

Drogas de abuso en fluido oral

De la carretera al laboratorio de toxicología forense

Óscar Quintela Jorge
Facultativo del Servicio de Química
Instituto Nacional de Toxicología y ciencias Forenses



Seminario Online
20 de mayo de 2021



IF IT DOESN'T MAKE SENSE HERE, WHY DOES IT MAKE SENSE WHEN YOU DRIVE?



“LA FARIÑA ES EL FUTURO”

Por qué usar el FO

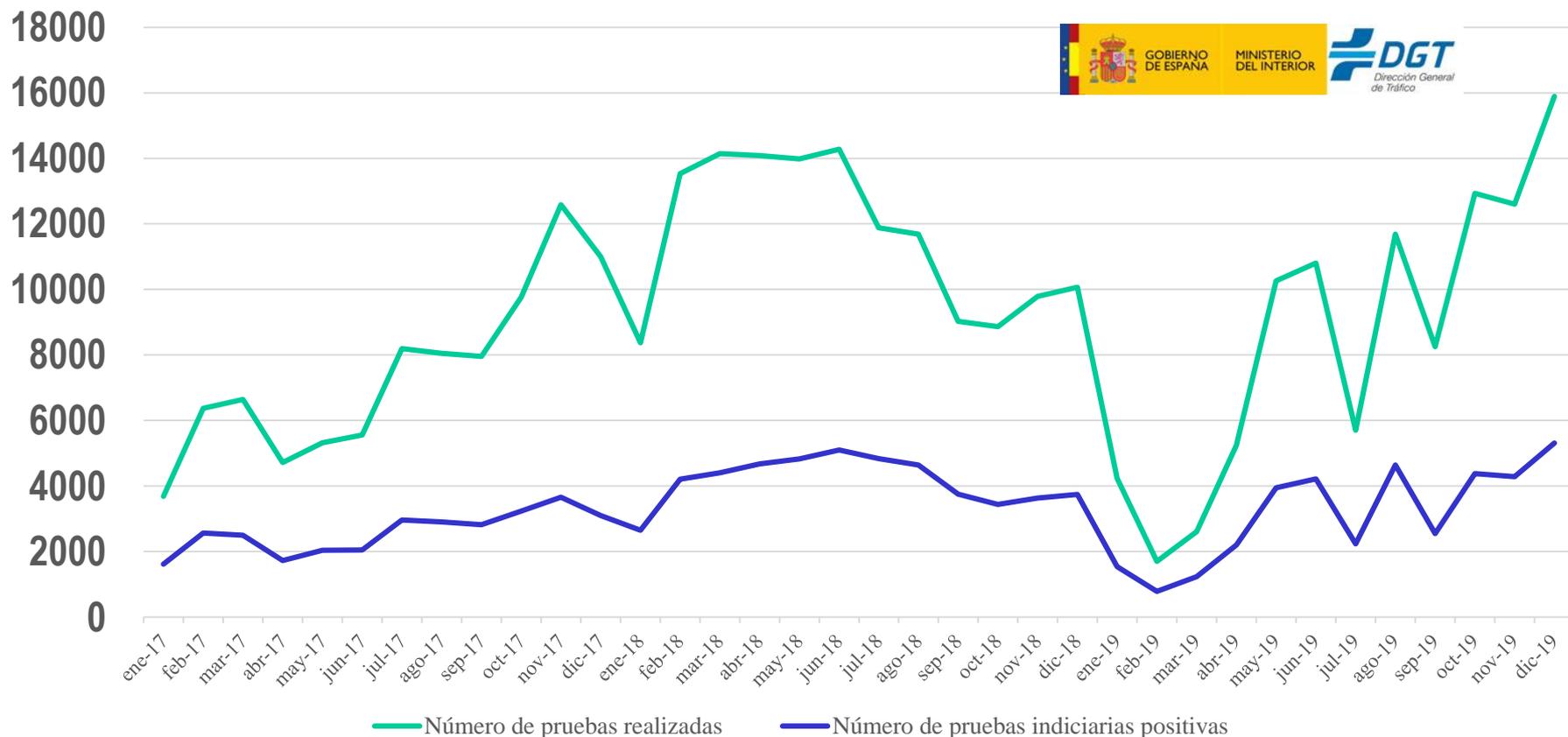
Por qué usar el FO

- Drogas y Conducción: aumento riesgo de accidente
- Ámbito legislativo: Prohibición
- Problema “real” en España
- Alternativa a la sangre
- Evaluación del consumo reciente

Determinación de drogas en FO

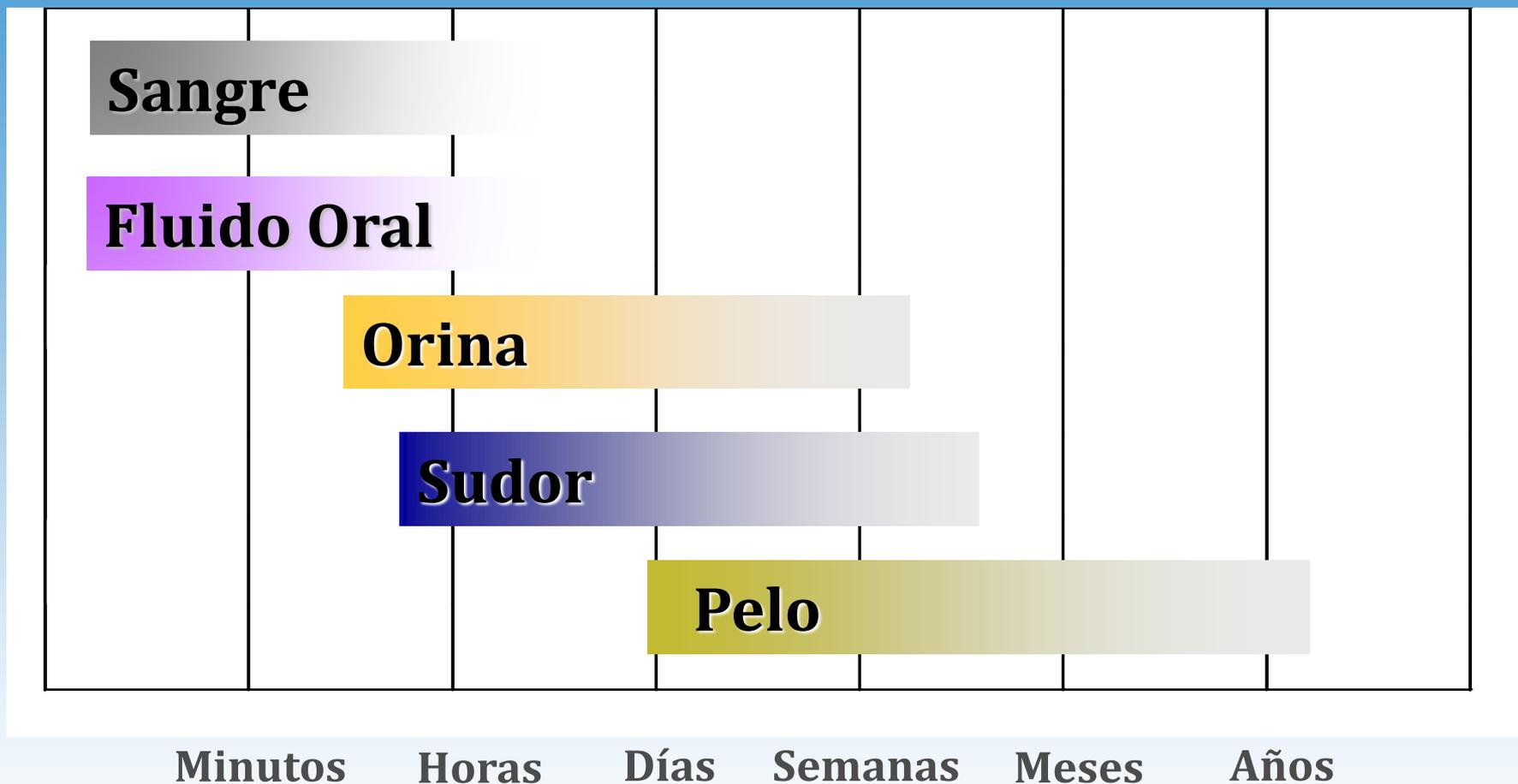
Por qué usar el FO: Problema “real”

Distribución mensual del número de pruebas de otras drogas distintas de alcohol realizadas por la ATGC. Años **2017** a **2019**



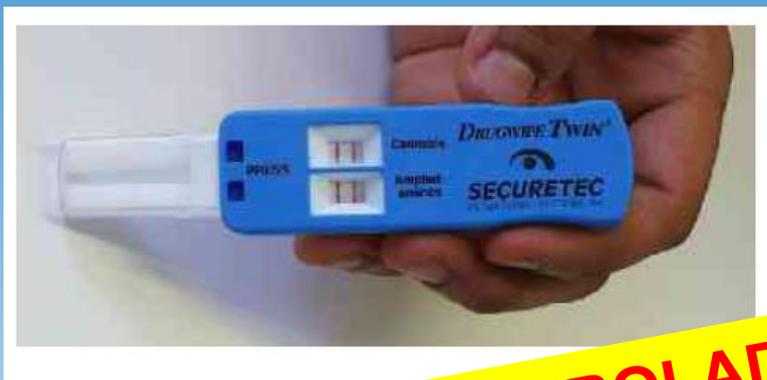
Determinación de drogas en FO

Po qué usar el FO: “Alternativa a la sangre”



Pruebas de *screening* en carretera

CÓMO MEDIR LA PRESENCIA DE DROGAS EN FLUIDO ORAL



¡¡ NO CONTROLADOS POR METROLOGÍA !!

CEM CENTRO ESPAÑOL DE METROLOGÍA



DISPOSITIVOS DE SCREENING DE CARRETERA

- ❑ Indicador de volumen
- ❑ Lector de resultado
- ❑ Impresora, teclado, lector de código de barras

Analyte	Cut-off
AMP (D-anfetamina)	50 ng/mL
MAMP (D-metanfetamina)	35 ng/mL
COC (cocaína)	20 ng/mL
OPI (morfina)	20 ng/mL
CAN (THC)	5-25 ng/mL
BENZO (Diazepam)	15 ng/mL



Toma de muestra para el laboratorio



Determinación de drogas en FO

TOMA DE MUESTRA: DISPOSITIVOS ESPECÍFICOS



Oral-Eze® (Quest Diagnostics)



Salimetrics oral swab



Intercept® (Orasure)



Quantisal™ (Immunoanalysis)



StatSure™



Oratube (Varian)

Procedimiento analítico en el laboratorio

**INSTITUTO NACIONAL DE TOXICOLOGÍA Y CIENCIAS FORENSES.
DEPARTAMENTO DE MADRID**

Dirección: C/ José Echegaray 4; 28232 Las Rozas (MADRID)
Norma de referencia: **UNE-EN ISO/IEC 17025:2017**
Actividad: **Ensayo**
Acreditación nº: **297/1367**
Fecha de entrada en vigor: 29/02/2008

ALCANCE DE LA ACREDITACIÓN

(Rev. 13 fecha 22/03/2021)

Categoría 0 (Ensayos en las instalaciones del laboratorio)

UNIDAD TÉCNICA: SERVICIO DE QUÍMICA

Fluido oral (saliva) en tampón	Análisis cuantitativo de anfetamina, metanfetamina, metilendioximetanfetamina (MDMA), metilendioxianfetamina (MDA), metilendioxietilamfetamina (MDEA), cocaína, benzoilecgonina, etilbenzoilecgonina (cocaetileno), delta-9-tetrahidrocannabinol (THC), morfina, codeína y 6-monoacetilmorfina por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS)	PNT-Q-T086 Método interno basado en Concheiro M et al. Anal Bioanal Chem. (2008) 391(6):2329-38.
	Análisis cualitativo de ecgonina metil éster por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).	PNT-Q-T086 Método interno basado en Concheiro M et al. Anal Bioanal Chem. (2008) 391(6):2329-38.



ENAC es firmante de los Acuerdos de Reconocimiento Mutuo establecidos en el seno de la European co-operation for Accreditation (EA) y de las organizaciones internacionales de organismos de acreditación, ILAC e IAF (www.enac.es)

Código Validación Electrónica: 6Y5k294JC57s5Y99ZI

La acreditación mantiene su vigencia hasta notificación en contra. La presente acreditación está sujeta a modificaciones, suspensiones temporales y retirada.

Su vigencia puede confirmarse en <https://www.enac.es/web/enac/validacion-electronica> o haciendo clic [aquí](#)

DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO EN FO

Grupo	Nombre del compuesto
Cocaínicos	Cocaína
	Benzoilecgonina
	Etilbenzoilecgonina
	Ecgoninametilester
Anfetamínicos	Anfetamina
	Metanfetamina
	3,4-metilendioxi-N-metilanfetamina (MDMA o éxtasis)
	3,4-metilendioxianfetamina (MDA)
	3,4-metilendioxietilamfetamina (MDEA)
Opiáceos	6-monoacetilmorfina (6-MAM)
	Morfina
	Codeína
Cannabinoicos	D ⁹ -Tetrahidrocannabinol (THC)

DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO EN FO (Dpto. Madrid)

- **Muestra**

FO: Toma de muestra mediante el dispositivo Quantisal



- **Etapas preanalíticas: SPE**

- 2 horas/20 muestras



- **Método LC-MS-MS**

Análisis LC/MS/MS

6 min/muestra

- **LLOQ**

1 – 5 ng/mL (200 μ L de FO)



Validación del método

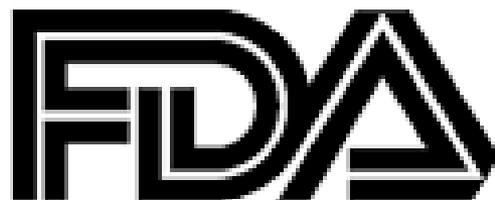
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Estudio de una serie de parámetros que, si cumplen los criterios de aceptación predefinidos, garantizan la reproducibilidad y fiabilidad de los resultados proporcionados por el método analítico para la aplicación a la que se destina.

Send Orders for Print-Reprints and e-prints to reprints@benthamscience.ae

Current Pharmaceutical Design, 2017, 23, 1-13

1



Practices for New Method Validation

e², Thierry De Baere¹ and Frank T. Pe

¹Federal Public Service Justice, National Institute of Criminalistics and Criminology, Belgium; ²Quality of Medical Laboratories, Scientific Institute of Public Health, J. Wytsman



Scientific Working Group for



Validation guidelines is important to obtain quality forensic bioanalyses with the reporting of reliable analytical data. Standards for validation guidelines as those from the US Food and Drug Administration (FDA), the German speaking Gesellschaft für Toxikologie und Analytik (GTA), the Working Group of Forensic Toxicology (SWGTOX). These guidelines cover aspects such as method limits, calibration, accuracy and stability, as well as sample integrity and incurred sample reanalysis. It is, however, not easy to practice as these international guidelines remain nonbinding, and that need to be updated according the analyst's technique, and that need to be updated according the analyst's method. In this manuscript, a review of the current guidelines and literature in a forensic context is given and discussed. In addition, suggestions of statistical approaches and adequate acceptance criteria for forensic analysis are discussed.

Keywords: Bioanalytical validation, forensic toxicology, international guidelines, experimental set-up, acceptance criteria, quality control.

1. INTRODUCTION

Reporting reliable analytical data is a prerequisite for the development of forensic research and for the interpretation of toxicological findings. The international scientific forensic community needs to published research results and case-report data that are valid, reproducible and comparable. In addition, the quality of the daily routine work must be guaranteed as the final results are used by judicial authorities for implementation of legal measures. As a result, high standards concerning method development and the validation of these methods have been paramount during the last decades and are set by international organisations [1,2] as well as peer-

referred to the International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals (ICH) and the US Food and Drug Administration (CDER). The main goal of the validation procedure is to ensure that the method is suitable for its intended purpose.

particular in the pharmaceutical field for full method comparison. Both guidelines relate to selectivity, limits of the method, calibration, accuracy, precision, and stability as fundamental validation parameters. In the EMA document and the guidelines provided by the Scientific Working Group of Forensic Toxicology (SWGTOX),



VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO: ¿Para qué validar?

- Garantizar fiabilidad de resultados
- Correcta interpretación de los resultados toxicológicos

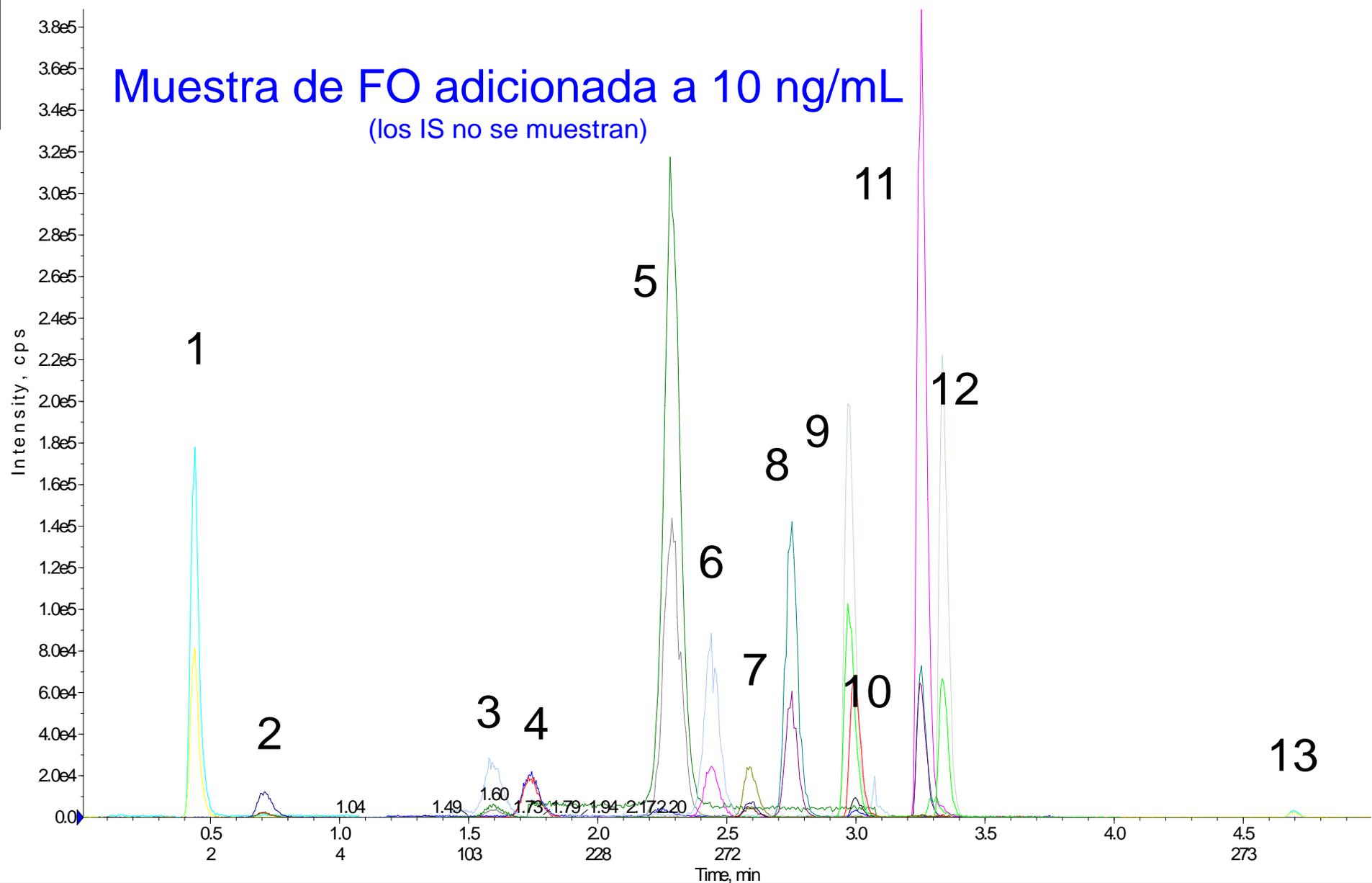


IMPLICACIONES LEGALES

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO: Parámetros

- Selectividad
- LLOQ
- Modelo de calibración
- Precisión
- Exactitud
- Efecto matriz
- Estabilidad
- Eficacia de la extracción (recuperación) y del proceso
- Límite de detección (LOD)
- Dilución de la muestra

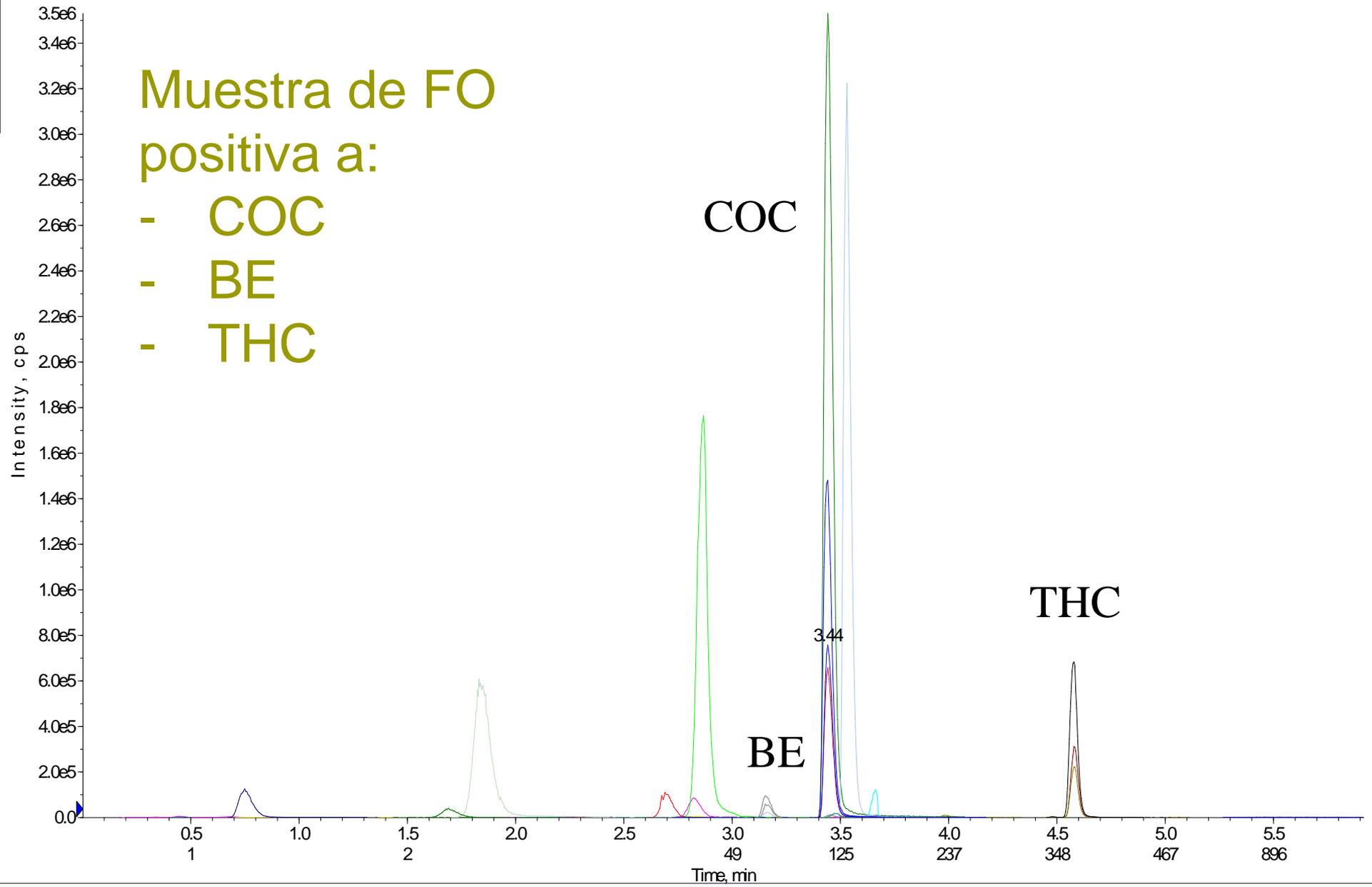
Aplicación a casos reales



1. EME; 2. Morfina; 3. Codeína; 4. Anfetamina; 5. Metamfetamina; 6. MDA; 7. 6-MAM; 8. MDMA; 9. MDEA; 10. BE; 11. Cocaína; 12. Cocaetileno; 13. THC

Muestra de FO positiva a:

- COC
- BE
- THC



Análisis toxicológico en fluido oral, encaminado a la detección de drogas de abuso morfina, codeína, 6-MAM (6-monoacetilmorfina), cocaína, benzoilecgonina, ecgoninametilester, etilbenzoilecgonina, anfetamina, MA (metanfetamina), MDA (metilendioxfanfetamina), MDMA (metilendioximetanfetamina), MDEA (metilendioxiétlanfetamina) y THC (delta-9-tetrahidrocannabinol).

Rango de Cuantificación de Morfina, Codeína, 6-MAM, Anfetamina: 5 - 2500 ng/mL

Rango de Cuantificación de Cocaína, Benzoilecgonina, Etilbenzoilecgonina, MA, MDA, MDMA: 5 - 1250 ng/mL

Rango de Cuantificación de MDEA: 5 - 500 ng/mL

Rango de Cuantificación de THC (delta-9-tetrahidrocannabinol): 1 - 2500 ng/mL

Límite de detección de ecgoninametilester: 5 ng/mL

El análisis ha sido llevado a cabo según procedimiento propio PNT-Q-T086.

Fecha de inicio:

Fecha de finalización:

TÉCNICAS EMPLEADAS

Cromatografía de LC-MS-MS (Q-TRAP)

RESULTADOS

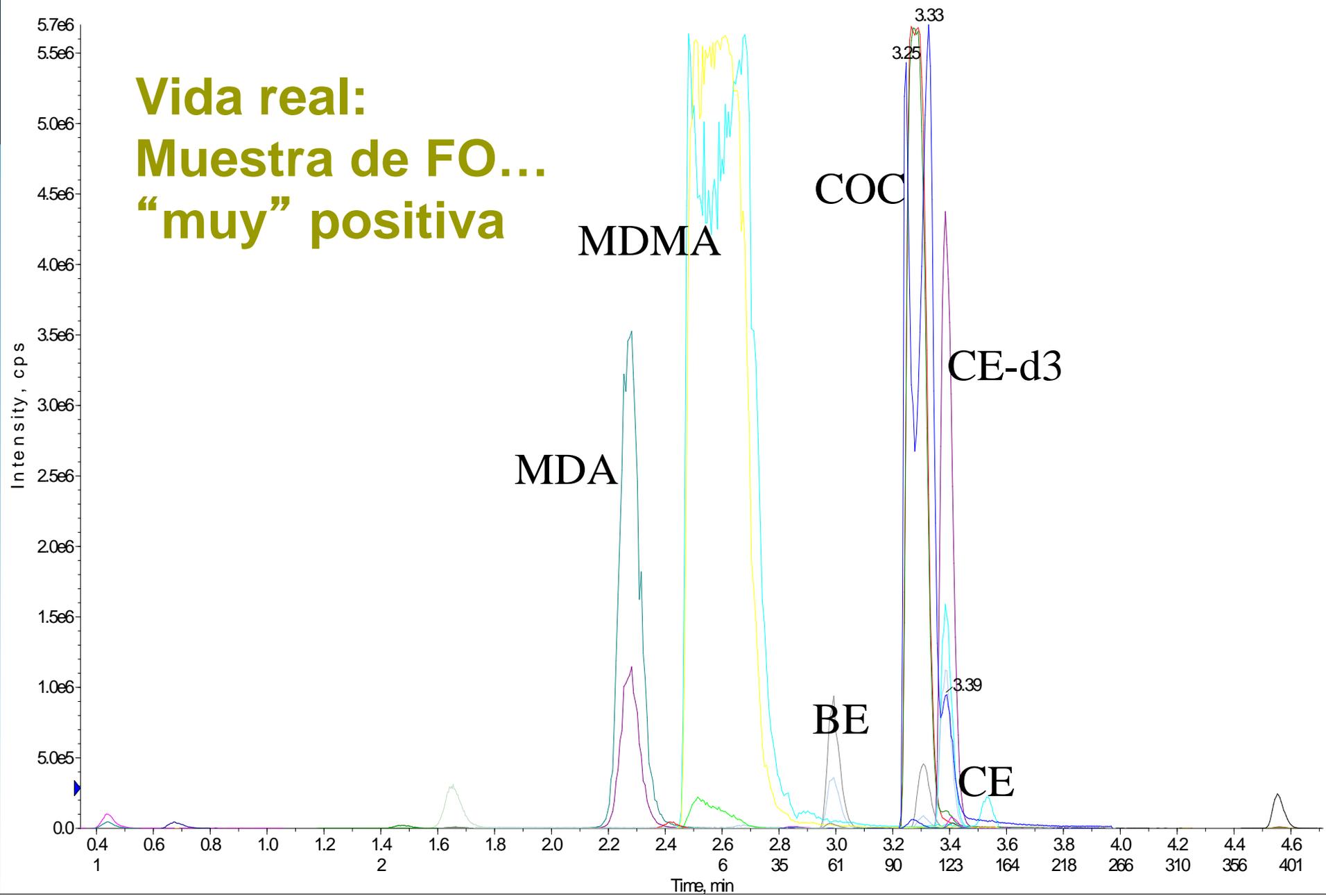
En la(s) muestra(s) analizada(s), se ha detectado:

Fluido Oral

Benzoilecgonina:	365,3	ng/mL
Cocaína:	624,7	ng/mL
Delta -9-Tetrahidrocannabinol:	181,3	ng/mL
Ecgoninametilester:	Positivo	
Etilbenzoilecgonina:	152,4	ng/mL

**Extracto de
dictamen que se
remite desde el
INTCF**

**Vida real:
Muestra de FO...
"muy" positiva**



CONCLUSIONES

- Uso del método LCMSMS en rutina de confirmación
- Validación del método satisfactoria
- Problemas encontrados:
 - Bajo volumen de FO
 - Contaminación externa
- Acreditación del método por ENAC

¡ GRACIAS POR SU ATENCIÓN !

