- Una vez enfriados los viales, se procederá a programar el equipo donde se realizará la prueba para poder iniciar con el análisis (para el presente trabajo, se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas).
- Una vez programado el equipo se inyectará la muestra, y se iniciará el programa para analizar la muestra.
- Una vez finalizada el análisis, se interpretarán los resultados, ya sea con la biblioteca que posea el equipo o de manera manual.

2.2.4.2 *Transportista*

En caso de que se requiera transportar las muestras para su análisis confirmatorio, el personal encargado del transporte deberá contar con capacitación para el manejo de sustancias biológicas infecciosas, así como con un vehículo con área climatizada para resguardar las muestras, o en su defecto contar con un dispositivo de transporte, el cual mantenga la temperatura de éstas por debajo de los 5°C durante todo el trayecto, con el objetivo de evitar una

degradación de los compuestos presentes. Al recibir las muestras de retención, el transportista debe revisar que todas se encuentren correctamente selladas con un cintillo de seguridad, que la documentación de cadena de custodia se encuentre completa. Una vez que haya realizado estas actividades, firmará de recibido y las pondrá en el transporte. Dependiendo de la cantidad de muestras que la institución maneje, será el tipo de transporte. En casos donde el número sea grande, se necesitará un camión con cámara de enfriamiento con termoregistrador, el cual llevará un histórico de la temperatura durante el traslado. En casos donde la cantidad sea menor, se usará una cámara portátil de refrigeración, o un dispositivo que mantenga constante su temperatura, para resguardar las muestras, así como un termoregistrador.

Una vez que se tenga un protocolo de trabajo, así como las áreas de trabajo bien establecidas, se necesita conocer más sobre los dispositivos que se utilizarán para la evaluación toxicológica del personal, así como de la confirmación de los resultados obtenidos de la prueba rápida de detección de sustancias de abuso.

CAPÍTULO 3. ANÁLISIS PRESUNTIVO Y CONFIRMATORIO

3.1 Análisis Presuntivo

3.1.1 Fundamento

Actualmente existen pruebas presuntivas para la detección rápida de sustancias de abuso, las más utilizadas están basadas en muestras de orina, ya que son fáciles de usar y su precio no es tan elevado³³.

Las pruebas rápidas de detección de drogas se sustentan en inmunoensayos de competencia de una, cuyo principio es la reacción antígeno-anticuerpo. Para entender mejor el funcionamiento de un inmunoensayo, es necesario definir qué es un antígeno y qué es un anticuerpo. Antígeno será cualquier molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos. Los anticuerpos son proteínas generadas por el cuerpo en respuesta a una sustancia extraña, por lo que se producirán como respuesta inmunológica del cuerpo para protegerse, en el caso de los inmunoensayos, los anticuerpos serán producidos usando bacterias o animales de laboratorio para su producción y posterior recolección. Los anticuerpos presentarán una gran afinidad para el antígeno para el cual fue producido, es esta unión, la que permitirá la detección de analitos de interés usando inmunoensayos.

Para el caso de las pruebas rápidas de detección de drogas de abuso ilegal, se basarán en un inmunoensayo competitivo de una fase, donde los analitos derivados del consumo de estas sustancias, competirán contra antígenos marcados presentes en una membrana capilar donde también se encontrará un anticuerpo para este tipo de sustancias. Durante la prueba, la orina se va eluyendo en la membrana por capilaridad. Si hay o no presencia suficiente de algún derivado de alguna droga, los sitios específicos de unión no se saturarán, entonces el anticuerpo reaccionará con el antígeno conjugado con el marcador

presente en la placa, haciendo que una línea visible aparezca en la región de prueba para cada sustancia. Si se llegan a encontrar cantidades suficientes de analitos derivados del consumo de sustancias de drogas de abuso ilegal, los sitios de unión con los anticuerpos afines a ellos, se saturarán, evitando que los antígenos marcados no se unan a los anticuerpos lo que hará que la línea de color no aparezca, debido a que no se generó el conjugado antígeno marcado-anticuerpo que lo genera³⁴. Lo que indicará un resultado positivo, el cual surgirá de una interacción entre el compuesto relacionado con el consumo de algún tipo sustancia que detecte el dispositivo y la región específica (existen ciertas sustancias que dan falsos positivos y que se indicarán más adelante). Para servir como control del proceso, la línea de color siempre aparece en la región de control del dispositivo, indicando que el volumen adecuado de muestra ha sido añadido y que la reacción con la membrana ha ocurrido¹⁹.

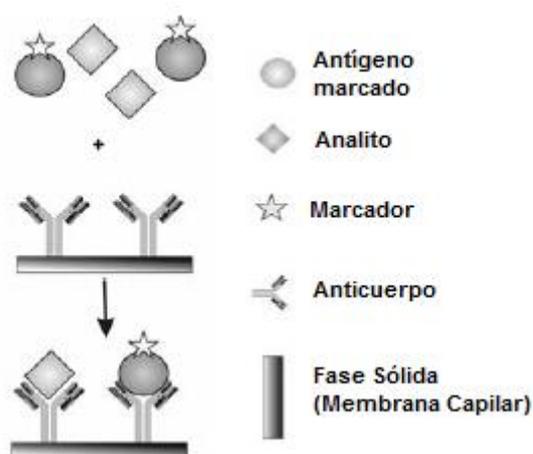


Figura 7 En un inmunoensayo de competencia de una fase, el analito competirá por los sitios de unión de anticuerpos afines a ellos. Cuando la cantidad de analito es menor, los anticuerpos no se saturarán, lo que hará que los antígenos unidos a marcadores, generen una respuesta colorida o fluorescente, que indicará un resultado negativo. Cuando la cantidad de analito es suficiente para saturar los sitios de unión de los anticuerpos, no habrá coloración o luminiscencia, lo que indicará un resultado positivo. Figura basada en "The evolution and developments of immunosensors for health and environmental monitoring: problems and perspectives", Bojorge Ramírez, N.; Salgado, A. M.; Valdman, B. (2009), *Brazilian Journal of Chemical Engineering* vol. 26 (2) p. 230

El dispositivo iCup™ utilizado para el presente trabajo contiene una membrana capilar recubierta con un conjugado droga proteína (hecho con albumina bovina purificada) en la zona de la reacción, a su vez, contará con una zona de control, donde, un anticuerpo policlonal de cabra que reaccionará con el conjugado oro-proteína, y un sitio de tinción que contiene partículas coloidales de oro

recubiertas de un anticuerpo monoclonal de ratón específico para las sustancias que detecta (anfetaminas, cocaína, metanfetamina, metilendioximetanfetaminas, morfina, THC, fenilciclidinas, barbitúricos, benzodiazepinas, metadona y antidepresivos tricíclicos)³⁵.

3.1.2 Desempeño

3.1.2.1 Limitaciones

- La prueba rápida de detección multidroga iCup™, proporciona sólo un resultado preliminar cualitativo. Se ha de usar un método analítico para realizar la confirmación del resultado. La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) es el método que generalmente es usado para realizar las pruebas confirmatorias, ya que a pesar de que el 70% de las sustancias rutinarias encontradas en análisis toxicológicos se pueden detectar usando cromatografía de líquidos acoplado a un detector ultravioleta, muchos de los compuestos no tienen una adecuada fluorescencia o absorción. Además, la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría, tiene una baja especificidad y sensibilidad³⁶.
- Hay una posibilidad de que ocurran errores técnicos o de procedimiento, así como la presencia de algunas sustancias que interfieran con el resultado de la muestra lo que puede generar resultados erróneos.
- Adulterantes tales como blanqueador o aluminio pueden producir resultados erróneos sin importar el método analítico usado. Si se sospecha que la muestra ha sido alterada, se deberá repetir la prueba con otra muestra de orina del evaluado³⁷.

- Un resultado negativo no indica que la muestra esté libre de alguna droga o derivado de ésta. La prueba puede salir negativa en caso de que la sustancia presente, esté por debajo del nivel mínimo de detección de la droga.
- La prueba no distingue entre drogas de abuso y ciertos medicamentos. Ejemplo de esto es el uso del retroviral Efavirenz (EFZ), usado en el tratamiento del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), con resultados falsos positivos para cannabinoides. Esto se debe a la interferencia del metabolito del medicamento, el Efavirenz-8-glucuronido, el cual, interfiere en la unión de los antígenos marcados presentes con el anticuerpo específico para esto, lo que provocará que la reacción colorida no se de, lo que dará como resultado un resultado presunto positivo^{38;33}.
- Un resultado positivo podría ser obtenido después de ingerir ciertos alimentos o suplementos alimenticios. Un ejemplo de esto es el consumo de Agua Quinada con falsos positivos para Opiáceos³⁹.

3.1.2.2 Precauciones

- La prueba deberá mantenerse cerrada hasta el momento de su uso.
- Todas las muestras se consideran como sustancias biológicas infecciosas y habrán de manejarse de la misma manera como un agente infeccioso.
- El dispositivo una vez usado, será desechado de acuerdo con las regulaciones federales y locales²⁹.
- No congelar el dispositivo, ya que puede causar problemas con su funcionamiento y conducir a resultados erróneos o inclusive a invalidar el uso de la muestra⁴⁰.

3.1.2.3 *Recolección de muestras y preparación*

- En caso de recolectarse directamente en el dispositivo, se deberá hacer en un lugar exclusivo para realizar la prueba
- Para muestras tomadas antes del uso del dispositivo, la muestra debe ser recolectada en un contenedor limpio y seco. La orina puede ser recolectada a cualquier hora del día. Muestras que contengan precipitados visibles, se recomienda centrifugarlas, filtrarlas previo al uso del dispositivo.
- Las muestras serán almacenadas a temperaturas entre los 2 y los 8°C hasta 48 horas antes de usar el dispositivo⁴⁰.
- Para almacenamientos prolongados la muestra tendrá que conservarse a temperatura inferior a los -20°C. Antes de ponerla en el dispositivo la muestra debe ser descongelada y mezclada⁴⁰.

3.1.2.4 *Partes del dispositivo*

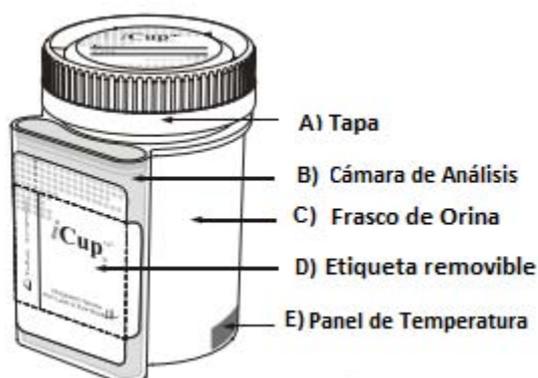


Figura 8 Partes del Dispositivo de Detección Rápida de Drogas. Figura: "One Step Multi-Drug Screen Test Card with the Integrated iCup", Instant Technologies, 2004.

- A. Tapa: La tapa servirá para mantener la muestra segura, y evitar derrames del espécimen, así como identificación de la muestra por parte del evaluado al que se le pedirá que ponga su firma.
- B. Cámara de análisis: Es la zona del dispositivo, donde se encuentra la membrana con la prueba rápida.
- C. Frasco de orina: El frasco podrá llenarse en el momento por el evaluado, o si es recolectada previamente, podrá depositarse una vez que se encuentre a temperatura ambiente.
- D. Etiqueta removible: Esta etiqueta debe permanecer durante la evaluación, ya que detrás de ella se encuentra el panel de resultados de la prueba.
- E. Panel de temperatura: Este panel ayudará a tener un control de la temperatura de la orina en casos donde sea recolectada en el momento, lo que permitirá asegurar que la muestra es reciente.

3.1.2.5 Instrucciones de Uso

- A. Permitir que el dispositivo y la muestra (si es recolectada previamente), alcancen una temperatura ambiente (entre 15°C y 30°C).
- B. Abrir la bolsa que contiene el dispositivo, remover la tapa, pedir al evaluado que identifique la tapa y usarlo lo más pronto posible.
- C. Una vez depositada la muestra, se cerrará el frasco en una superficie plana.

D. Se inicia el cronómetro, y se espera a que la muestra comience a eluir y aparezcan las líneas rojas.

E. Los resultados deben leerse a los 5 minutos, y no deben interpretarse después de 10 minutos.

3.1.2.6 Interpretación de Resultados

- **Negativo:** Dos líneas aparecen. Una línea roja deberá aparecer en la región de control (C) y otra línea roja o rosa debe estar en la región de la muestra (T) Esto indica que la droga no está presente en la muestra o está por debajo de los niveles detectables por el dispositivo. La nitidez de la línea en la zona de la muestra podrá variar, pero será considerado como resultado negativo incluso cuando resulte una línea rosa tenue.
- **Positivo:** Una línea roja aparecerá en la región de control (C). Ninguna línea aparece en la región de la muestra (T). Este resultado positivo indica que la concentración de la droga se encuentra por encima de los niveles detectables por el dispositivo.
- **Invalidada:** La línea de control no aparece. Esto normalmente indicará cantidad insuficiente de muestra o un procedimiento erróneo durante su uso. En este caso se deberá revisar el procedimiento y repetir la prueba usando un nuevo dispositivo. Si el problema persiste, se debe discontinuar el uso del lote del dispositivo afectado, y contactar al distribuidor.

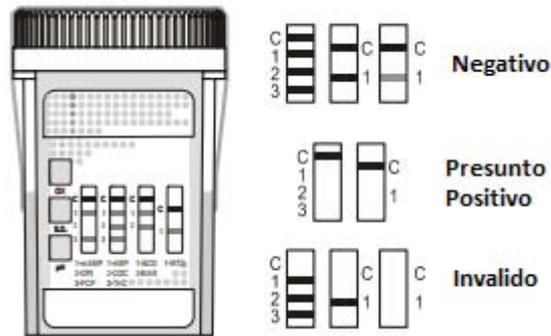


Figura 9 Posibles resultados del dispositivo. A) Negativo con líneas en ambas zonas, B) Positivo con línea de color en la zona de control. Figura: "One Step Multi-Drug Screen Test Card with the Integrated iCup", Instant Technologies, 2004.

3.1.2.7 Interpretación de los adulterantes

- pH: La prueba tiene un módulo para detectar la presencia de adulterantes ácidos o alcalinos. El pH normal de la orina se encuentra en un rango entre 4.5 y 8.0, la presencia de infecciones en vías urinarias, el consumo de alimentos previos a la recolección de la muestra, así como enfermedades hepáticas puede hacer que el valor de pH salga de este rango³³, es por ello la importancia de que el evaluado dé la información clínica reciente, para poder descartar posibles interferencias. Ya que en casos donde no se tenga información suficiente y se obtengan valores por encima o por debajo de este rango se considerarán como muestras presuntamente adulteradas, por lo que la prueba deberá de repetirse con un nuevo dispositivo.
- Gravedad Específica: Determina la dilución de la muestra, los niveles normales para esta prueba estarán en el rango de 1.003 - 1.030. Una muestra con un valor menor a este podría relacionarse con un consumo excesivo de líquidos previo a la recolección de la muestra, o la adición de alguna sustancia a la misma, de cualquier manera, una muestra demasiado diluida no será de gran utilidad para realizar una prueba (ya que en caso de haber metabolitos relacionados a consumos de sustancias de abuso, estos se encontrarán en concentraciones muy bajas, lo que

puede llevar a resultados falsos negativos), en estos casos, se recomienda solicitar una nueva muestra por parte del evaluado³⁰.

- Oxidantes: Detecta la presencia de oxidantes tales como blanqueadores y peróxido en la orina. Cuando se detecte la presencia de oxidantes en la muestra, se debe de volver a pedir otra, bajo sospecha de que ésta ha sido adulterada.

3.1.2.8 Reacciones cruzadas

Se han realizado diversos estudios con el dispositivo por parte del proveedor para determinar aquellas sustancias que pueden interferir con los resultados de la prueba, y dar falsos positivos para diversas sustancias, a continuación se enlistarán las principales sustancias que generan este efecto:

Nombre del Compuesto	Nombre(s) Comercial	Falso positivo con
Paracetamol con Codeína	Tylenol 3, Tylex CD	Opiáceos
Amitriptilina	Elavil, Endep	Antidepresivos tricíclicos
Venlafaxina	Effexor	PCP
Ranitidina	Zantac, Zantac Cool	Metanfetaminas
Efavirenz	Sustiva	Cannabinoides

Cuadro 1 Principales compuestos con reacciones cruzadas con el dispositivo iCup™. Cuadro: "iCup Drug Test Cross Reactivity Manual"; Blue Grass Drug Screen Inc., 2003.

El cuestionario previo a la prueba con el dispositivo, podrá ayudar a detectar un resultado positivo relacionado con el consumo de algún medicamento. Cabe señalar que cuando un evaluado indica el consumo de algún medicamento, cuya venta sea con receta, éste deberá entregar una copia de ésta para comprobar que dicho medicamento le ha sido recetado. Para el caso de medicamentos de libre venta, como la Ranitidina, se procederá a realizar la prueba confirmatoria para metanfetaminas, y en caso de no encontrar la presencia de algún metabolito, se tomará como una reacción falsa positiva.

3.1.2.9 Especificidad del dispositivo

El fabricante del dispositivo realizó un estudio en paralelo para comparar la precisión entre el dispositivo y otras pruebas rápidas de detección de drogas³⁵. Para el presente trabajo, sólo se presentarán los resultados obtenidos para THC.

La prueba fue realizada en 300 muestras de orina por cada tipo de droga. Los resultados presuntivos fueron confirmados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Los siguientes compuestos fueron cuantificados por GC/MS y el valor presentado por el fabricante fue en base al promedio de los valores encontrados en todas las muestras para cada compuesto.

Prueba	Compuestos encontrados en GC/MS
AMP	Anfetamina
BAR	Secobarbital, Butalbital, Fenobarbital, Pentobarbital
BZO	Oxazepam, Nordiazepam, Alprazolam, Desalquilflurazepam
COC	Benzoylecgonina
MTD	Metadona
THC	9-ácido carboxílico-11-nor-Delta9-Tetrahidrocannabinol
mAMP	Metanfetamina
MDMA	D,L Metilendioximetanfetamina
OPI	Morfina, Codeína
PCP	Fenilciclidina
TCA	Nortriptilina

Cuadro 2 Principales compuestos encontrados durante una prueba confirmatoria de un resultado positivo en el dispositivo. Cuadro : "One Step Multi-Drug Screen Test Card with the Integrated iCup"; Instant Technologies Inc.,2004.

3.1.2.10 Concordancia de Resultados entre pruebas y los ensayos confirmatorios

Los resultados del estudio realizado por el fabricante, mostraron que, mientras hay una gran relación entre los resultados obtenidos por el iCup™ y otros kits comerciales de pruebas presuntivas de drogas. Sin embargo, al hacer una comparación entre los resultados obtenidos por el iCup™ y los obtenidos al realizar una prueba confirmatoria, existe un 12% de discrepancia entre los resultados, esto se debe a la mayor especificidad dada por el análisis confirmatorio (CG/EM), así como los falsos positivos que se pueden obtener con el iCup™^{35,38}, cantidades menores a las detectables por el iCup™, dispositivos

defectivos. Es por ello, que una discrepancia entre la prueba rápida y la confirmatoria, es normal.,

Las concentraciones mayores para el caso del cannabinoles y el delta 8 y 9 del tetrahidrocannabinol, responden al proceso de degradación de los compuestos de la marihuana por el organismo. Estos tres compuestos se encuentran presentes en las primeras etapas de la degradación, y por lo tanto sus concentraciones son mayores que el 11-nor- Δ^9 -THC-9 COOH y 11-nor- Δ^8 -THC-9 COOH, ya que estos son de los últimos compuestos de degradación de la marihuana por parte del organismo. Se han encontrado metabolitos relacionados con el consumo de marihuana por medio de estas pruebas hasta dos meses después de haberse utilizado, aunque esto siempre dependerá de la cantidad consumida y del individuo, ya que habrá diferencias entre individuos para la metabolización de los compuestos¹⁸.

3.2 Pruebas Confirmatorias

Como su nombre lo indica, las pruebas confirmatorias, son aquéllas que confirmarán el resultado obtenido con el dispositivo rápido de detección de sustancias de abuso. En el presente trabajo, se utilizó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas como método confirmatorio. En general, las características que deberá tener una prueba confirmatoria son las siguientes¹⁹.

- Un principio físico o químico diferente al de la prueba presuntiva.
- Un grado muy alto de especificidad.
- Límites de detección menores a la prueba presuntiva
- Se debe utilizar espectrometría de masas cuando sea posible.
- Es posible usar una muestra diferente para la confirmación de resultados.
- Se puede emplear otra alícuota del mismo espécimen.

3.2.1 Principales tipos de pruebas confirmatorias

Las pruebas confirmatorias consisten en análisis cuali-cuantitativos de las muestras, los métodos más usados son la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) y la cromatografía de gases (CG). En general las técnicas cromatográficas tendrán como objetivo la separación de compuestos de una mezcla por una serie de operaciones de equilibrio, que resulta en la separación de éstos por su partición entre dos fases, una estacionaria con una larga superficie, y una móvil que estará en contacto con la estacionaria. La mezcla de compuestos a separar y analizar puede ser líquida, gaseosa o inclusive sólida. Todo lo que se requiere es que los compuestos sean estables, y que tengan interacciones con el material de la fase estacionaria y la fase móvil. El resultado será la distribución de los compuestos de la mezcla entre las fases, lo que hará que los compuestos se separen en diferentes zonas⁴¹.

Para realizar un análisis confirmatorio de drogas de abuso ilegal en orina por medio de cromatografía de gases (CG), generalmente, un volumen de orina (5 - 10mL), se extrae con un solvente orgánico, posteriormente se evapora casi por completo, y se reconstituye con una pequeña cantidad de solvente. Posteriormente, una pequeña cantidad es inyectada al equipo de cromatografía de gases, en donde se volatizará, para posteriormente usando un gas inerte como fase móvil, recorrer una columna capilar de 0.2 a 0.7 milímetros de diámetro, y de una longitud que puede variar de 5 a 100 metros. La separación será el resultado del equilibrio establecido entre los compuestos presentes en la muestra y la fase móvil, y la absorción de éstos por la fase estacionaria presente en las paredes de la columna. La separación de los mismos se realizará debido a que unos se retendrán más en la columna que otros. Un detector determinará cuando un compuesto emerge de la columna, y el tiempo de retención ayudará a determinar cual es, sin embargo, este valor no es exclusivo de un compuesto, por lo que este valor no será evidencia suficiente para confirmar un resultado. Del tipo de detector utilizado con la CG, dependerá la sensibilidad del análisis, el detector de

ionización de flama, es el más convencional y será útil en la identificación de sustancias orgánicas. El detector termoiónico (nitrógeno-fósforo), será de gran utilidad en la detección de compuestos halogenados, así como aquellos que contengan fósforo o nitrógeno. El uso de espectrometría de masas (EM) como detector, optimizará las capacidades de identificación de la CG, al usar las capacidades de separación del cromatógrafo de gases, con la especificidad de identificación del espectrómetro de masas¹⁹.

En el caso de la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), se requerirá una preparación de la muestra similar a la realizada para CG, la diferencia radica que en la CLAR, la fase móvil será un líquido, que será introducido a una presión alta, a la columna donde se encontrará la fase estacionaria, los compuestos de la muestra a analizar tendrán interacciones con la fase estacionaria y la fase móvil, dando lugar a los distintos tiempos de retención⁴². En CLAR, también se pueden utilizar varios detectores, entre los que destacan el ultravioleta, fluorescente, y electroquímico. El uso de CLAR, ha resultado útil en la identificación de benzodiazepinas, opiáceos y antidepresivos tricíclicos, los cuales no pueden ser analizados en CG sin que sean modificados químicamente¹⁹.

El método de análisis confirmatorio más utilizado es la cromatografía de gases, usando como detector un espectrómetro de masas. A continuación se presenta más información respecto a esta técnica cromatográfica, fundamento, limitaciones, así como las partes que conforman un equipo de cromatografía de gases.

3.2.2 Cromatografía de gases: Fundamento

Usar cromatografía de gases como método confirmatorio en muestras de sustancias de abuso, se debe a su poder de resolución en el análisis de compuestos volátiles, así como la sensibilidad y selectividad ofrecida por los distintos tipos de detectores, en particular del espectrómetro de masa.

Para la cromatografía de gases, se necesita preparar la muestra previo a la inyección de ésta, debido a que se requiere que éstas sean volátiles, se debe realizar un tratamiento previo de ellas, esto con el objetivo de separar los analitos de interés para el análisis, de aquellos componentes encontrados normalmente en la orina (urea, creatinina, sales), esto se hace por medio de una extracción líquido-líquido, cuya función es la de separar los compuestos por su polaridad. Posterior a la extracción, se adicionarán sustancias derivatizantes⁴³. El uso de derivatizantes, genera compuestos más termoestables, más volátiles y menos polares por medio de la sustitución de grupos reactivos de una molécula, por otros más estables y de menor reactividad, lo que facilita su detección así como su interacción con la fase estacionaria. En el presente trabajo se usó como agente derivatizante el N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida + Tricloro(metil)silano (BSTFA-TMS 99:1). Usando el BSTFA+TMS, la reacción que se dará es la silanización de los compuestos derivados del consumo de la marihuana, que es el reemplazo de un hidrógeno por un grupo alquilsilil⁴⁴.

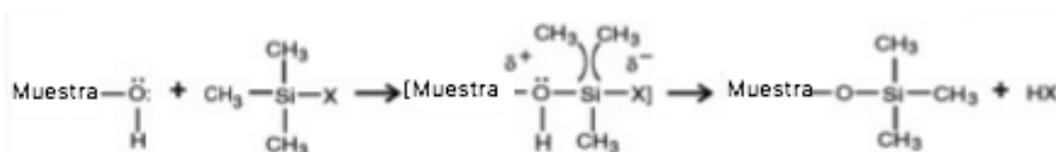


Figura 10 Diagrama general de una reacción de silanización. Diagrama tomado de "Informes Técnicos Ciemat 1090 Desarrollo de Metodologías para la Determinación de Componentes Orgánicos del Aerosol Atmosférico", González Pérez, C. (2014). Cromatografía De Gases, 1-41.

Los principales compuestos que se podrían encontrar en la muestra, así como sus tiempos de retención y picos característicos de cada uno al reaccionar con BSTFA+TMS (99:1), son los siguientes:

Compuesto	m/z en EM	RT (min)	Ventana de Tiempo
CBD-2TMS	319, 390, 458	9.45	9.10-9.80
THC-TMS	303, 371, 386	9.98	9.8-10.15
CBN-TMS	310, 367, 382	10.36	10.15-10.60
11-OH-THC-2TMS	371, 459, 474	10.99	10.60-11.20
THC-COOH-2TMS-d₃	374, 476, 491	11.65	11.20-12.00
THC-COOH-2TMS	371, 473, 488	11.66	11.20-12.00

Cuadro 3 Principales compuestos derivados de THC encontrados en muestras tratadas con BSTFA+TMS como derivatizante. Tabla traducida de "Simultaneous and sensitive analysis of THC, 11-OH-THC, THC-COOH, CBD, and CBN by GC-MS in plasma after oral application of small doses of THC and Cannabis extract", Nadulski, T. et al., *J. Anal. Toxicol.*, 2005, p. 784.

La muestra se introducirá por un puerto de inyección, donde inmediatamente al entrar, se volatilizará para posteriormente pasar a la columna. En la columna la solubilidad de cada compuesto con la fase móvil será dependiente de su presión de vapor, la cual es dependiente de la temperatura de la columna, así como de la afinidad del compuesto con la fase estacionaria. La fase estacionaria puede ser sólida o un soporte sólido inerte recubierto de un líquido. Una diferencia respecto a otros tipos de cromatografías, es que en la CG, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su función será la de transportar el analito a través de la columna. Las diferencias entre las presiones de vapor de los compuestos de la muestra harán que se separe entre la fase móvil y la fase estacionaria. Las moléculas de los compuestos estarán en movimiento continuo, sin embargo serán los tiempos de retención en la fase estacionaria, lo que afectarán la separación de los compuestos presentes. Al entrar al equipo, los analitos serán transportados en la columna por la fase móvil hasta llegar al detector, y sus propiedades físicas y químicas de estos, determinarán los diferentes tiempos de retención. Finalmente el detector será la parte del equipo encargado de identificar los distintos compuestos presentes en la mezcla analizada⁴⁵.

Debido a que la muestra se tiene que volatilizar para su análisis, la temperatura influirá en el desarrollo del análisis por cromatografía de gases. También, debido a esto, el análisis por CG tiene ciertas limitantes:

- No se podrán analizar compuestos poco volátiles, generalmente de peso molecular superior a 300 u.m.a. y/o iónicos. Ya que, como se ha mencionado, la muestra se volatiliza para posteriormente ser transportada por la fase móvil por toda la columna, por lo que si existe un compuesto poco o no volátil, será difícil realizar un análisis de éste.
- Todo compuesto sensible a un aumento de su temperatura, incluso moderada no podrá ser analizado usando esta técnica. Ya que todo

compuesto termolabil no soportará el aumento de temperatura al que se someten las muestras al entrar al cromatógrafo de gases.

Por esta razón, la CG se empleará cuando los componentes de la muestra son volátiles o semivolátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 400°C o más. Cuando se tengan compuestos poco volátiles y/o termolábiles, la técnica separativa adecuada a elegir será la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR).

3.2.3 Factores Clave

Existen ciertos factores clave que son importantes en la separación de los compuestos de una mezcla por medio de la cromatografía de gases, a continuación se hace mención de ellos, junto con una pequeña explicación del porqué de su importancia⁴¹.

3.2.3.1 *Factor de Retención (k)*

El factor de retención describe la habilidad de la fase estacionaria de retener a un compuesto de la mezcla analizada. Para poder calcular k, se utiliza la siguiente ecuación:

$$k = \frac{tR - tM}{tM}$$

Donde:

tR= Tiempo de retención del compuesto

tM= Tiempo muerto (el tiempo aproximado en que tardará en pasar la fase móvil por toda la columna).

A mayor tiempo de retención de un compuesto, habrá una mayor separación de este y otros presentes en la muestra. El factor de retención se puede modificar

aumentando la temperatura dentro de la columna o usando una fase estacionaria diferente.

3.2.3.2 *Factor de selectividad (α)*

Es la comparativa de qué tan bien se separarán dos compuestos de una mezcla a analizar en una columna. El factor se calcula con la siguiente fórmula:

$$\alpha = \frac{(tR)B - tM}{(tR)A - tM}$$

Donde:

(tR)B= Tiempo de retención del compuesto que tendrá una mayor retención en la fase estacionaria.

(tR)A= Tiempo de retención del compuesto con menor retención en la fase estacionaria.

tM= Tiempo muerto

Cuando:

$\alpha=1$ Teóricamente, la columna propuesta para el análisis, no será adecuada para la separación de los compuestos que se compararon.

$\alpha>1$ Teóricamente los compuestos se podrán separar con la columna propuesta para el análisis, sin embargo, esto dependerá del desempeño de la columna, así como de su resolución.

3.2.3.3 *Resolución de la columna (R)*

La resolución de la columna provee una medida cuantitativa de la habilidad de la columna para separar dos compuestos de una mezcla. La ecuación para obtener R es la siguiente:

$$R = \frac{2[(tR)B - (tR)A]}{WB + WA}$$

Donde:

(tR)B= Tiempo de retención del compuesto que tendrá una mayor retención en la fase estacionaria.

(tR)A= Tiempo de retención del compuesto con menor retención en la fase estacionaria.

WA= La amplitud de la base del pico del compuesto A.

WB= La amplitud de la base del pico del compuesto B.

Cuando:

R es menor a 1, los dos picos de los compuestos se traslaparán en el cromatograma.

R es igual o mayor a 1, habrá una buena separación de los compuestos.

3.2.3.4 Platos Teóricos (N)

Cada plato teórico representa un equilibrio teórico de distribución de un compuesto de la mezcla entre las fases. El número total de platos teóricos de una columna representará el poder de separación de la columna, es decir que, una columna con un número alto de platos teóricos, tendrá un gran poder de separación. Una de las ecuaciones para calcular los platos teóricos es la siguiente:

$$N = 16 \left(\frac{tR}{W} \right)^2$$

Dónde:

16 es una constante

tR= Es el tiempo de retención del compuesto a separar

W= La amplitud de la base del pico del compuesto a separar.

3.3 Partes de un Cromatógrafo de Gases

En general, un cromatógrafo de gases se conforma de las siguientes partes:

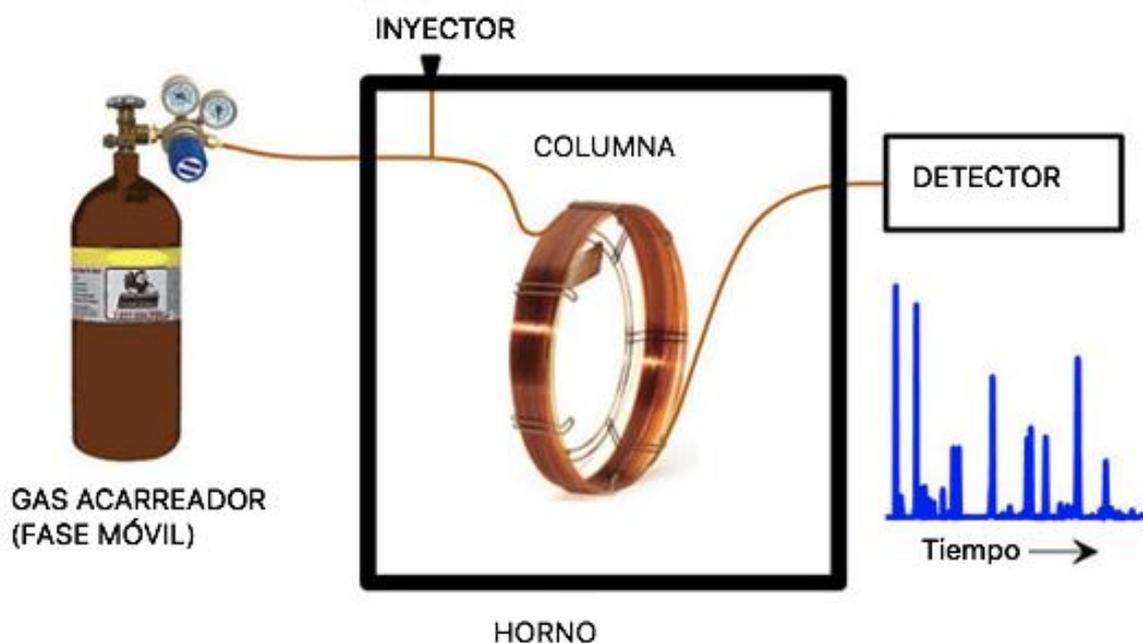


Figura 11 Esquema general de un cromatógrafo de gases. Figura traducida de "Agilent 101: An Introduction to Bio-Analytical Measurement"; Hollenhorst, Jim; Agilent Technologies, 2011.

3.3.1 Gas Acarreador (Fase Móvil)

Se encarga del transporte de los componentes de la muestra a través de la columna. Durante este proceso, estarán en constante interacción con ambas fases (móvil y estacionaria). Debido a que la fase móvil se encarga del transporte, será una variable de la que dependerán los tiempos de análisis, así como el tiempo de los componentes de la mezcla en la columna. Los gases que se pueden usar serán aquellos que sean inertes, y que no presenten reacciones con la columna y los compuestos a analizar, los más utilizados son el Helio, Hidrógeno y Nitrógeno. El gas más utilizado es el Helio, esto debido a su buen desempeño a flujos altos, así como por no inflamable (a diferencia del Hidrógeno). Para poder utilizar un gas como fase móvil, éste deberá estar contenido en tanques a alta presión, así como tener una gran pureza. Para lograr esto último, se ha de remover previo a su uso, toda traza de humedad, oxígeno e hidrocarburos presentes en él. Los contaminantes serán removidos haciendo

pasar al gas usado, por una serie de cartuchos de adsorbentes que se localizan antes de la entrada al cromatógrafo⁴¹.

3.3.2 Puerto de inyección

Su función será introducir a la columna una porción representativa de la muestra a analizar. Ya que la mayoría son líquidos, una característica que deberá de tener el puerto, es la capacidad de volatilizar la muestra previa a su entrada a la columna, para lograr esto, los puertos de inyección, contarán con calentadores que se encargarán de mantener la zona de inyección a una temperatura constante preestablecida. Una vez que se haya volatilizado, será transportada por la fase móvil y así pasar a la columna⁴⁶.

3.3.3 Horno

Ya sea que la muestra por analizar sea líquida o sólida, se necesita volatilizar, para que en forma de gas, pase a través de todo el análisis por cromatografía de gases (CG). Por lo tanto, la mayoría de los equipos de CG, están equipados con hornos, cuya función será mantener la temperatura de la columna en un rango de 40 a 350°C. La excepción a esto, es en aquellos equipos que son usados en la separación de gases simples, tales como los hidrocarburos ligeros o compuestos cuya composición sea gaseosa. Actualmente los hornos instalados en los equipos de CG son termoprogramados, que permiten la separación de varios compuestos con distintos rangos de presión de vapor. El horno deberá de mantener una temperatura homogénea en toda la columna, para esto en los hornos convencionales, el calor emitido por la resistencia metálica, es esparcido a toda la columna por medio de un ventilador, el cual deberá de repartir el calor de manera homogénea por la columna. Otro método para mantener la temperatura homogénea en la columna, es el uso de bases calentadoras, en las que la columna será colocada, para que el calor emitido sea recibido al mismo tiempo en todas las partes de la columna⁴⁶.

3.3.4 Columna

Las columnas estarán conformadas por dos partes principales, el tubo de un diámetro pequeño (0.18 - 0.53mm de diámetro interno) y una capa muy fina de un polímero que recubrirá la parte interna del tubo, el cual recibe el nombre de fase estacionaria. A través de esta columna pasará el gas usado como fase móvil, y en ésta, se realizará la separación de la mezcla analizada, por lo que es una parte fundamental del cromatógrafo. Son fabricadas a base de cobre, acero inoxidable o tubos de vidrio, y pueden ser dobladas o enrolladas. A excepción de las columnas de vidrio, las columnas son empacadas mientras se están doblando. Su longitud oscila entre los 1 a 6 metros de longitud. Según la distribución de la fase estacionaria y el valor que alcance la relación de las fases, se originarán los distintos tipos de columnas⁴⁶.

La elección de la columna es el paso más crítico para la evaluación de las muestras, y existen cuatro factores que deberán considerarse para la elección correcta:

3.3.4.1 Fase estacionaria

Será la encargada de separar los componentes de la muestra de estudio. Ésta puede ser sólida o líquida, y estará colocada sobre un sólido que actuará como soporte. Para obtener una separación de dos o más compuestos de una mezcla dentro de la columna, la fase estacionaria deberá tener factores de retención distintos para cada compuesto. Para la elección de la fase estacionaria se deben de tomar en cuenta los límites de temperatura del líquido elegido, considerando también su viscosidad y su volatilidad. Un descenso en la temperatura de la columna aumenta los tiempos de retención de los solutos, lo que puede ayudar a mejorar las separaciones. También hay que considerar que cuando la viscosidad de la fase es demasiado alta o alcanza el punto de fusión, la eficacia de nuestra columna bajará, ya que las interacciones entre ésta y los compuestos de la mezcla serán menores ante la solidificación de la fase. Adicionalmente, se

debe tomar en cuenta la polaridad de los compuestos a separar, así como de su tiempo de retención a medida que la polaridad de los solutos aumenta. El no elegir correctamente la fase, puede provocar reacciones irreversibles en la columna, lo cual puede provocar reacciones entre el soluto y la fase. Lo que puede provocar la formación de compuestos que se quedan en la columna, lo cual afectará su desempeño (como el caso de analizar aldehídos con tetrahidroxietilendiamina, que al reaccionar forman acetales que se quedan en la columna). Se necesitará de un soporte, el cual tendrá como función, sostener la fase, para lo cual, el soporte debe tener una elevada superficie por unidad de volumen, así como una estabilidad térmica, dureza mecánica, no tener interacción química con ella y una baja resistencia al paso de un gas a través de él.^{41,47} Dependiendo del tipo de material de la columna y base, dependerá la temperatura máxima a la que se pueda trabajar. Las fases estacionarias se pueden clasificar en:

- No Polares: Usadas para separar sustancias con muy poca polaridad. Los compuestos más utilizados para este tipo de fase estacionaria son la goma de silicona OV-1, OV-101 o SE-30. Pueden soportar temperaturas de más de 300°C.
- Ligeramente polares: Este tipo de fase estacionaria es la más utilizada, debido a su carácter poco polar, su selectividad en la separación de mezclas mixtas de estudio, y por el hecho de que soportan temperaturas superiores a los 300°C. Estas columnas serán generalmente fabricadas con aceite o gomas de silicona.
- Media y Alta polaridad: Esta fase no es apta para separar hidrocarburos no aromáticos. Fabricadas con Aceite de Ucon LB-550X, Polifenil éter.

3.3.4.2 Diámetro Interno de la columna

Actualmente el rango de diámetros internos (D.I.) que ofrecen los distintos proveedores de columnas (Agilent, Sigma-Aldrich, Macherey-Nagel), permite seleccionar una columna con un diámetro interno adecuado para diferentes tipos de compuestos a analizar. Esta propiedad de la columna, tendrá impacto directamente en dos factores la eficiencia de la columna (número de platos teóricos por metro), y la capacidad de muestra (cantidad de cierto compuesto de la muestra que puede entrar a la columna sin saturarla). El mejorar uno de estos factores significará disminuir el desempeño del otro, siendo que actualmente en el mercado existen columnas con D.I. que están en el rango de 0.10 a 0.53 mm, se deberá de elegir la columna con base al tipo de muestras a analizar⁴¹. Para aquellas que contienen muchos analitos, o varios analitos que eluyen muy cerca de otro, se requerirá una mayor cantidad de platos teóricos, por lo que, una columna con un menor D.I., será una opción para mejorar la eficiencia, hay que tomar en cuenta que al tener un menor diámetro, se necesitará una mayor presión para la entrada y transporte de la fase móvil, por lo que pueda ser necesario tener un regulador de presiones para su uso. Para los casos donde la muestra analizada contenga un analito en grandes concentraciones, o varios analitos con diferentes concentraciones, es importante que la capacidad de la columna no sea sobrepasada, el uso de una columna con un D.I. mayor será una opción para mejorar la interacción de la fase estacionaria con los analitos de la muestra, hay que mencionar que esto también depende del tipo de fase usada, ya que el uso de una polar tendrá una mayor capacidad para compuestos polares, así como una no polar lo tendrá para compuestos no polares. El D.I. será dependiente de las necesidades analíticas, para un uso general, las columnas con D.I. de 0.25 mm son las más utilizadas, al tener un número de platos teóricos y una capacidad de muestra adecuada para varios tipos de análisis⁴⁸.

3.3.4.3 Longitud de la columna

La longitud tendrá influencia en la eficiencia y el tiempo de análisis. La eficiencia (N) de la columna será proporcional a la longitud de la columna, sin embargo el tiempo de análisis se irá incrementando al ir aumentando la longitud, ya que esto implicará que la muestra tendrá más zonas de interacción con la fase estacionaria, y por lo tanto se incrementará el tiempo de retención de la muestra⁴¹. Al tener una mejor eficiencia con una columna larga, se podría pensar que es una buena opción para mejorar los platos teóricos de la columna, sin embargo, una columna con una longitud mayor, tendrá una mayor generación de productos de degradación, lo que conllevaría a una interferencia de estos productos con los resultados del análisis, así mismo, los costes de fabricación de una columna son proporcionales a su longitud, por lo que una columna de 60 metros de longitud, costará el doble que lo de una columna de 30 metros. Por lo que alargar la columna debe ser la última opción razonable para aumentar la eficiencia, siendo una mejor opción, el disminuir el diámetro interno de la columna. El cortar columnas largas, podría parecer una buena opción para crear columnas más cortas, sin embargo, el cortar, puede generar variaciones en los resultados obtenidos, debido a que la probabilidad de variaciones en las partes individuales es mayor si dichas partes se cortan^{48,49}.

3.3.4.4 Espesor de la película de la columna

El espesor influye en la retención, resolución, sangrado, y capacidad. La retención será directamente proporcional a condiciones constantes de temperatura, en caso del uso de varias temperaturas durante en el análisis, se tendrá una variación del 0.33-0.5 del valor obtenido a temperatura constante⁴¹. En el caso de compuestos muy volátiles se recomienda aumentar el espesor de la película, ya que esto permitirá tener una buena retención de estos compuestos a una mayor temperatura. Para los compuestos que tienen una alta retención, se recomienda disminuir el espesor ya que esto permitirá que se eluyan con mayor rapidez, lo que disminuye el tiempo de análisis. El aumentar el espesor de la película, incrementará la resolución de la columna, esto debido al tiempo

de retención mayor, lo que permite una mayor separación de los compuestos similares de la muestra analizada. Se le conoce como sangrado, a la pérdida de fase estacionaria de la columna, el sangrado, estará presente en todas las columnas, y estará directamente relacionado con la cantidad de fase estacionaria en la columna, por lo que a un mayor espesor, se tendrá un mayor sangrado de la columna. La capacidad de retención de una columna, se verá afectada por el espesor, al tener un espesor mayor, la retención será mayor, lo que es muy útil para casos donde la concentración de algún soluto de la muestra se encuentre en grandes cantidades^{48,49}.

En resumen, una columna deberá ser elegida por las propiedades de los solutos que se puedan encontrar en la muestra a analizar, factores como la longitud, diámetro, el espesor y el tipo de fase estacionaria, impactarán en el desempeño de ésta. Por lo que antes de elegir una columna es necesario determinar las características de la muestra, recolectar información de análisis similares previos y consultar la información dada por los fabricantes.

3.3.5 Detector

Tras recorrer la columna, los compuestos de la mezcla serán detectados mediante el uso de un detector. Los compuestos de la mezcla, serán caracterizados por sus propiedades físicas y químicas. Un detector debe tener una alta sensibilidad, dar una respuesta lineal sobre un amplio rango de concentración, y que sea relativamente insensible a las variaciones del flujo y temperatura.

Se puede clasificar los detectores de la siguiente manera:

- Por su grado de selectividad:
 - Universales: Responden a la mayoría de sustancias
 - Específicos: Sólo responderán a un grupo particular de sustancias

- Modo de respuesta:
 - Dependiente del flujo de masas: Cantidad de un compuesto, independiente de la fase móvil
 - Dependiente de la concentración: Cantidad un compuesto presente por unidad de volumen de la fase móvil.

Los detectores más usados en la actualidad son el detector de ionización de llama (DIF), el detector por captura electrónica (DCE) y la espectrometría de masas (EM).

El detector de ionización de flama se basa en la formación de iones gaseosos por la combustión de moléculas orgánicas en una llama de hidrógeno. En este detector la fase móvil procedente de la columna es mezclado con hidrógeno, posteriormente esta mezcla se quema en una cámara que tiene exceso de aire, encima de la zona donde se encuentra la flama, se encuentra un colector, cuya función será reunir los iones generados de la combustión de la mezcla de gases, los corriente iónica que entre el colector y la punta del quemador Este detector es ampliamente usado, debido a que puede detectar una gran variedad de compuestos, ya que es selectivo a compuestos que presenten enlaces C-H, por lo que la mayoría de los compuestos darán respuesta al pasar por el detector.

Los detectores por captura electrónica están basados en la habilidad de algunas moléculas de atraer y remover electrones termalizados. Usando una fuente de radiación beta, el detector someterá a una emisión de constante de estas partículas al gas acarreador con la muestra, lo que generará radicales libres, iones positivos y electrones térmicos. La aplicación de un potencial eléctrico en el detector, permitirá que los electrones térmicos sean concentrados por medio de un electrodo colector. Cuando un compuesto de la mezcla pasa junto el gas acarreador (fase móvil) a través del detector, los electrones térmicos que posea el compuesto, serán capturados por el electrodo, lo que hará que se transformen en iones negativos o fragmentos neutros al unirse con los iones positivos presentes. La captura de estos electrones genera una disminución de la corriente

del detector, lo que se puede relacionar de forma cuantitativa con la cantidad del compuesto que está pasando por el detector. El DCE será muy sensible y selectivo para compuestos que presenten una alta afinidad electrónica, en particular por los grupos nitro y halógenos, teniendo una sensibilidad hasta 10^7 mayor que la que presenta frente a hidrocarburos

Sin embargo, la espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases, ha sido el método de detección más usado desde hace casi 30 años. Esto debido a la capacidad de estos equipos para obtener espectros de masas continuamente durante un estudio (aproximadamente cada 0.1s), lo que permite obtener un espectro de todo el cromatograma, esto genera una gran cantidad de información respecto a los compuestos presentes en la mezcla a analizar. Los límites de detección usando EM, se pueden aplicar a través de realizar un monitoreo de un solo ion, lo que ayudará a enfocar el estudio a solo los compuestos de interés por parte del analista. Una de las mayores mejoras a este tipo de detectores, ha sido la inclusión de computadoras, que servirán no sólo para el control del equipo, sino también, para el manejo e interpretación de los resultados obtenidos en el análisis. El uso de software especializado en manejo de resultados, realiza de manera automática la detección, grado de pureza, y reporte de los resultados obtenidos del análisis de la muestra⁴⁶.

Ya que se ha revisado todo lo relacionado con la evaluación de las muestras de orina para la detección de sustancias de abuso, es tiempo de pasar a la presentación del trabajo que se realizó.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS: EVALUACIÓN DE DISPOSITIVO DE DETECCIÓN RÁPIDA DE DROGAS

En un intervalo de 6 meses, de noviembre del 2012 hasta abril del 2013, se recolectaron muestras de orina de un donante consumidor de marihuana. Se evaluaron tres lotes del dispositivo con diferentes fechas de caducidad, de cada lote se tomaron cinco muestras para hacer un total de 15 evaluaciones por mes. Con excepción de marzo del 2013, en que no se pudo recolectar la muestra, y posteriormente se realizaron pruebas confirmatorias.

La evaluación consistió en verter la muestra a los dispositivos, para iniciar la prueba, al mismo tiempo se inició el cronómetro, con el objetivo de determinar si los dispositivos cumplían con los tiempos establecidos por el fabricante; asimismo se revisó que las placas del dispositivo eluyeran bien, y que las áreas de medición de pH y adulterantes también estuvieran funcionando de acuerdo a lo indicado por el fabricante³⁵. Una vez finalizada, se tomaron fotos para tener registro de la prueba, así como llenar una tabla de resultados. Además, se realizó en cada evaluación, la valoración de un blanco, el cual se hizo correr con agua, con el objetivo de observar el comportamiento tanto de la placa reactiva como de los espacios para pH y adulterantes.

En paralelo a este trabajo se realizaron pruebas para evaluar los dispositivos con cocaína, barbitúricos y benzodiazepinas, que son las sustancias que más se llegan a detectar, esto con el objetivo de garantizar la funcionalidad del dispositivo no sólo en la detección de marihuana, sino también de las demás sustancias.

4.1 Plan de Trabajo

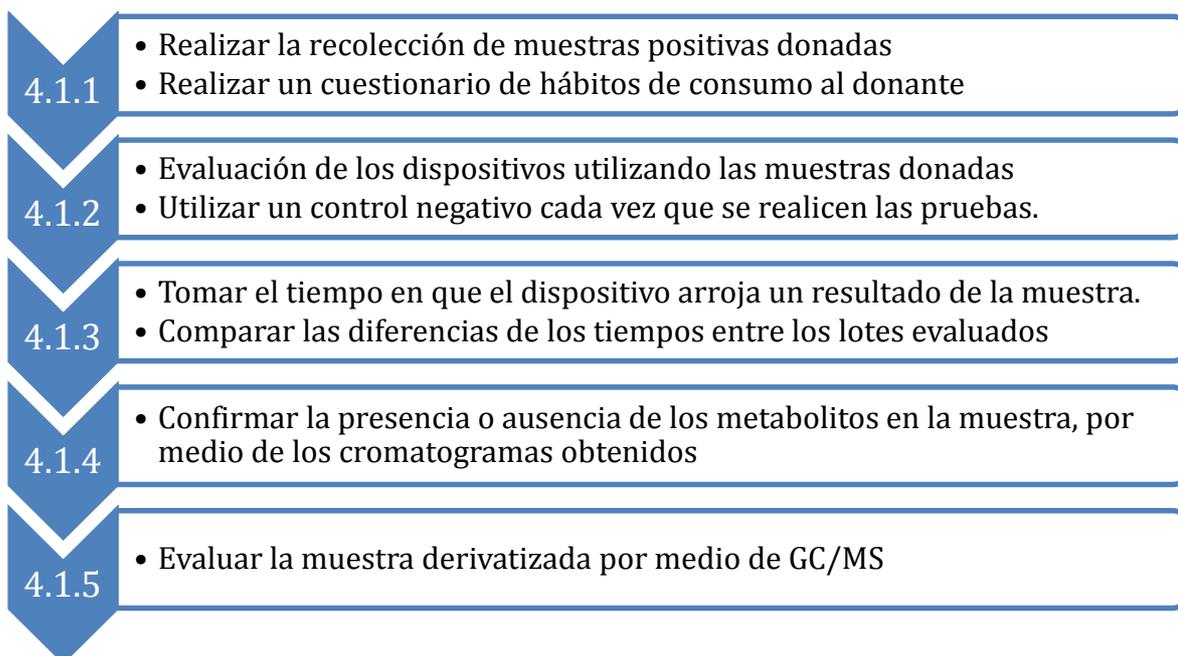


Figura 12. Desarrollo Experimental para la evaluación de los Dispositivos, este proceso se repetirá 1 vez al mes, durante 6 meses.

4.1.1 Recolección de las muestras

- Todas las muestras fueron donadas por un joven de 23 años, cuya información personal no será mencionada debido a que él accedió de manera voluntaria a donar muestras para el proyecto con la condición de no revelar sus datos. Su consumo de marihuana era casi diario; así como el consumo de otras sustancias como cristal y “ácidos”.
- El cuestionario de hábitos de consumo del donante, se realizó durante cada donación, con el propósito de tener un seguimiento de los consumos de la persona durante el proyecto. Las preguntas son relacionadas con el tipo de drogas que ha consumido previo a la recolección de la muestra. (Ver anexo 1)
- Las muestras se mantuvieron en refrigeración o en congelación, hasta su análisis.

4.1.2 Evaluación rápida

- Se evaluaron los siguientes 3 lotes del dispositivo:
 - ◆ DOA0110795. Mes de caducidad: Septiembre 2012
 - ◆ DOA0110797. Mes de caducidad: Octubre 2012
 - ◆ DOA0110798. Mes de caducidad: Noviembre 2012
- La muestra previa a su evaluación, fue descongelada a temperatura ambiente, como se mencionó en el capítulo 3, el proveedor indica que los dispositivos pueden usarse con muestras refrigeradas o congeladas, hasta por un máximo de 72 horas. Además de acuerdo a estudios previos, la temperatura no afecta el desempeño y resultado de los análisis.
- Durante cada evaluación, se usaron 5 dispositivos de cada lote, estos fueron elegidos de manera aleatoria. También, en cada una, se tuvo un control negativo para confirmar el resultado.

4.1.3 Tomar el tiempo

- Se vertió una cantidad de la muestra (volumen aproximado de 10 mL) a los dispositivos, tras lo cual se comenzó a contar el tiempo en que se da un resultado de la prueba.
- Se realizó una copia de los resultados, con el objetivo de tener constancia visual de la evaluación.
- Tras ser utilizados, los dispositivos fueron depositados en los contenedores de RPBI correspondientes.

4.1.4 Pretratamiento de la muestra para la obtención del analito

- Previó a la extracción, se alcalinizó la muestra usando hidróxido de potasio (KOH) 10 N, y se somete a hidrólisis durante 30 minutos (70-80°C)

- Se retiró la muestra del calentamiento, se dejó enfriar, y se agregó ácido acético glacial para neutralizar.
- Se realizaron tres extracciones líquido-líquido de la muestra tratada, con una mezcla de n-heptano-acetato de etilo (85:15)
- La fase orgánica se llevó casi a sequedad, mediante calentamiento por parrilla, hasta un volumen aproximado de 0.5 mL
- Se transvasó a un vial para GC/MS, y se llevó a sequedad bajo flujo de nitrógeno en una placa de calentamiento a 100°C.
- Al obtener la muestra seca se adicionó el derivatizante N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida + Tricloro(metil)silano (BSTFA-TMS 99:1), y se dejó en digestión durante 30 minutos.

4.1.5 Confirmación de los resultados de la prueba rápida

- Pasada la media hora, se dejó enfriar el vial, y se inyectó la muestra al GC/MS, bajo el programa para marihuana.
- Se realizó un tratamiento de los resultados obtenidos, buscando espectros de interés, así como haciendo una comparación entre el espectro obtenido, y los de la biblioteca digital del equipo.
- Con el cromatograma obtenido, se confirmó la presencia o ausencia de algún metabolito relacionado al consumo de marihuana, por medio de la consulta de los tiempos de retención obtenidos con los reportados en los textos especializados, posteriormente, se imprimió para la presentación de resultados.

4.2 Resultados

4.2.1 Prueba Presuntiva Primera Evaluación

- ◆ Fecha: 20 de Noviembre del 2012
- ◆ Clave de la muestra: DM0
- ◆ Hábitos de consumo: ,El donante expresó el consumo de un cigarrillo por lo menos una vez al día, así como de “Cristal”, 2 días previos a la donación.

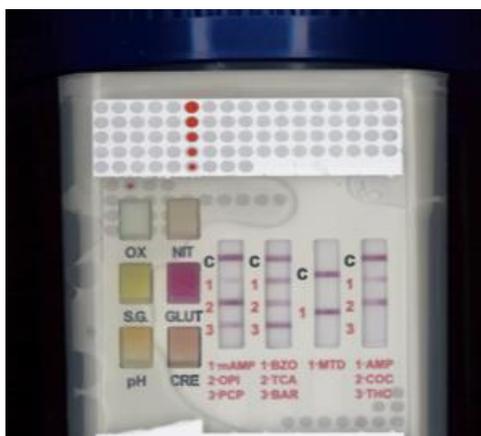


Figura 13 Dispositivo evaluado con la muestra DM0

Lote	Mes de caducidad	Tiempo de Resultado (min)	Resultado
0796	Septiembre	5.83	Positivo THC
0796	Septiembre	5.67	Positivo THC
0796	Septiembre	5.75	Positivo THC
0796	Septiembre	5.67	Positivo THC
0796	Septiembre	5.67	Positivo THC
0797	Octubre	5.00	Positivo THC
0797	Octubre	4.92	Positivo THC
0797	Octubre	5.00	Positivo THC
0797	Octubre	5.00	Positivo THC
0797	Octubre	4.92	Positivo THC
0798	Noviembre	4.67	Positivo THC
0798	Noviembre	4.75	Positivo THC
0798	Noviembre	4.83	Positivo THC
0798	Noviembre	4.67	Positivo THC
0798	Noviembre	4.67	Positivo THC

Cuadro 4 Resultados de la Prueba Rápida para la muestra DM0.

Tercera Evaluación

- ◆ Fecha: 25 de Enero del 2013
- ◆ Clave de la muestra: DM2
- ◆ Hábitos de consumo: El evaluado consumió de uno a dos cigarrros de marihuana al día durante las últimas dos semanas, no declaró haber consumido otra sustancia.



Figura 15 Dispositivo evaluado con la muestra DM2.

Lote	Mes de caducidad	Tiempo de Resultado (min)	Resultado
0795	Septiembre	6.22	Positivo THC
0795	Septiembre	7.12	Positivo THC
0795	Septiembre	7.00	Positivo THC
0795	Septiembre	7.33	Positivo THC
0795	Septiembre	7.25	Positivo THC
0797	Octubre	7.00	Positivo THC
0797	Octubre	6.75	Positivo THC
0797	Octubre	6.83	Positivo THC
0797	Octubre	7.20	Positivo THC
0797	Octubre	7.08	Positivo THC
0798	Noviembre	6.33	Positivo THC
0798	Noviembre	6.53	Positivo THC
0798	Noviembre	6.67	Positivo THC
0798	Noviembre	6.57	Positivo THC
0798	Noviembre	6.00	Positivo THC

Cuadro 6 Resultados de la Evaluación de la muestra DM2.

Cuarta Evaluación

Fecha: 11 de Febrero del 2013.

Clave de la muestra: DM3.

Hábitos de consumo: Consumió alrededor de 1 cigarro al día, no mencionó el consumo de alguna otra sustancia ilegal.

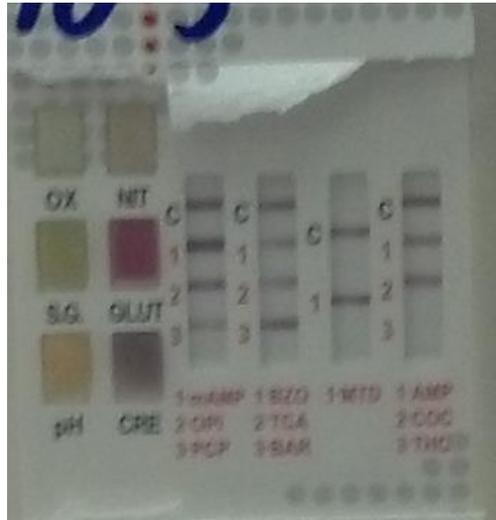


Figura 16. Dispositivo evaluado con al muestra DM3.

Durante esta evaluación, se presentó un dispositivo que no eluyó de manera correcta, lo que provoco un resultado invalido de la prueba. Éste iCup™ era usado como blanco, por lo que se tuvo que utilizar otro. A continuación se muestra la imagen de dicho dispositivo.

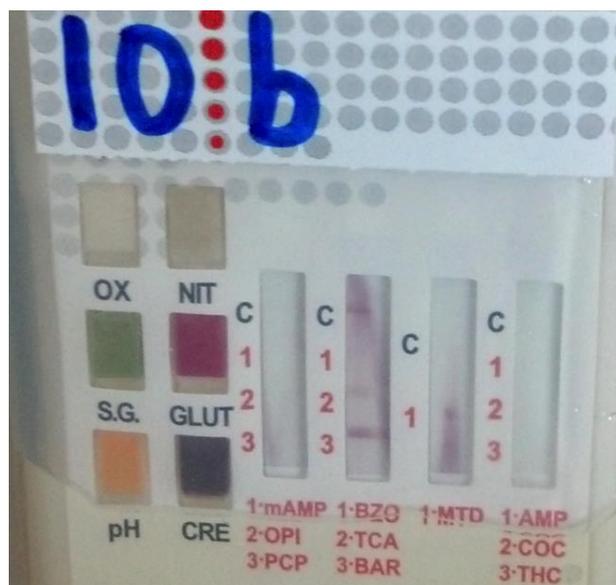


Figura 17. Fotografía del dispositivo defectivo.

Lote	Mes de caducidad	Tiempo de Resultado (min)	Resultado
0796	Septiembre	6.75	Positivo THC
0796	Septiembre	7.15	Positivo THC
0796	Septiembre	6.83	Positivo THC
0796	Septiembre	7.08	Positivo THC
0796	Septiembre	6.73	Positivo THC
0797	Octubre	6.62	Positivo THC
0797	Octubre	6.83	Positivo THC
0797	Octubre	7.07	Positivo THC
0797	Octubre	6.75	Positivo THC
0797	Octubre	7.52	Positivo THC
0798	Noviembre	6.80	Positivo THC
0798	Noviembre	6.58	Positivo THC
0798	Noviembre	6.52	Positivo THC
0798	Noviembre	5.75	Positivo THC
0798	Noviembre	6.47	Positivo THC

Cuadro 7 Resultados de la Evaluación de la muestra DM3.

Quinta Evaluación

Fecha: 09 de Abril del 2013.

Clave de la muestra: DM4.

Hábitos de consumo: El evaluado consumió un cigarro diario durante los últimos 15 días. Mencionó el consumo de “cuadros” de LSD unos días previos a la donación.

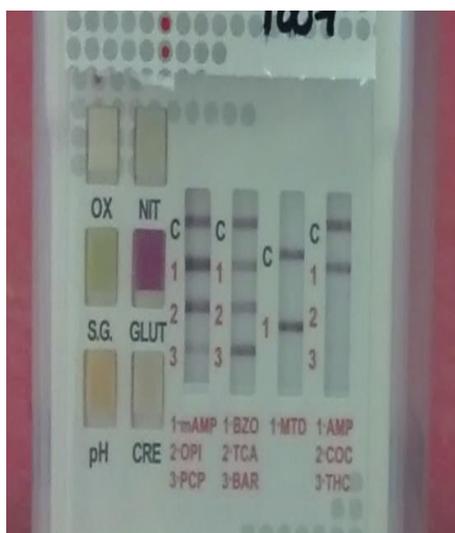


Figura 18 Dispositivo evaluado con la muestra DM4..

Lote	Mes de caducidad	Tiempo de Resultado (min)	Resultado
0796	Septiembre	7.02	Positivo THC/COC
0796	Septiembre	7.33	Positivo THC/COC
0796	Septiembre	7.50	Positivo THC/COC
0796	Septiembre	8.18	Positivo THC/COC
0796	Septiembre	6.48	Positivo THC/COC
0797	Octubre	6.25	Positivo THC/COC
0797	Octubre	6.67	Positivo THC/COC
0797	Octubre	7.13	Positivo THC/COC
0797	Octubre	8.00	Positivo THC/COC
0797	Octubre	7.52	Positivo THC/COC
0798	Noviembre	6.52	Positivo THC/COC
0798	Noviembre	6.75	Positivo THC/COC
0798	Noviembre	6.73	Positivo THC/COC
0798	Noviembre	5.75	Positivo THC/COC
0798	Noviembre	6.83	Positivo THC/COC

Cuadro 8 Resultados de la Evaluación de la muestra DM4.

4.2.2 Prueba confirmatoria

Las muestras evaluadas durante el análisis presuntivo, fueron ocupadas para hacer la prueba confirmatoria. Al haberse usado una misma muestra en cada una de las evaluaciones, los espectros y cromatogramas que se presentan a continuación confirman los resultados obtenidos con los tres lotes en cada una de las cinco evaluaciones.

4.2.2.1 Espectros de Masas

Espectro de Referencia

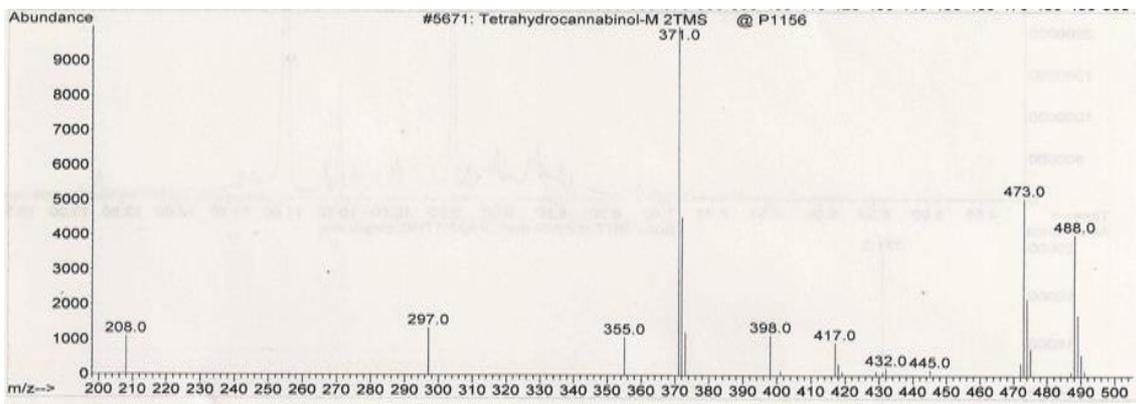


Figura 19 Espectro de masas de referencia, obtenido de la biblioteca digital del equipo.

Primera Evaluación

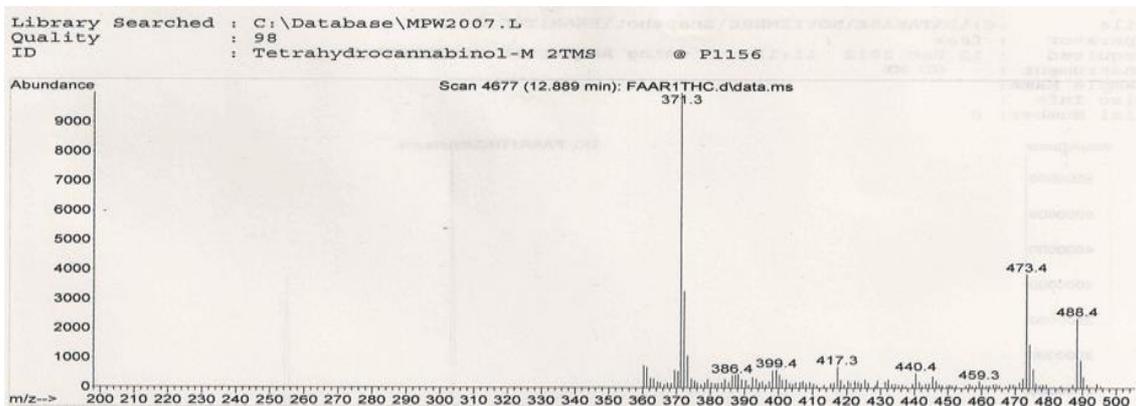


Figura 20 Espectro de masas obtenido de la muestra DM0.

Segunda evaluación

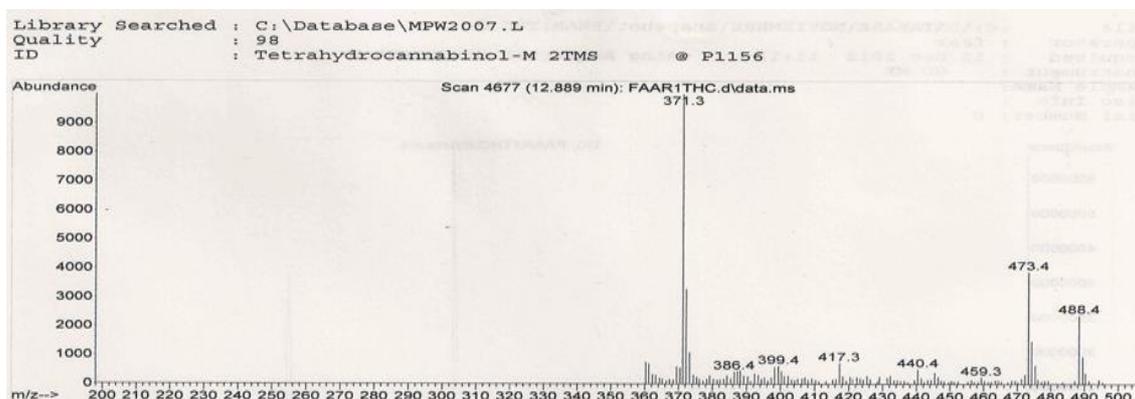


Figura 21 Espectro de masas obtenido de la muestra DM1.

Tercera evaluación

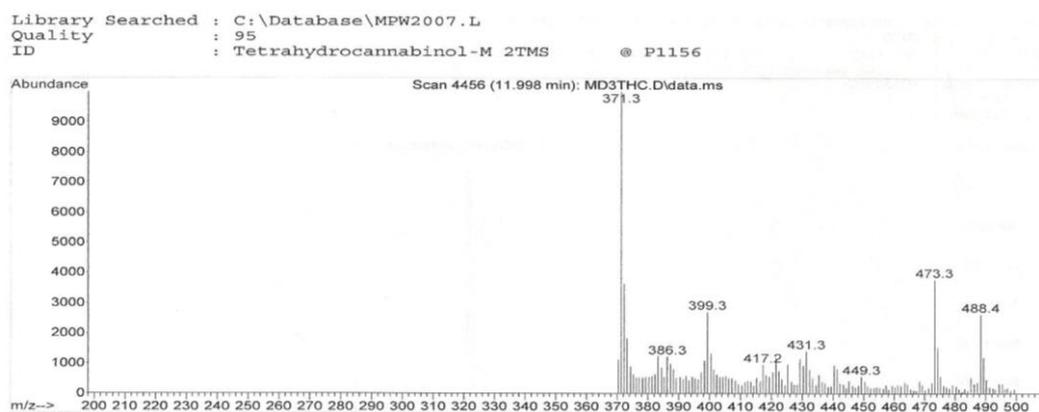


Figura 22 Espectro de masas obtenido de la muestra DM2.

Cuarta Evaluación

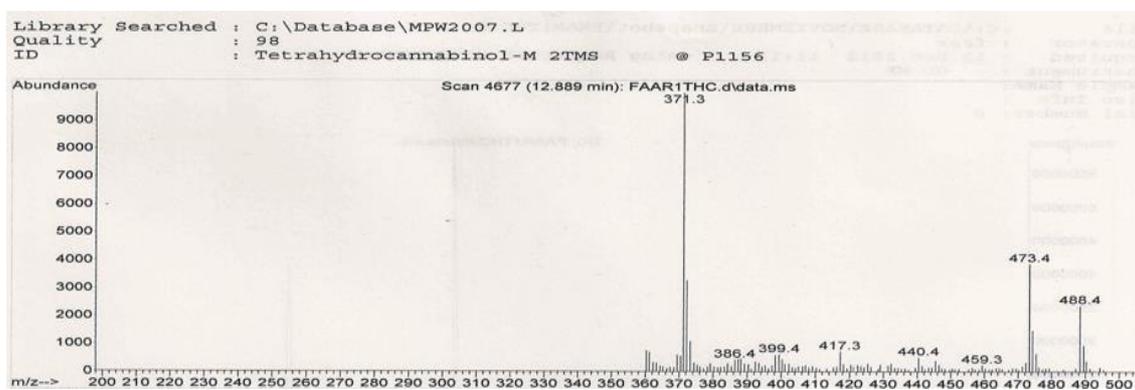


Figura 23 Espectro de masas obtenido de la muestra DM3.

Quinta evaluación

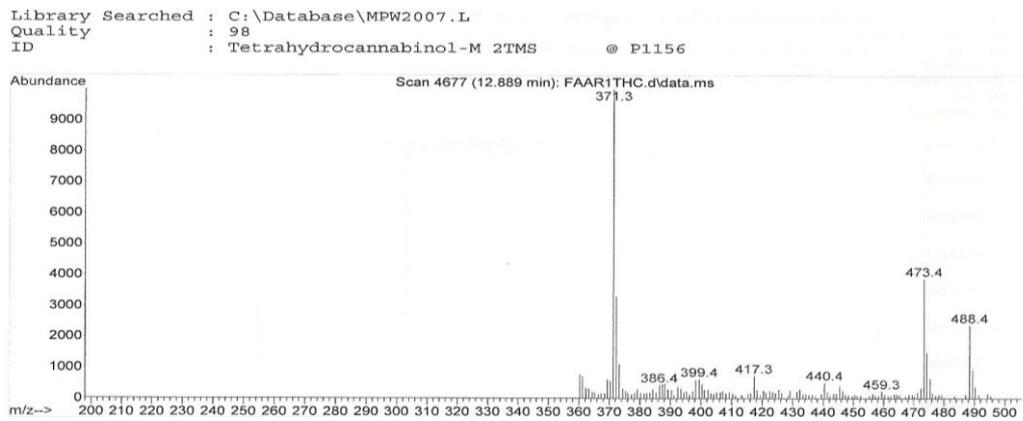


Figura 24 Espectro de masas obtenido de la muestra DM4.

4.2.2.2 Cromatogramas

Primera evaluación

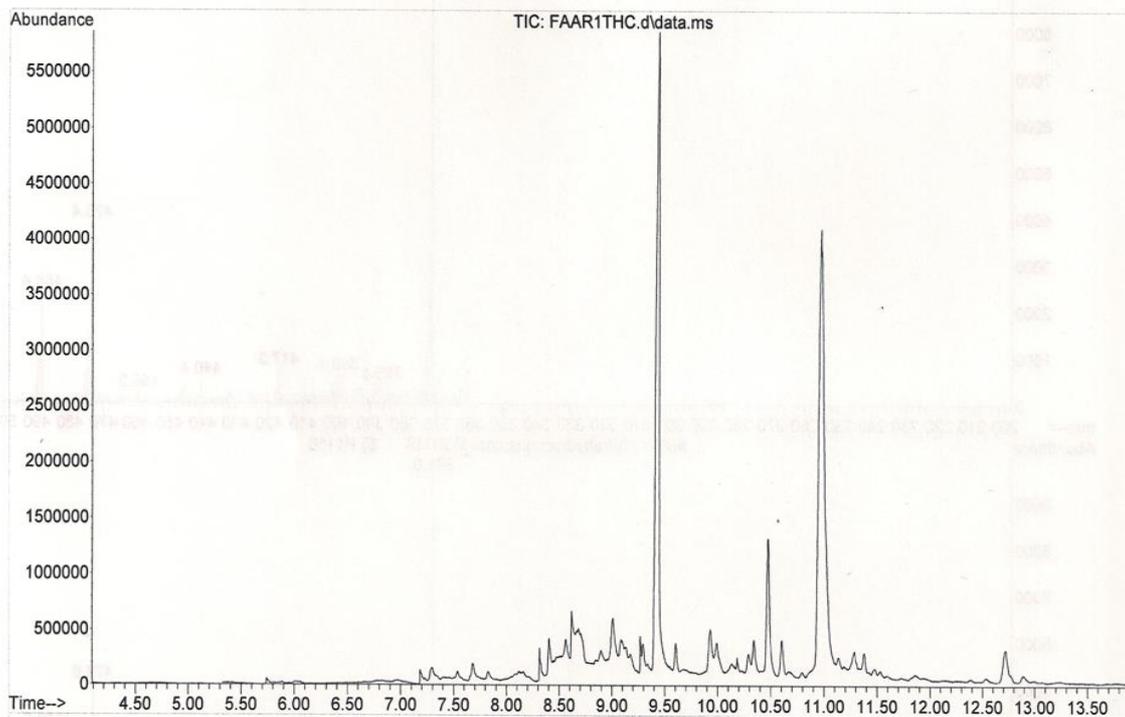


Figura 25. Cromatograma de la muestra DM0.

Segunda evaluación

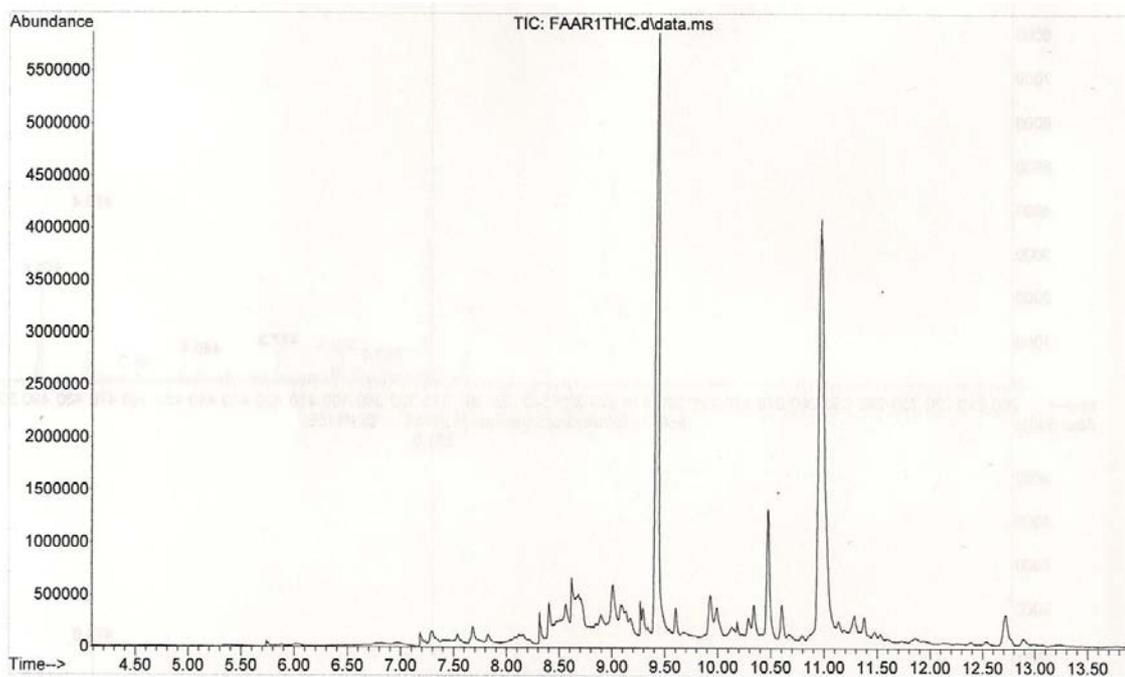


Figura 26. Cromatograma de la muestra DM1.

Tercera Evaluación

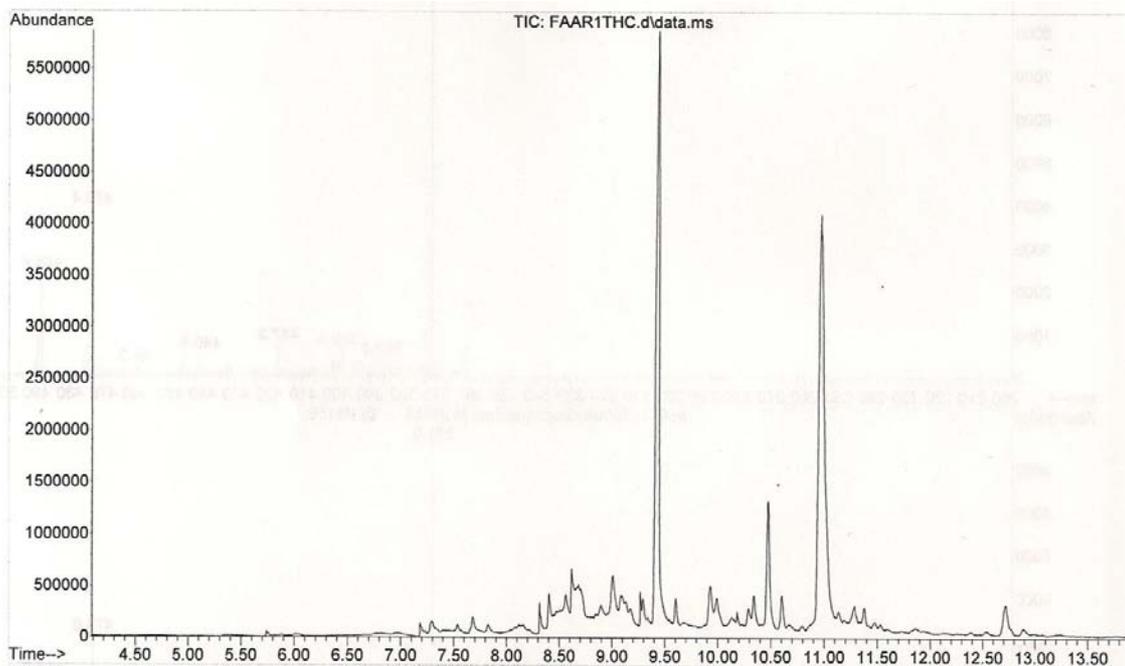


Figura 27 Cromatograma de la muestra DM3.

Cuarta evaluación

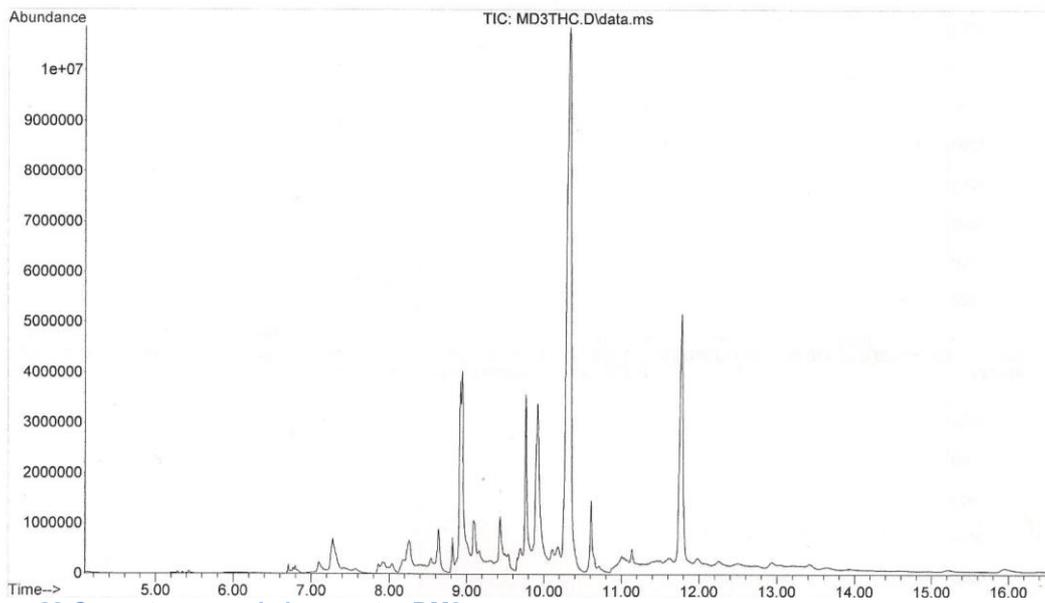


Figura 28 Cromatograma de la muestra DM3.

Quinta evaluación

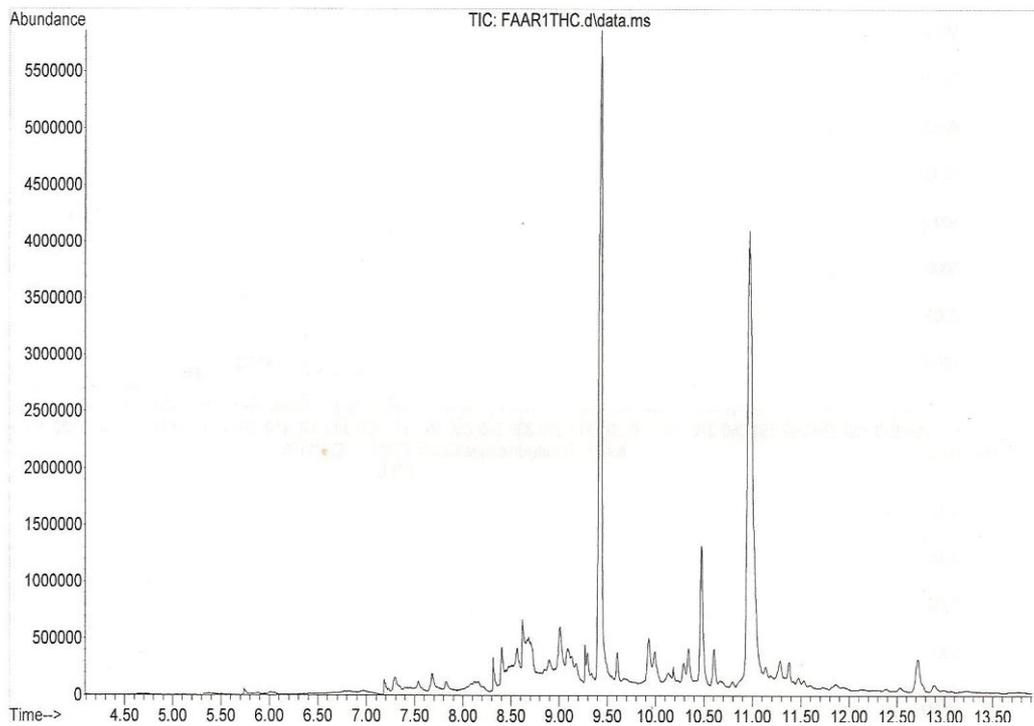


Figura 29. Cromatograma para THC de la muestra DM4.

Los tiempos promedio obtenidos de los cinco dispositivos de cada lote en las cinco evaluaciones realizadas, se presentan a continuación:

LOTE	TIEMPO PROMEDIO (MIN)	No. PRUEBA
796	5.78	1
796	6.34	2
796	6.98	3
796	6.91	4
796	7.30	5
797	4.97	1
797	5.07	2
797	6.97	3
797	6.96	4
797	7.11	5
798	4.72	1
798	4.90	2
798	6.42	3
798	6.42	4
798	6.52	5

Cuadro 9. Resultados promedio de las evaluaciones realizadas.

Con los tiempos promedio de reacción de los 25 dispositivos evaluados de cada lote, se realizó la siguiente gráfica de barras:

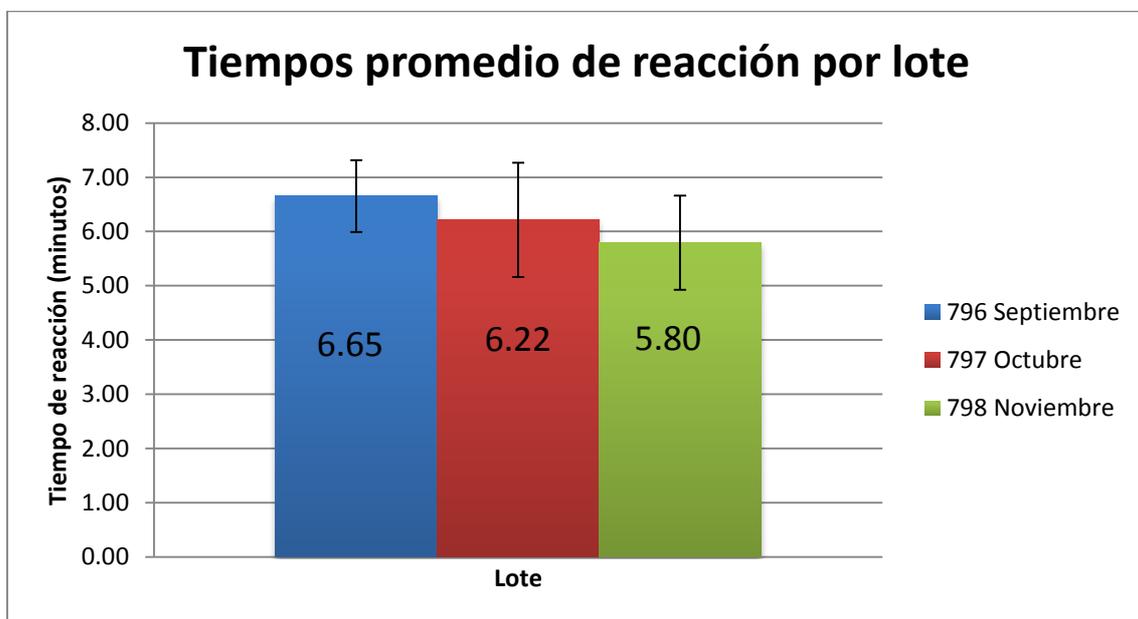


Figura 30. Gráfica de tiempos promedio de reacción de los lotes evaluados.

Posteriormente se realizó una gráfica con los tiempos de los tres lotes en cada una de las cinco evaluaciones realizadas:

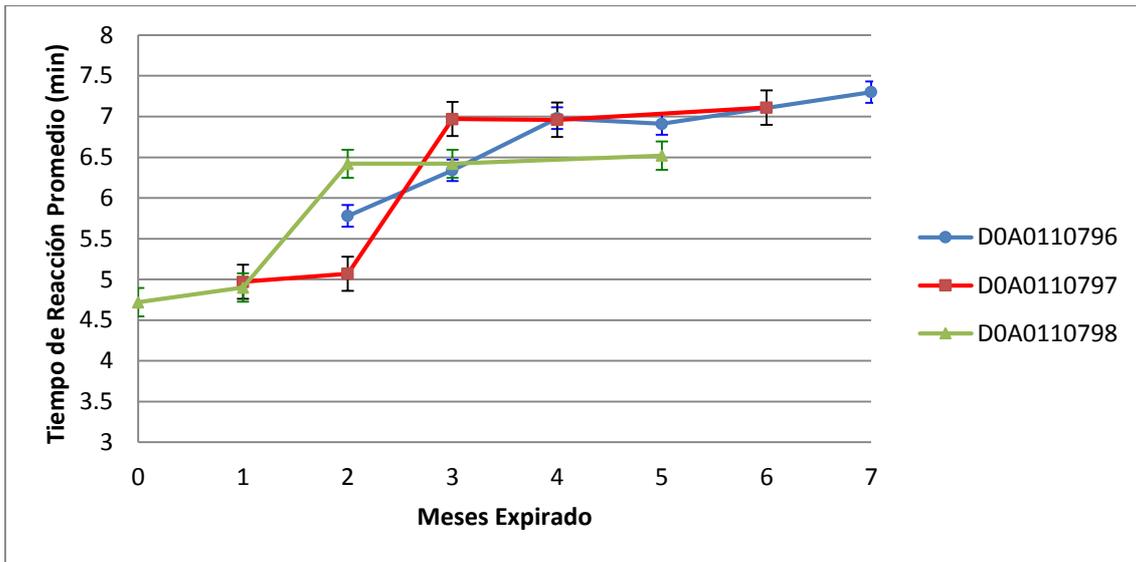


Figura 31 . Gráfica de tiempos promedio de reacción por prueba de los 3 lotes evaluados.

Finalmente con los datos promedio de las evaluaciones, se realizó una estimación de la ampliación de la vida útil del dispositivo usando el módulo de estabilidades del software Minitab® 17:

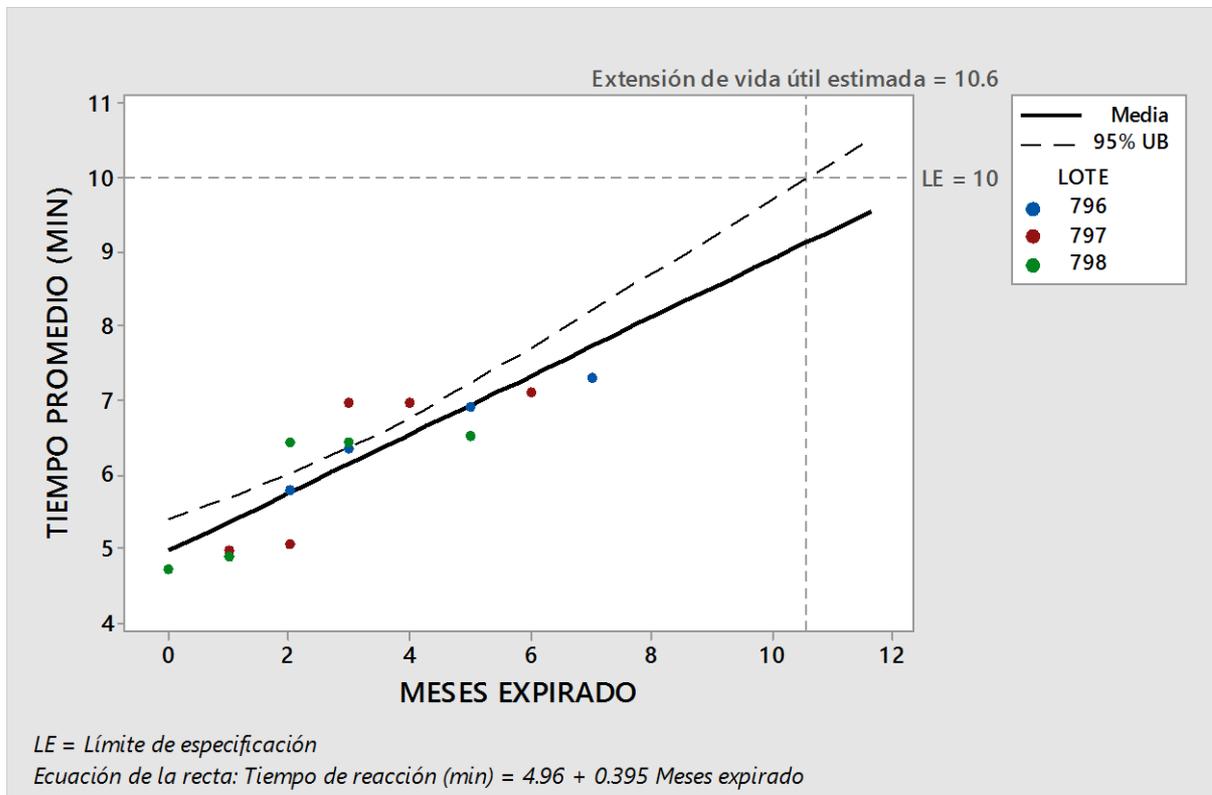


Figura 32 Gráfica para estimación de extensión de vida útil.

4.3 Análisis de resultados

Los resultados de las cinco evaluaciones realizadas, demuestran que hay cierto incremento en los tiempos de obtención del resultado; sin embargo, estos se encuentran dentro de los rangos establecidos por el proveedor (máximo 10 minutos). Este aumento de los tiempos de reacción, se relaciona con la degradación de los reactivos presentes en el dispositivo, lo que provoca una disminución en la reacción y por ende aumenta el tiempo del análisis. Las muestras fueron refrigeradas para su transporte, por lo que se tuvieron que descongelar previo a las evaluaciones; sin embargo, esto no afectó en el desempeño del dispositivo, ni en los resultados obtenidos. La información dada por el proveedor indica que se puede realizar el congelado de muestras hasta por 48 horas, sin que esto afecte el desempeño de la prueba. A pesar de esto, las cinco pruebas realizadas dieron resultados satisfactorios.

En total se analizaron 25 muestras por lote, más seis dispositivos que sirvieron como blanco durante cada evaluación. De estos, sólo se detectó un defectivo durante la cuarta evaluación, con un dispositivo usado como blanco, como se puede observar en la figura 17, en este dispositivo la placa no eluyó de manera correcta, por lo que no fue posible leer el resultado, sin embargo, el área de adulterantes, pH, así como el panel de temperatura, sirvieron de manera correcta. En general un defectivo se refiere a una unidad o pieza producida que no cumple con su funcionamiento, y por ende no alcanza los estándares de calidad establecidos por el fabricante y el cliente, estos pueden ir desde un problema estético, hasta un problema funcional que puede poner en riesgo la integridad del cliente. En este caso, debido a este problema, se tuvo que utilizar otro dispositivo como blanco. Si bien este error se considera como crítico al comprometer la utilidad del producto, este tipo de defectivos pueden llegar a presentarse, no sólo en este producto, sino en todo aquél que sea fabricado en grandes cantidades, ya que a pesar de que los procesos de producción se validan para garantizar el control, repetibilidad y calidad de los productos, siempre existe un riesgo latente de tener defectivos puntuales durante el proceso, para atender este tipo de problemas en el mercado, las empresas manejan sistemas de quejas, para recibir, investigar y

determinar la posible causa raíz del problema. Sólo en caso de que el problema hubiera aparecido en varios dispositivos de un mismo lote, se habría considerado como un problema generalizado, y se tendría que haber dejado de usar para las siguientes evaluaciones.

Se obtuvo el promedio de los cinco dispositivos de cada lote utilizados durante cada evaluación, estos promedios son mostrados en el cuadro 9, como se puede observar, los tiempos de reacción durante los seis meses que duró el trabajo se mantuvieron dentro de especificación en el rango de 6 a 8 minutos. En la figura 30, se puede ver el promedio de los tiempos de reacción de los 25 dispositivos iCup™ evaluados para los tres lotes, cada uno con su barra de error por desviación estándar, esto con el objetivo de poder observar que tan dispersos pueden encontrarse los valores de cada lote en comparación al promedio obtenido. Los promedios de los tres lotes están entre los 5 y los 7 minutos, la diferencia de tiempos de reacción se debe a los diferentes tiempos de expiración de cada lote, siendo el lote D0A0110796 el que tenía más tiempo de estar expirado y por tanto el que presentó un tiempo promedio de reacción mayor a los otros dos lotes.

Con base a los datos del cuadro 9, se realizó la figura 31, donde se graficaron los datos de la tabla con base al tiempo de expiración que tenían al momento de cada prueba, es decir cuánto tiempo después de haber cumplido su tiempo de vida útil se realizó la evaluación, esto con el objetivo de observar si el tiempo de reacción iba en aumento al pasar los meses desde su expiración. Las barras de error en la gráfica se realizaron a partir del error estándar de los tiempos de reacción de los 25 dispositivos evaluados de cada lote, este tipo de barra de error indica que tan variables pueden ser los valores promedio si la evaluación se repitiera varias veces. Como se puede observar, éstas indican una variación muy pequeña, por lo que de haberse repetido la evaluación a condiciones similares, los datos obtenidos hubieran sido similares a los obtenidos en este trabajo.

Debido a que al finalizar las evaluaciones, los tres lotes evaluados de iCup™ se encontraban dentro de la especificación del proveedor, se realizó una estimación de la extensión máxima de vida útil que se le pudo haber dado a los lotes, esto utilizando el software estadístico Minitab® 17, usando el módulo de análisis de estabilidades del programa.

La estabilidad de un dispositivo, puede definirse como la propiedad éste (en este caso el iCup™), de mantener sus propiedades físicas, químicas microbiológicas y biológicas entre los límites especificados, siempre y cuando este sea almacenado a las condiciones indicadas por el fabricante. En este trabajo, si bien no se realizó un análisis cuantitativo de la degradación de los componentes del dispositivo que permiten la detección de los metabolitos derivados del consumo de la marihuana, si se realizó de manera cualitativa, al realizar la toma de los tiempos de reacción.

Este módulo está basado en un modelo de análisis regresión lineal, la cual sirve para generar una ecuación para describir la relación estadística entre uno o más factores y la respuesta, para posteriormente realizar una predicción, en este caso una estimación de extensión de vida útil. Para poder realizar esto, el software realiza la automáticamente la relación lineal entre la respuesta y los factores (Lotes, Meses Expirado), que pudieran tener o no relación directa con la respuesta obtenido (Tiempo de reacción). Para ello, realiza una regresión de mejores subconjuntos (RMS), que lo que hará será seleccionar el mejor modelo para la evaluación de los datos, es decir que factores que están correlacionados con la respuesta, y si es posible, omitir aquellos que no lo están, esto con el objetivo de disminuir el error obtenido de la regresión. Una vez que se determina el modelo, Minitab® realiza un análisis de varianza (ANOVA) del modelo y determina que tanto se puede explicar la variación de tiempo de reacción con base al o los factores establecidos. Finalmente una vez que ha realizado esta evaluación, realizará la regresión lineal del modelo seleccionado y con ello se obtendrá la ecuación de la recta ajustada. Para poder usar este módulo, primero se tiene que definir el tipo de factores (datos), usados, en este caso se analizaron los tres lotes disponibles para el estudio, por lo que el factor es de tipo ajustado

(ya que se analizaron los 3 lotes disponibles para el estudio, y no se seleccionaron muestras al azar). Posteriormente se eligió el nivel de significancia (α), el cual fue del 0.05, y a su vez se delimitó el intervalo de confianza. es decir, la cantidad máxima aceptable que podría estar por encima del límite superior del tiempo de reacción (10 minutos), sin que esto comprometiera los resultados de los análisis realizados, al ser utilizados para el programa de evaluación de confianza de personal, se eligió un porcentaje del 95%, es decir que sólo un 5% de los dispositivos evaluados podrían presentar un tiempo de reacción mayor de los 10 minutos.

La figura 32, muestra la gráfica obtenida del análisis de los datos, en ella se puede observar la línea de la regresión ajustada obtenida así como la cota superior de esta (el valor máximo que se estima obtener a cierto tiempo), entre estas dos rectas, de acuerdo a los valores de intervalos de confianza y niveles de significancia establecidos, se estima que se tendría el 95% de los dispositivos, si estos se almacenaran y evaluaran a las mismas condiciones de este trabajo. El límite de especificación marcado es el establecido por el fabricante (10 minutos), este valor servirá de referencia para la determinación de la extensión de la vida útil, ya que el valor obtenido de la extensión de vida útil será aquel que se tenga cuando la recta de la cota superior del percentil se intercepte con este. Se estimó que el tiempo de vida útil máxima que se le pudo haber dado a estos dispositivos es de 10.6 meses después de la fecha de expiración de cada lote. Este valor indica que, para los 3 lotes, se pudieron seguir utilizando hasta 9 meses después de la expiración indicada, con un 95% de certeza de que los tiempos de reacción del dispositivo se encontrarían por debajo del límite de especificación de 10 minutos en el 95% de los dispositivos evaluados. El valor está dado por el tiempo de reacción de los dispositivos, por lo que no son dependientes del lote utilizado, debido a esto, solo se obtuvo una ecuación de la recta para los 3 lotes evaluados, lo que nos dice que el comportamiento fue muy similar entre estos lotes. Todos los dispositivos se almacenaron en las condiciones establecidas por el fabricante, con lo cual se asegura, que a la temperatura y humedad indicadas (25°C, 55% Humedad relativa), el dispositivo mantiene su utilidad, inclusive más allá de su fecha de expiración.

En los cromatogramas obtenidos de las 5 evaluaciones, se detectaron dos analitos el cannabidiol tri(metil)silano (CBD-TMS) y el 11-*nor*-9-carboxi-delta-9-tetrahidrocannabinol-2-tri(metil)-silano (THC-COOH-2TMS), con tiempos de retención de 9.0-9.5 minutos (min) para el primero, y de 11.0-11.5 min para el segundo. En la cuarta prueba, se detectó la presencia de cannabinol-tri(metil)silano (CBN-TMS) con un tiempo de retención de 10.2 min. La presencia de los compuestos silanizados de CBD y THC, corresponden a la composición química de la planta de donde se obtuvieron las hojas secas que fueron consumidas por parte del evaluado. De acuerdo a datos de análisis de concentración de THC y CBD, en plantas, los valores de estos irán variando con base en las condiciones de su crecimiento⁴³. En el caso del CBN, este no se forma por metabolización en el organismo, sino por oxidación en presencia de oxígeno ya sea durante la preparación de hashish, o por almacenar por periodos largos la marihuana.

En las cinco evaluaciones se pueden observar picos de intensidad similar para THC y CBD, por lo que es muy probable que el donante consumiera hojas de plantas de marihuana que crecieron en condiciones similares. Si bien, debido a que no se usaron estándares para hacer un análisis cuantitativo del contenido de THC, CBD y CBN, si podemos hacer un analizar cualitativamente los resultados, los cuales al presentar picos tan definidos y con abundancias altas mostradas en los cromatogramas, se puede determinar que los consumos hechos por parte del donante, fueron continuos durante todo el desarrollo del trabajo.

De los datos obtenidos del espectrofotómetro de masas, se hizo un escaneo de estos, ya que al ser un método destructivo, genera una gran variedad de iones durante el análisis, y no todos ellos son relacionados con el consumo de la marihuana, y si con compuestos presentes normalmente en la orina, por lo cual sólo se seleccionó el espectro relacionado con el THC-COOH silanizado, ya que éste, es el compuesto más común en muestras de orina de consumidores de THC, además de tener un periodo de vida de hasta 12 días después del último consumo¹⁷. En los 5 espectros obtenidos, se observan los iones característicos de este compuesto silanizado (371, 473, 488). La similitud de más del 90% con el de referencia en la biblioteca del detector, es indicativo de los consumos, así como

de lo reciente de estos. Con estos resultados y los obtenidos del cromatograma se puede confirmar los consumos mencionados por el donante, así como el funcionamiento correcto del dispositivo de detección rápido de drogas iCup™, aún después de haber superado su fecha de expiración.

En el caso de la quinta evaluación, se obtuvo también un resultado positivo para cocaína, el análisis por CG/EM, confirmó la presencia de analitos relacionados con el consumo de cocaína, este resultado de manera indirecta demostró la utilidad de estos lotes para la presencia de otras sustancias de abuso ilegal, además de la marihuana. Cabe mencionar que, otros colaboradores del área realizaron pruebas para otras sustancias como benzodiazepinas, barbitúricos y cocaína, al mismo tiempo que se realizó este trabajo. Esto con el objetivo de garantizar la efectividad del dispositivo para la mayor cantidad de sustancias.

Gracias a la evaluación de los dispositivos, se pudo justificar el uso del producto durante todo el tiempo que duró el trabajo, lo que permitió realizar un aproximado de 500 evaluaciones de confiabilidad, a la par de las evaluaciones. Con esto, se evitó el descarte de casi 800 dispositivos (500 de evaluaciones, 81 para este proyecto, 200 de otros proyectos), lo que contribuyó al ahorro de recursos por parte del área, y permitió un uso justificado de los dispositivos. Si bien con este trabajo se pudo extender el uso de los dispositivos, es importante mencionar que este tipo de evaluaciones son el resultado de un problema derivado de una mala proyección de la cantidad de dispositivos a utilizar en un periodo de tiempo. Por lo cual se recomienda, que siempre que sea posible, se debe utilizar estos dispositivos dentro de los periodos de vida útil indicados por el proveedor.

CONCLUSIONES

Al tener una gran cantidad de dispositivos iCup™, expirados, se realizó un plan de trabajo para utilizar estos dispositivos más allá de su fecha de expiración, sin poner en duda los resultados obtenidos de las evaluaciones del personal del Servicio de Administración Tributaria (SAT).

La evaluación de 3 lotes del dispositivo iCup™ se realizó con muestras positivas, para determinar su tiempo de reacción, y con ello, de una manera cualitativa, determinar la eficacia de los reactivos presentes en el dispositivo para la detección del consumo de marihuana. Los tiempos de reacción obtenidos fueron promediados en cada lote y posteriormente fueron graficados para poder observar la relación entre la fecha de expiración de cada lote de iCup™, y las evaluaciones hechas. Asimismo, se comprobó que los resultados obtenidos, pueden reproducirse a condiciones similares. Usando el software Minitab® 17, se estimó el tiempo de vida útil máximo del dispositivo, es decir, el tiempo durante el cual, se pudo haber seguido usando estos lotes para las evaluaciones de personal, sin que los resultados de estos fueran incorrectos, el estimado fue de 10.6 meses después de haber cumplido con la fecha de expiración.

Los resultados de los dispositivos evaluados durante este trabajo, fueron confirmados usando cromatografía de gases acoplada a masas, los espectros y cromatogramas obtenidos. En el caso de la cromatografía de gases se detectó la presencia de tiempos de retención para los compuestos indicativos del consumo de marihuana. Al no contar con estándares de los compuestos durante la valoración, no se puede dar un valor cuantitativo de la presencia de ambos analitos, sin embargo debido a la intensidad de los picos, se puede aseverar la presencia de una cantidad alta de ambos compuestos en las muestras, lo que refiere a un consumo constante de marihuana por parte del donante. Durante la revisión de los espectros obtenidos con el espectrofotómetro de masas, sólo se evaluó el espectro del THC-COOH-2TMS, ya que este compuesto está presente en la mayoría de las muestras de orina positivas a marihuana, con esto se comprobó la presencia de compuestos relacionados al consumo de marihuana las muestras evaluadas con los iCup™. Todo esto permitió el uso justificado de

este recurso hasta 7 meses pasada la fecha de expiración marcada por el fabricante, lo que significó un ahorro económico al área, además con ello, se logró garantizar los resultados obtenidos durante la evaluación del personal del Servicio de Administración Tributaria (SAT).

A pesar de que con este trabajo se pudo justificar el uso de los dispositivos iCup™, es siempre recomendable el utilizar este tipo de dispositivos en los tiempos y en las condiciones establecidas por el fabricante, ya que con ello se da certeza y seguridad de los resultados obtenidos. Si bien es importante saber que se pueden utilizar los dispositivos más allá de su fecha de expiración, lo ideal será realizar una correcta planeación de los recursos del programa, para evitar este tipo de problemas.

ANEXO 1. EJEMPLO DE CUESTIONARIO DE EVALUACIÓN

Cuestionario de Evaluación Toxicológica				
Nombre:				
Edad:				
Teléfono o Correo:				
Responda de manera sencilla las siguientes preguntas, si tiene alguna duda, pregunte.				
1.- ¿Ha consumido algún medicamento en los últimos 15 días?				
2.- En los últimos 15 días, ¿ha consumido alguna sustancia de abuso?				
3.- En caso de responder si a la pregunta 1, por favor indique cual.				
4.- ¿Qué tan frecuente consume este tipo de sustancias?				
5.- Alguna vez ha consumido alguna de las siguientes sustancias:				
Sustancia	Si	No	No Se	No la conozco
Marihuana				
Cocaína				
Heroína				
Anfetamina				
Metanfetaminas				
Opiáceos				
Psilocibina				
LSD				
Benzodiacepinas				
6.- Si ha consumido más de una sustancia, indique con qué frecuencia las ha consumido				
7.- ¿Ha tenido algún problema legal relacionado con el consumo de alguna sustancia de abuso? (legal o ilegal)				
8.- ¿Ha intentado dejar de consumir alguna de estas sustancias?				
9.- De ser afirmativa la respuesta, indique cual y el porqué.				
10.- ¿Ha tenido algún accidente relacionado con el consumo de alguna sustancia de abuso?				
Nota: Esta información es confidencial, y será usada sólo con fines de investigación. La información del evaluado queda en resguardo del evaluador, y no serán divulgados, a menos que el evaluado de permiso para su uso.				

Bibliografía

1. Villatoro-Velázquez, J. . E. al. *Encuesta Nacional de Adicciones 2011: Reporte de Drogas*. (2012).
2. United Nations Office on Drugs and Crime. *World drug report. Trends in Organized Crime* **3**, (2014).
3. Chapman, M. Drugs and Alcohol Workplace Trends. *Occup. Heal. Saf.* **76**, 32–34 (2007).
4. World Health Organization. WHO's role, mandate and activities to counter the world drug problem. 16 (2015). at <http://www.who.int/substance_abuse/publications/drug_role_mandate/en/>
5. Parker, R. R., Cobb, J. P. & Connell, P. H. Chlorodyne dependence. *Br. Med. J.* **1**, 427–9 (1974).
6. Pain, S. A potted history. *Nature* **525**, S10–S11 (2015).
7. Katz, M. B., Stern, M. J. & Fader, J. J. The Mexican Immigration Debate: The View from History. *Soc. Sci. Hist.* **31**, 157–189 (2007).
8. Mello, J. Employment and public policy issues surrounding medical marijuana in the workplace. *J. Bus. ethics* (2013). at <<http://link.springer.com/article/10.1007/s10551-012-1551-8>>
9. United Nations Office on Drug and Crime. World Drug Report 2009. (2009).
10. Mehmedic, Z. *et al.* Potency trends of Δ^9 -THC and other cannabinoids in confiscated cannabis preparations from 1993 to 2008. *J. Forensic Sci.* **55**, 1209–17 (2010).
11. Aldington, S. *et al.* Cannabis use and risk of lung cancer: a case-control study. *Eur. Respir. J.* **31**, 280–6 (2008).
12. Hall, W. & Degenhardt, L. Adverse health effects of non-medical cannabis use. *Lancet* (2009). at <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673609610370>>
13. Hall, W. & Solowij, N. Adverse effects of cannabis. *Lancet* (1998). at <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673698050211>>
14. Tasman, A., Kay, J., Lieberman, J. & Al, E. in *Psychiatry, 2 Volume* 2768 (Wiley, 2015). at <<http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-1118845471.html>>
15. Gottlieb, A. *Cooking with Cannabis: The Most Effective Methods of Preparing Food and Drink with Marijuana, Hashish, and Hash Oil*. (Ronin Publishing, 1993).

16. Cunningham, N. Hallucinogenic plants of abuse. *Emerg. Med. Australas.* (2008). at <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-6723.2008.01070.x/full>>
17. Sharma, P., Murthy, P. & Bharath, M. M. S. Chemistry, metabolism, and toxicology of cannabis: clinical implications. *Iran. J. Psychiatry* **7**, 149–56 (2012).
18. Ashton, C. H. Pharmacology of cannabis: A brief review. *Br. J. Psychiatry* **178**, 101–106 (2001).
19. Saxon, A. J., Calsyn, D. A., Haver, V. M. & Delaney, C. J. Clinical evaluation and use of urine screening for drug abuse. *West. J. Med.* **149**, 296–303 (1988).
20. Taylor, F. W. *The principles of scientific management.* *Management* **6**, (1911).
21. Taylor, F. W. *The principles of scientific management.* *Management* **6**, (1911).
22. S.A.T. Evaluación de la Confiabilidad. *Portal Anticorrupción* (2013). at <http://www.sat.mx/sitio_internet/transparencia/pas/112_5953.html>
23. Lemus, A. G. *Marco Normativo Integral de la Ley Federal Para la Prevención e Identificación de Operaciones con Recursos de Procedencia Ilícita. ('Ley Antilavado').* (2014). at <<https://books.google.com/books?id=-9ZqAwAAQBAJ&pgis=1>>
24. Agius, R. & Kintz, P. Guidelines for European workplace drug and alcohol testing in hair. *Drug Testing and Analysis* **2**, 367–376 (2010).
25. European Workplace Drug Testing Society. European laboratory guidelines for legally defensible workplace drug testing. (2002). at <<http://www.ewdts.org/ewdts-guidelines.html>>
26. National Institute on Drug Abuse. Urine Testing for Drugs of Abuse Urine Testing for Drugs of Abuse. *NIDA Res. Monogr. Ser.* **73**, (1986).
27. ONU, O. contra la D. y el D. *Abuso de drogas : tratamiento y rehabilitación Guía práctica de planificación Abuso de drogas : tratamiento y rehabilitación Guía práctica de.* (2002).
28. Entidad Mexicana de Acreditación. Manual de Procedimientos: Criterios de Evaluación de la Norma NMX-EC-15189-IMNC-2015/ ISO 15189:2012. (2015). at <http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Clinicos/Carpeta_2_Criterios_evaluacion/MP-FE009_Criterios_evaluacion_NMX-EC-15189-IMNC-2008.pdf>
29. SEMARNAT. NOM-161-SEMARNAT-2011: 'Criterios para clasificar a los residuos de manejo especial y determinar cuáles están sujetos a plan de

- manejo; así como los elementos y procedimientos para la formulación de los planes de manejo'. *Diario Oficial de la Federación* (2013). at <<http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/6633/1/nom-161-semarnat-2011.pdf>>
30. Cook, J. D., Caplan, Y. H., LoDico, C. P. & Bush, D. M. The Characterization of Human Urine for Specimen Validity Determination in Workplace Drug Testing: A Review. *J. Anal. Toxicol.* **24**, 579–588 (2000).
 31. Strasinger, S. K. & Lorenzo, M. S. Di. *Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales*. (Ed. Médica Panamericana, 2010). at <<https://books.google.com/books?id=uJmKmvilUdoC&pgis=1>>
 32. SEMARNAT. Empresas Autorizadas para el Manejo de Residuos Peligrosos | Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2015). at <<http://www.semarnat.gob.mx/transparencia/transparencia-focalizada/residuos/empresas-autorizadas-para-el-manejo-de-residuos>>
 33. Moeller, K. E., Lee, K. C. & Kissack, J. C. Urine drug screening: practical guide for clinicians. *Mayo Clin. Proc.* **83**, 66–76 (2008).
 34. Bojorge Ramírez, N., Salgado, A. M. & Valdman, B. The evolution and developments of immunosensors for health and environmental monitoring: problems and perspectives. *Brazilian J. Chem. Eng.* **26**, 227–249 (2009).
 35. Instant Technologies Inc. One Step Multi-Drug Screen Test Card with the Integrated iCup. (2004). at <<http://www.uscreeningsource.com/iCupPackageInsert.pdf>>
 36. Dams, R. & Murphy, C. Urine drug testing for opioids, cocaine, and metabolites by direct injection liquid chromatography/tandem mass spectrometry. ... *mass Spectrom.* (2003). at <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/rcm.1098/full>>
 37. Mikkelsen, S. & Ash, K. Adulterants causing false negatives in illicit drug testing. *Clin. Chem.* (1988). at <<http://www.clinchem.org/content/34/11/2333.short>>
 38. Saitman, A., Park, H.-D. & Fitzgerald, R. L. False-positive interferences of common urine drug screen immunoassays: a review. *J. Anal. Toxicol.* **38**, 387–96 (2014).
 39. Swift, R. M., Griffiths, W. & Cammera, P. False positive urine drug screens from quinine in tonic water. *Addict. Behav.* **14**, 213–5 (1989).
 40. Cook, J. D., Strauss, K. A., Caplan, Y. H., LoDico, C. P. & Bush, D. M. Urine pH: the Effects of Time and Temperature after Collection. *J. Anal. Toxicol.* **31**, 486–496 (2007).
 41. Robert L. Grob, PhD, Eugene F. Barry, P. *Modern Practice of Gas Chromatography*. (Wiley Interscience, 2004). at

- <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=2L_H2I5STa8C&pgis=1>
42. Ahuja, S. & Dong, M. Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. (2005). at <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=k_pD5hlj5DkC&oi=fnd&pg=PP1&dq=hplc+drug+analysis&ots=PGijsBTU58&sig=GxGFgsV-NhGhhAdZh77JYVqueb8>
 43. Nadulski, T. *et al.* Simultaneous and sensitive analysis of THC, 11-OH-THC, THC-COOH, CBD, and CBN by GC-MS in plasma after oral application of small doses of THC and Cannabis extract. *J. Anal. Toxicol.* **29**, 782–789 (2005).
 44. Andrews, R. Δ -Tetrahydrocannabinol (Thc) and Cannabidiol (Cbd) Following Derivatisation With Trifluoroacetic Anhydride (Tfaa). **713**, (2008).
 45. Stuart, B. *Gas Chromatography*. (Royal Society of Chemistry, 2003). at <https://books.google.com.mx/books/about/Gas_Chromatography.html?id=wV/kz6Lei2dYC&pgis=1>
 46. Eiceman, G. a. Instrumentation of Gas Chromatography. *Encycl. Anal. Chem.* 1–9 (2006). doi:10.1002/9780470027318.a5505
 47. Abraham, M., Poole, C. & Poole, S. Classification of stationary phases and other materials by gas chromatography. *J. Chromatogr. A* (1999). at <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967398009303>>
 48. Macherey-Nagel. Gas Chromatography: Application Guide/Technical Handbook. (2014). at <[ftp://www.mn-net.com/english/Flyer_Catalogs/Chromatography/GC/GC Applis.pdf](ftp://www.mn-net.com/english/Flyer_Catalogs/Chromatography/GC/GC%20Applis.pdf)>
 49. Agilent Technologies. Guía de Selección de Columnas Agilent J&W para CG. (2010).