

# DROGAS DE ABUSO:

## Investigación de Metabolitos de la Marihuana en 103 soldados de la Primera Región Militar

Gonzalo Moles Hernández (\*).

Eduardo Alvez López (\*\*).

Juan Antonio Tur Sánchez (\*\*).

Francisco Martín Sierra (\*\*).

### RESUMEN

Se trata de un estudio comparativo de dos métodos de determinación de drogas: enzoinmunoensayo y cromatografía de capa fina.

El número de muestras (103) con 20,3% de soldados consumidores de marihuana, confirma datos conocidos de la población juvenil española y nos recuerda la necesidad, sentida por todos, de normalizar la investigación de las drogas en las Fuerzas Armadas.

### SUMMARY

Drugs of Abusage: An Investigation of Metabolites of Marihuana in 103 soldiers from the first military region.

This study compares two different methods of investigation, namely enzyme-immuno-assay and fine layer chromatography.

Sample size as compared with the presumed rate of marihuana consumers 20.3 per cent, reminds us of the urgent need, that we all share, to normalize the investigation of drugs in the Armed Forces.

### INTRODUCCION

Desde hace tiempo, muchos compañeros de Sanidad Militar, nos habían hecho llegar su inquietud en relación con las drogas de abuso.

Esta preocupación se hizo patente en las Conferencias que pronunció en este Centro el Profesor de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, Dr. don Jesús Frías, con ocasión del desarrollo en este Departamento de las técnicas de Monitorización de Fármacos desde el punto de vista terapéutico. En aquella ocasión, los compañeros asistentes estaban destinados en un noventa por ciento en Hospitales. Su problema era la realización de un diagnóstico rápido de posibles drogadicciones que entraban como urgencias en centros de hospitalización.

La petición de información sobre técnicas de detección y resultados obtenidos, nos viene recientemente y con insistencia de compañeros destinados en Unidades de nuestras Fuerzas Armadas y de la Guardia Civil.

Todo esto nos ha llevado a un estudio de las técnicas que se encuentran estandarizadas. Hemos seleccionado dos. Su metodología es diferente, pero se complementan a la hora de emitir resultados.

Este estudio lo hemos aprovechado para realizar una detección de metabolitos de la marihuana en orinas de 103 soldados de diferentes Armas y Servicios que habían acudido a este Centro de Medicina Preventiva para que se le practicara analítica de rutina.

Al ser orinas recogidas al azar, y naturalmente de forma anónima, puede que su significación estadística sea escasa. Pensamos que sería más valorable si se refirieran a una Unidad determinada y se rellenara una ficha epidemiológica de cada individuo. Con todo, nos ha servido para tener experiencia en las dos metodologías empleadas.

### MATERIAL Y METODOS:

#### 1. Muestras

Se utilizaron para la determinación de este estudio 103 orinas recolectadas al azar y de forma anónima entre soldados pertenecientes a las distintas Armas y Servicios. Las orinas habían llegado al Centro para la determinación de exámenes rutinarios.

Las muestras fueron recogidas en recipientes estériles y congeladas hasta su

análisis. Se analizó la presencia de ácido 11 nor- $\Delta$ -tetrahydrocannabinol 1-9-carboxílico, principal metabolito del ácido canabinoico que se encuentra en la orina después de la ingesta de marihuana o de hachis.

El pH óptimo de la orina, que debe ser ensayada, debe estar entre 5,5 y 8. Las orinas extremadamente turbias se centrifugaron antes de usarse en el ensayo.

#### 2. Enzoinmunoensayo

Se utilizó para el screening rápido de todas las muestras de orina el enzoinmunoensayo homogéneo, para detectar la presencia de drogas en fluidos biológicos (suero u orina). Para la realización de esta técnica una alícuota de suero u orina se dispensa junto a una cantidad determinada de agua destilada en el vial que contiene los reactivos desecados. Estos viales, a su vez, sirven como celdillas ópticas para una determinación fotométrica de los resultados.

Los reactivos son: el anticuerpo específico frente a una droga en particular, el sustrato para el enzima trazador empleado y el enzima acoplado a la droga a determinar. La droga presente en la muestra y la droga marcada con el enzima, compiten por los lugares de unión del anticuerpo. La cantidad de droga marcada que se une al anticuerpo está en función de la cantidad de droga pre-

\* *Tcol. Médico. Jefe del Servicio de Bioquímica.*

\*\* *Cap. Médico*

*Diplomado de tercer curso del Diploma de Medicina Preventiva y Análisis Clínicos Instituto de Medicina Preventiva del Ejército «Capitán Médico Ramón y Cajal».*

## CUADRO COMPARATIVO DE AMBOS SISTEMAS

CARACTERISTICAS	ENZIMOINMUNOENSAYO	CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA
MANEJO	Fácil	Complicada
INSTRUMENTACION	Necesaria	No necesaria
SENSIBILIDAD	Alta	Alta
EXACTITUD	Alta	Alta
RAPIDEZ	Rápido	Lento
ALTERNATIVAS	Automatización	Máximo: 4 muestras simultáneas.
ACTUACION	Cualitativo	Cualitativo
	Monovalente	Polivalente
UTILIDAD FUNDAMENTAL	Despistajes de poblaciones grandes	Confirmatorio del anterior en caso de positividades Desenmascaramiento de tratamientos médicos ocultos Seguimiento médico-legal de tratamientos médicos Diagnóstico etiológico de intoxicaciones médicas

sente en la muestra. Dado que la actividad del enzima disminuye en función de que la droga a la que va acoplada, se una o no al anticuerpo, la presencia de la droga en la muestra puede ser detectada por la actividad enzimática. La actividad del enzima se mide a través del paso de NAD a NADH, lo que da lugar a un cambio de absorbencia en el medio, que se mide fotométricamente.

Este método es utilizado por la técnica EMIT<sup>®</sup>-ST<sup>™</sup>, que se vale de un dilutor manual para dispensar la muestra o el control, un fotómetro de doble haz y un microprocesador. El fotómetro efectúa las lecturas en cada vial de manera simultánea, el de la izquierda contiene el calibrador y el de la derecha la muestra problema o el control. El sistema óptico utiliza como fuente luminosa una lámpara halógena de cuarzo. En cada canal hay un filtro de interferencia de banda estrecha que permite únicamente el paso de la luz ultravioleta a 340 nm. Un sistema de lentes, enfoca el haz de luz saliente hacia fotorreceptores de silicona, amplificando y convirtiendo a continuación las señales eléctricas en impulsos digitales. El microprocesador procesa los datos de lectura y realiza la impresión de los mismos, siendo también el responsable de la autocalibración del fotómetro.

Las diferencias de las lecturas de cada celdilla se imprimen de forma automática en la tarjeta de resultados. Si la concentración obtenida en la muestra es superior a la del calibrador se imprimirá un signo positivo, y si es inferior se imprimirá un signo negativo.

Cuando el número de muestras a analizar es elevado se puede emplear, basándose en la misma técnica, un dispositivo automático capaz de realizar 60 determinaciones a la hora.

La técnica Emit<sup>®</sup>-ST<sup>™</sup>, permite el análisis de las siguientes drogas: Anfetaminas, Barbitúricos, Benzodiacepinas, Canabinoico, Cocaína, Metadona, Opiáceos, Metacualona, Fenciclidina y Alcohol etílico.

### 3. Cromatografía en capa fina (CCF)

Se puede emplear la CCF para detectar la presencia en la orina de metabolitos de barbitúricos e hipnóticos (drogas ácidas y neutras), o de analgésicos, estimulantes y de tranquilizantes (drogas básicas y neutras).

Los pasos previos al desarrollo del cromatograma (extracción, concentración e inoculación), así como los posteriores (revelado e interpretación) se en-

cuentran cómodamente dispuestos y simplificados por la técnica TOXI-LAB. Existen dos equipos: uno, utilizado para la extracción de drogas básicas (TOXI-LAB A) y otro utilizado para la extracción de drogas ácidas (TOXI-LAB B).

El extracto de drogas ácidas se realiza a un pH de 4,5 y el de drogas básicas se realiza a un pH de 9. Las drogas neutras se pueden extraer a uno de los dos pH, dependiendo de su naturaleza.

El extracto se concentra por calor, y mediante evaporación del resto del extracto se logra la impregnación del disco cromatográfico. Dichos discos se comportan como muestras de inoculación y se sitúan en lugares determinados previamente en el papel de cromatografía.

La identificación del cromatograma, una vez desarrollado y revelado, tiene lugar por comparación con patrones standards, por comparación con un atlas de resultados (que facilita la casa comercial) o por lectura de las manchas con una lámpara de luz ultravioleta.

Según el orden de migración (de mayor a menor), con el equipo A podremos determinar: Propoxifeno, Metadona, Meparidina, Codeína, Morfina, Diacepán, Cocaína, Acetaminofeno, Cafeína, Nicotina, Anfetamina, Metanfetamina, Trimepracina, Triflupromacina, Imipradina, Trifluoperacina y Quinina, Metacualona, Neprobamato, Amitriptilina, Doxefina, Nortriptilina y Estrictina. Con el equipo B podremos determinar: Secobarbital, Fenitoina Fenobarbital, Grutethimida, Aprobarbital, Etinamato, Amobarbital, Diacepan, Butabarbital y Barbital.

### RESULTADOS

Sobre un total de 103 muestras y utilizando el enzimoinmunoensayo (según

la técnica EMIT), se detectaron metabolitos de la marihuana en la orina de 21 de ellas (20,3%).

Al tratarse de una investigación con posibles implicaciones legales (en el caso de resultados positivos), en las que están en juego los derechos, privilegios, tratamiento o empleo de las personas, deberán confirmarse los resultados (sobre todo los positivos) con otra técnica de distinta metodología. La técnica utilizada para la confirmación, deberá ser por lo menos igual de sensible que el enzimoinmunoensayo y deberá detectar exactamente las mismas sustancias. Nosotros hemos confirmado todas las positividades de la técnica EMIT mediante la cromatografía en capa fina (sistema TOXI-LAB).

La cromatografía en capa fina mediante la técnica TOXI-LAB, además de confirmar las positividades de la técnica EMIT, nos detectó en varios casos metabolitos de diferentes fármacos de uso médico habitual (Efedrina, sulfamidas, antiinflamatorios, etc.), así como nicotina y cafeína. Con el sistema TOXI-LAB se actuó también sobre 25 orinas negativas confirmándose igualmente los resultados.

### DISCUSION

#### 1. Enzimoinmunoensayo

Cuando mediante el enzimoinmunoensayo por la técnica EMIT se obtiene un resultado negativo significa que, o no hay droga en la muestra, o se encuentra a un nivel tan bajo que no es detectable por el test.

Un resultado positivo, significa que la droga se encuentra presente en la muestra a un nivel detectable.

Normalmente no existe un tiempo límite a partir del cual ya no pueda detectarse la presencia de la droga en la

## Drogas de abuso: investigación de metabolismos de la marihuana en 103 casos de la Primera Región Militar

orina, ya que el metabolismo de estas sustancias, como de otras cualquiera, depende de una serie de factores bien definidos:

- 1.º Factores genéticos.
- 2.º Factores fisiológicos, principalmente el estado nutricional.
- 3.º Factores farmacodinámicos, principalmente vía de administración, dosis y pH de la orina.
- 4.º Factores patológicos, principalmente nefropatías.

A veces, una droga puede detectarse en la orina días o incluso semanas después de haberla tomado.

Los fumadores moderados (de uno a cuatro cigarrillos por semana), eliminan metabolitos por la orina entre los tres y los cinco días después de la última toma. Los fumadores de cuatro o más tomas diarias, eliminan metabolitos por la orina durante los quince días después de la última dosis y de forma alternativa desde el decimoquinto hasta el vigésimo días.

### 2. Cromatografía en capa fina (CCF):

La técnica de la CCF propuesta por el sistema TOXI-LAB no se diferencia en nada de las ya conocidas. Únicamente presenta la ventaja de proporcionarnos un material estandarizado para la realización del procedimiento con más rapidez y facilidad.

La interpretación del cromatograma no ofrece dificultades, bastará con analizar los cambios de color de las manchas al pasar por los sucesivos reactivos cromógenos y el Rf final. Siempre nos podremos ayudar de las tablas y atlas (bastante completos) que proporciona la casa comercial.

Antes de realizar el cromatograma es muy importante conseguir información sobre el paciente, sobre todo sus hábitos de drogadicción. Cuando se obtiene

un resultado positivo es interesante hacer una prueba con un control y otra con un standard. Cuando la mancha cromatográfica es demasiado grande para poder permitir una interpretación correcta, puede realizarse una dilución de la muestra. Este caso no va a ser raro entre los pacientes con sobredosis.

La CCF puede realizarse con orina, contenido gástrico y suero.

Cuando se sospeche la presencia de una droga determinada y el resultado del cromatograma sea negativo, se deberán usar otros métodos más sensibles. El sistema TOXI-LAB solamente detecta 1 µg o algo menos de droga por ml. de orina.

### 3. Comparación de ambos sistemas:

El enzimoimmunoensayo es un método de fácil uso, sensible, exacto y rápido. Necesita instrumentación y actúa de manera monovalente. Es útil para realizar amplios despistajes en una población de una droga determinada.

La CCF es un sistema de realización más complejo, necesiándose siempre personal especializado. No precisa apenas instrumentación y ofrece resultados polivalentes. Es un método sensible y exacto, pero para realizar estudios de una población numerosa resulta ser un método lento. Tiene la enorme ventaja de determinar la presencia de fármacos de uso médico y, por tanto, es susceptible de ser utilizado, no sólo para determinar el origen de intoxicaciones por drogas de abuso, sino también para determinar la etiología de las intoxicaciones medicamentosas.

## REALIZACION DE ESTAS DETERMINACIONES EN LA FAS

### A) Investigación de drogas de abuso

La Armada ha dado el primer paso en la determinación de las drogas de abuso al ampliar el cuadro de inutilidades (Orden nº 128/1982 de 14 de sep-

tiembre), incluyendo en el punto 1.15 en el grupo 1.º (enfermedades generales), con la siguiente redacción:

1.15 «Presentar evidencias comprobables de consumir estupefacientes o psicotrópicos sin prescripción médica».

Se recoge, por tanto, en este artículo, algo tan importante como es la posibilidad de detección de drogas de abuso en los aspirantes a ingreso en el Cuerpo y Especialidades de la Armada.

Desde el punto de vista de la Medicina Preventiva Militar, sería interesantísimo un estudio sobre:

1.º Consumo de drogas de abuso en las Unidades (confirmando nuestros resultados) e identificación del tipo de droga.

2.º Incidencia del consumo según el tipo de Unidad.

3.º Incidencia del consumo según la distribución geográfica de las Unidades.

### B) Investigación de tratamientos médicos

La investigación sobre el consumo de determinados fármacos (antiepilépticos, antidiabéticos orales, etc.) sería útil a la hora de determinar la exclusión de los mozos por motivos médicos y de aspirantes a las Academias Militares, Cursos de Ascenso, etc.

También serían importantes dichas investigaciones en el seguimiento médico-legal de ciertos tratamientos médicos y, como no, en el diagnóstico de la etiología de las infecciones medicamentosas.

### C) Dotaciones

Deberían dotarse de ambos sistemas los Hospitales Regionales y Centrales.

Por la trascendencia que pueden tener los resultados obtenidos, estas determinaciones siempre se deberán realizar por personal Diplomado en la Especialidad.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. CLARK, S.; TURNER, J.; BASTIANI, R.: «Emit Cannabinoid Assay: Clinical Study». N.º 74 Summary Report, Syva, Palo Alto, CA, 1980.
2. CLARKE, E.: «Isolation and Identification of Drugs». The Pharmaceutical Press, vol. 2, 1.013-1.015. London 1978.
3. DACKIS, C. A.; POTTAS, A. L. C.; ANNITTO, W., et. al.: «Persistence of urinary marijuana levels after supervised abstinence». Am J. Psychiatry, 139, 1.196-1.198, 1982.
4. GRODETZKY, C. W.: «Detection of drugs of abuse in biological fluids». In: W. R. Martin (Ed.): Drug Addition I. New York, Springer-Verlag, 386, 1977.
5. HOLLISTER, L. E.; KANTER, S. L.; MOORE, F., et. al.: «Marihuana metabolites in urine of man». Clin. Pharmacol. Ther 13: 849-855, 1972.
6. HUGES, R. B.; KESSLER, R. R.: «Increased safety and specificity in the thin layer chromatographic identification of marijuana, technical note. J. Forensic Sci. 24: 842-846, 1979.
7. KANTER, S. L.; HOLLISTER, L. E.: «Marihuana metabolites in urine of man». Res. Comm. Chem. Path. Pharm. 17 July: 421-431, 1977.
8. PEREZ-REYES, M.; LIPTON, M. A.; TIMMONS, M. C., et. al.: «Pharmacology of orally administered 9-tetrahydrocannabinol. Clin. Pharmacol. Ther 14: 48-55, 1973.
9. ROWLEY, G. L.; ARMSTRONG, T. A.; CROWL, C. P., et. al.: Determination of THC and its metabolites by EMIT. In: R. E. Willette: Cannabinoid Assays in Humans. Nida Research Monograph 7, 28-32, 1976.
10. TEALE, J. D.; KING, L. J.; FORMAN, E. J., et. al.: «Radioimmunoassay of cannabinoids in blood and urine». Lancet, Sept. 7, 1974.
11. DAVIDSOHN, D.; BERNARD, H. J.: «En Todd-Sanford: Diagnóstico clínico por el laboratorio». 6.º ed. Ed. Salvat, Barcelona 1978.
12. VELAZQUEZ, B. L.: «Farmacología y su proyección a la clínica». Ed. Oteo. Madrid 1975.