



## Identificación de adulteración de muestras de orina en el análisis toxicológico

### *Identification of adulteration of urine samples in the toxicological analysis*

María Elena Bravo-Gómez<sup>1</sup>, Alejandra Quijano-Mateos y Luz Alejandra Castillo-Alanis

#### Resumen

La muestra de orina es una de las más comunes para la determinación de sustancias de interés forense en matrices biológicas debido a su poca invasividad y la relativa facilidad con que se puede realizar en ella las pruebas presuntivas y su preparación pre-analítica para los análisis confirmatorios. Sin embargo, es una muestra que fácilmente puede adulterarse por sustitución, adición de sustancias que alteran el pH, adición de sustancias oxidantes, dilución *in vitro* o *in vivo* e incluso con productos caseros como sal de mesa o ablandadores de carne, que se añaden a la muestra con la intención de afectar los resultados del análisis. A pesar de esto, existen métodos para identificar estas adulteraciones, implementar algunos de ellos de forma rutinaria en los laboratorios forenses es importante para incrementar la confiabilidad de los resultados del análisis de sustancias de interés en orina.

#### Palabras clave

Adulteración, orina, análisis toxicológico, toxicología forense.

#### Abstract

Urine samples are commonly used in search of substances of forensic interest in biological matrices because they are less invasive than other samples, their pre-analytical preparation is simple, and it's relatively easy to perform screening tests on them prior to confirmatory assessment. However, these samples can easily be tampered with by substitution, addition of pH altering substances, addition of oxidative substances, *in vitro* or *in vivo* dilution or even the incorporation of household products such as salt or meat tenderizers, which are added intentionally to alter the toxicological test results. To address these issues, some methods to identify adulterations have been developed. The routinely implementation of said methods in forensic laboratories is important for results to be reliable.

#### Keywords

Adulteration, urine, toxicological analysis, forensic toxicology.

<sup>1</sup>Laboratorio de Toxicología y Química, Ciencia Forense, Facultad de Medicina, UNAM. \*[mebravo@unam.mx](mailto:mebravo@unam.mx)

## Introducción

La toxicología forense es un área especializada de la toxicología que se considera una de las disciplinas científico-técnicas al servicio de la administración de justicia. Su estudio requiere de la integración de conocimientos y técnicas de varias disciplinas como la medicina, la patología, la farmacología, la bioquímica y la química, entre otras.

La Toxicología Forense auxilia al Derecho en diferentes casos de intoxicación en el contexto de un caso penal (p.ej. hechos de tránsito, homicidios y suicidios, tanto accidentales como intencionales), pero también apoya a evaluar efectos ambientales, casos de dopaje laboral y en el deporte, entre otros.

La exposición a una sustancia de interés se puede determinar mediante el análisis químico de diferentes matrices biológicas, ya que las sustancias a las que ha sido expuesto un individuo estarán contenidas en sus diferentes fluidos y tejidos (matrices biológicas) en función de los procesos de toxicocinética y toxicodinamia. El análisis toxicológico se centra en la identificación y posible cuantificación de sustancias de interés presentes en una muestra biológica. En estos análisis se emplean diferentes técnicas de análisis químico de acuerdo con la composición de la muestra que se analiza y de la sustancia o grupo de sustancias que se buscan. Entre los grupos de mayor interés se encuentran las sustancias de abuso, los fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central, venenos animales, venenos vegetales, metales pesados, disolventes y plaguicidas; sin embargo, las sustancias de interés pueden ser muy variadas según el caso de estudio y la finalidad probatoria.

La selección del espécimen biológico a analizar para demostrar la exposición a una sustancia en particular es crítica; y se deben considerar aspectos fisicoquímicos, toxicocinéticos y toxicodinámicos para elegir la muestra ideal. La disponibilidad de los xenobióticos en la matriz biológica depende tanto de las propiedades físicas y químicas del compuesto, como de la vía de administración, los procesos metabólicos, la duración y la frecuencia de la exposición y, de forma importante, el tiempo transcurrido desde la exposición. Las muestras para análisis toxicológico pueden tomarse post-mortem o ante-mortem. Post mortem, se pueden muestrear la mayoría de los fluidos, órganos y tejidos en función de las necesidades del caso y del estado de descomposición del cuerpo, la muestra se toma al interior de los servicios médicos forenses por lo que el riesgo de adulteración de la muestra es escaso. Sin embargo, en la toma de muestra ante-mortem, la posibilidad de tomar muestras es más limitado pues deben preferirse aquellas muestras que sean poco invasivas como cabello, saliva, sangre y orina; de entre ellas, la sangre y la orina son las matrices más explotadas en el ámbito forense y proporcionan información que es complementaria entre ellas, siendo la sangre indicadora de la sustancia circulante y la orina la vía de eliminación de la sustancia o sus metabolitos. A pesar de la utilidad de la sangre, su obtención es invasiva y requiere de la orden de un juez de control si la muestra no se aporta voluntariamente.

Debido a la poca invasividad en la recolección, la disponibilidad en cantidades adecuadas y la facilidad del análisis, la orina ha sido la matriz de elección para la detección de sustancias de abuso durante muchos años por encima de otras alternativas como el sudor o la saliva (Silva et al., 2019). Sin embargo, uno de los retos actuales para los laboratorios es la facilidad con la que pueden ser manipuladas las muestras de orina con el propósito de

producir falsos negativos que permitan evadir las consecuencias del empleo de diferentes sustancias, por ejemplo, las sustancias de abuso o los fármacos que dan ventajas a los atletas en los eventos deportivos.

## Mecanismos de adulteración de muestras de orina

La adulteración de muestras es un problema potencialmente serio en los análisis toxicológicos, principalmente en las muestras de orina. La adulteración se puede definir como cualquier proceso a través del cual un individuo intencionalmente interfiere con, o intenta interferir con, el proceso de toma de muestra, transporte o análisis de una muestra con la intención de evitar un resultado legítimo (Olivieri et al., 2018). Se considera que un espécimen adulterado es una muestra de orina que contiene una sustancia que no es un constituyente normal o que contiene una sustancia endógena a concentraciones que no están dentro de los rangos fisiológicos de concentración (Bush, 2008). Se han llegado a emplear una gran variedad de sustancias o métodos para interferir con los procedimientos de análisis con la intención de provocar que la muestra dé un resultado negativo (Dasgupta, 2007). A continuación, se describen en general algunos de estos mecanismos a través de los cuales se adulteran las muestras de orina.

Los mecanismos de adulteración pueden ser muy variados, y afectar tanto las pruebas de cernimiento como las confirmatorias. Entre los mecanismos reportados se encuentran:

1. *Unión de los adulterantes a los analitos*: Los adulterantes pueden formar micelas o complejos insolubles con los analitos y, por tanto, no pueden detectarse en los inmunoensayos (Heard & Mendoza, 2007) o afectan la eficiencia de la extracción durante los procedimientos pre-analíticos en los ensayos confirmatorios (Ferslew et al., 2003; Jaffee et al., 2007).
2. *Incremento de la fuerza iónica*: El incremento de la fuerza iónica puede alterar la estructura de la proteína del par anticuerpo-antígeno, provocando una disminución en la sensibilidad de los inmunoensayos (Cassells & Craston, 1998; Ferslew et al., 2003). Por otra parte, también puede afectar la eficiencia de la extracción en los procedimientos pre-analíticos para los ensayos confirmatorios.(Ferslew et al., 2003; Jaffee et al., 2007)
3. *Modificación del pH*: Algunos adulterantes pueden actuar incrementando o reduciendo el pH de la muestra, y de esta forma alterar la velocidad de reacción de los inmunoensayos. Los cambios en el pH también pueden reducir la solubilidad de los analitos y su estabilidad (Mikkelsen & Ash, 1988), afectando también la eficiencia de la extracción (Ferslew et al., 2003; Jaffee et al., 2007).
4. *Oxidación*: La interacción de agentes oxidantes con los anticuerpos de las proteínas o enzimas puede causar su desnaturalización y por tanto disminuir de forma importante la capacidad de unión de la proteína o enzima, dando como resultado la alteración de los resultados del análisis por inmunoensayos (Cassells & Craston, 1998). Así mismo, los oxidantes pueden reaccionar con los analitos presentes y modificar su estructura, lo cual impide el reconocimiento antígeno anticuerpo en las pruebas presuntivas (Luong et al., 2012; Mikkelsen & Ash, 1988). Por otra parte, la oxidación de los analitos puede también afectar los resultados confirmatorios

(Fu et al., 2014), e incluso los oxidantes aún presentes en la muestra pueden alterar los estándares internos que se emplean para los análisis cuantitativos (ElSohly et al., 1997; Paul & Jacobs, 2002).

## Tipos de adulteración

La adulteración de muestras de orina puede llevarse a cabo por diferentes métodos que podemos clasificar de diferentes formas, una clasificación común es emplear tres categorías: sustitución de la muestra, adulteración *in vivo* y adulteración *in vitro*. También se pueden clasificar según el método empleado para realizar la adulteración: sustitución, dilución, adición de sustancias que alteran el pH urinario, adición *in vitro* de sustancias oxidantes, adición de glutaraldehído y otras sustancias no oxidantes.

A continuación, se proporcionarán algunos detalles de los métodos más empleados y cómo identificarlos.

### 1. Sustitución:

Este método se define como la práctica mediante la cual una muestra de orina de un donador que posiblemente contenga sustancias de interés para el análisis, por ejemplo, sustancias de abuso, se sustituye por orina de un individuo no consumidor de esas sustancias (Moeller et al., 2008) o bien orina sintética (Kim et al., 2019). Actualmente hay algunos procedimientos que se usan para detectar la sustitución.

- A) Monitorear la temperatura de la orina inmediatamente después de colectarla: desafortunadamente se pueden lograr temperaturas aceptables si la orina sustituyente se almacena en la axila, la cavidad vaginal o cerca del escroto justo antes de la donación (Lee et al., 2013).
- B) Realizar una toma de muestra supervisada: esta toma de muestra consiste en atestiguarla, requiere que la toma de muestra sea supervisada por alguien del mismo género, y requiere de una observación cercana de la micción, lo cual es incómodo para la mayoría de los individuos. Incluso con la observación cuidadosa y cercana, la sustitución es posible. El donante puede ocultar una bolsa de orina libre de drogas y liberar su contenido directamente en la taza de orina. (Lee et al., 2013).
- C) Identificar los componentes de la orina sintética: La orina sintética, se empleó inicialmente por los laboratorios como una matriz para correr controles de calidad en las pruebas, sin embargo, actualmente está disponible comercialmente y puede emplearse por los usuarios de sustancias de abuso para sustituir muestras de orina. La orina sintética, es una solución de sales con concentración de creatinina y pH similar a la orina humana, por lo que es difícil de detectar con los análisis de laboratorios comunes. Recientemente, se han comercializado kits que permiten identificarla a través de una reacción colorida dirigida a alguno de sus componentes, sin embargo, los fabricantes no indican el analito al cual está dirigida la prueba (Kim et al., 2019).

## 2. Dilución:

Este método de adulteración puede llevarse a cabo *in vitro*, adicionando directamente agua; o bien puede realizarse *in vivo*.

La dilución *in vivo* consiste en ingerir intencionalmente fluidos, sustancias y/o fármacos diseñados para diluir la orina o para acelerar o aumentar el metabolismo y/o la excreción de fármacos en el cuerpo (Mladěnka et al., 2018).

Este método es efectivo para algunas sustancias como fenciclidina y tetrahidrocannabinol que se excretan en bajas concentraciones en orina, el beber una gran cantidad de fluidos, incluso solamente agua, es un método efectivo para llevar las concentraciones por debajo del límite de corte dando como resultados falsos negativos (Cone et al., 1998; Luzzi et al., 2004).

En cuanto a los fármacos que se emplean para este efecto, se encuentran los diuréticos, que es un grupo de fármacos empleados principalmente para tratar afecciones cardíacas e hipertensión entre otras patologías. Existen muchos diuréticos naturales y sintéticos, entre los naturales se encuentran las xantinas como la cafeína presente en el café y té; la teofilina presente en el té o bien la teobromina presente en el chocolate. Estas sustancias favorecerán la pérdida de agua a través de la orina, provocando una dilución de sus componentes.

Este tipo de adulteración puede evidenciarse cuantificando los niveles de creatinina, un nivel muy bajo con respecto a los rangos fisiológicos puede indicar hidratación excesiva o bien dilución *in vitro* con agua. (Chaturvedi et al., 2013)

## 3. Sustancias que alteran el pH urinario:

Nuevamente este tipo de adulteración puede darse tanto *in vitro* o *in vivo*. El rango normal del pH urinario es entre 4.5 y 7.8, los inmunoensayos están diseñados para trabajar en ese rango de pH y por tanto, la adición de sustancias que modifican el pH *in vitro* alterará el adecuado funcionamiento de los inmunoensayos. En la adulteración *in vitro*, se pueden emplear productos caseros como el vinagre que produce una disminución en la sensibilidad del Inmunoanálisis Donador con Enzima Clonada (CEDIA) para detectar cannabis y cocaína (A. H. Wu et al., 1995), y del Inmunoensayo Enzimático Múltiple (EMIT) para detectar cannabis (Mikkelsen & Ash, 1988); otro ejemplo son los productos para la limpieza como Drano™ (hidróxido de sodio), que disminuyen la sensibilidad de EMIT y CEDIA para detectar compuestos tipo anfetamina, cannabis, cocaína y opiáceos (Mikkelsen & Ash, 1988; A. H. Wu et al., 1995). La adulteración *in vitro* con sustancias que alteran el pH puede identificarse con pruebas de rutina para verificar la integridad de la muestra a través de la medición del pH y su comparación con los rangos fisiológicos.

Por otra parte, las sustancias que alteran el pH *in vivo* favorecen o disminuyen la excreción de la sustancia de interés debido a que la excreción renal es dependiente del pH (Waller & Sampson, 2018). Los cambios de pH en la orina incrementan la eliminación renal de ácidos o bases débiles no polares, reduciendo su reabsorción desde el túbulo renal a pH's ligeramente básicos o ácidos, respectivamente (Abramson, 2010). De esta forma, aquellas sustancias que pueden alterar el pH de la orina, presentes en alimentos o bebidas, como por ejemplo vinagre o el bicarbonato de sodio, pueden producir suficientes

cambios en el pH urinario para alterar los procedimientos de inmunoensayo, o afectar el metabolismo y eliminación de algunos fármacos (Mirrakhimov et al., 2017). Por ejemplo, para las anfetaminas el 74% del compuesto sin transformar se excreta en orina si tiene un pH ligeramente ácido, en comparación a solo el 1% si es básica (Vree & Henderson, 2019).

#### 4. Sustancias Oxidantes:

Las sustancias oxidantes actúan degradando los componentes de la muestra y al mismo tiempo pueden interferir en el análisis (Paul & Dunkley, 2007), presuntivos o confirmatorios. Algunos analitos, en particular la morfina y el ácido 11-nor-delta-9-tetrahidrocannabinol-9-carboxílico no se pueden detectar en presencia de algunos agentes oxidantes. (Paul & Dunkley, 2007).

Entre las sustancias oxidantes más empleadas se encuentran los nitritos, cromatos (como el clorocromato de piridinio que es altamente eficaz para la oxidación de alcoholes primarios y secundarios), el hipoclorito de sodio, el yodo, y el empleo de sistemas de peroxidasas y peróxido de hidrógeno, entre otros. Algunas de estas sustancias están presentes en productos caseros como los blanqueadores de ropa (hipoclorito de sodio) y otros se comercializan en internet con la finalidad de interferir en los análisis.

La presencia de nitritos en las muestras puede incluso provocar falsos negativos en la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-Ms) para la detección de marihuana (Dasgupta, 2007; Jaffee et al., 2007; Tsai et al., 2000). Los nitritos pueden detectarse usando permanganato de potasio acidificado, el cual es de color rosado. Las muestras que contienen nitritos se decolorarán y presentarán efervescencia cuando se añada este reactivo. Este método puede presentar falsos positivos en presencia de altas concentraciones de glucosa. Otro método para identificar nitritos es emplear yoduro de potasio. (Catlin et al., 1992; Dasgupta, 2005, 2007).

Con respecto a los sistemas enzimáticos que contienen peroxidasas, éstos se suelen comercializar en dos viales, uno que contiene peroxidasa y otro que contiene peróxido de hidrógeno, estos productos son capaces de producir falsos-negativos para metabolitos de marihuana, ácido lisérgico, dietilamida y opiáceos (S. Fu, 2016). Interfiere tanto en los inmunoensayos como en la CG-Ms (Shanlin Fu et al., 2014). Este sistema puede alterar también el perfil de esteroides que se emplea en el control del dopaje deportivo provocando una disminución importante en las concentraciones de androsterona, eticolanolona, 5 $\alpha$ -androstano-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol, 5 $\beta$ -androstano-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol y episterona resultando también en la alteración de sus cocientes. (Kuzhiumparambil & Fu, 2013). Este tipo de adulteración es difícil de detectar por los métodos convencionales y puede llegar a confundirse en algunos métodos con contaminación bacteriana (Brazwell et al., 2004), por lo que se recomienda confirmación de la adulteración por métodos complementarios. Uno de los métodos más empleados se centra en identificar la presencia de la enzima peroxidasa adicionando tetrametilbenzidina 100 mM en amortiguador de fosfatos, el cambio de color a café oscuro se considera un resultado positivo. También puede detectarse con dicromato de potasio ácido que dará como resultado el cambio de coloración a azul (Catlin et al., 1992; Dasgupta, 2005, 2007).

El clorocromato de piridinio (PCC) 200 mmol/L es el componente activo del producto comercial Urine Luck, este adulterante afecta los resultados por inmunoensayo



EMIT II y CG-Ms de opiato y THC, pero no es tan efectivo para otras sustancias como benzoilecgonina y anfetaminas (Wu et al., 1999). Este adulterante se puede detectar por métodos colorimétricos empleando difenilcarbazida como indicador de la presencia de cromato, o bien identificando piridina en CG-Ms (Wu et al., 1999). El  $\text{Cr}^{6+}$  en el PCC se puede detectar con 1,5-difenilcarbazida al 1% en metanol (m/v), la formación de un compuesto colorido purpura rojizo indica la presencia de esta sustancia (Dasgupta, 2010).

El dicromato de potasio también es un adulterante efectivo para enmascarar la detección de sustancias tipo anfetamina en orina, reduciendo la sensibilidad de los Inmunoensayos de Polarización Fluorescente (FPIA) hasta en un 27% cuando se adiciona dicromato al 10% m/m; así mismo, puede alterar los resultados confirmatorios por CG-Ms disminuyendo la concentración inicial de las sustancias tipo anfetamina. (Chou et al., 2008)

Los procedimientos que se emplean actualmente en los laboratorios para detectar oxidantes en orina son capaces de identificar si se ha llevado a cabo una manipulación química de la muestra *in vitro*. Una estrategia alternativa se puede enfocar a identificar y detectar los productos de oxidación, ya que los compuestos originales presumiblemente se han oxidado y no son detectables, pero se pueden identificar algunos productos estables de oxidación de compuestos tipo anfetaminas (Pham et al., 2013), cannabinoides (Charlton & Fu, 2013) y opiato (Luong et al., 2012; Luong & Fu, 2014).

### 5. Glutaraldehído como adulterante

El glutaraldehído es un aldehído que se usa principalmente como desinfectante de equipos médicos, odontológicos y de laboratorio; también se emplea como conservador y fijador en preparaciones para histología, patología y biología celular. Como muchos otros aldehídos, reacciona con aminos y tioles, los cuales son grupos funcionales comunes en las sustancias de interés y sus metabolitos; debido a su doble grupo funcional aldehídico, también es capaz de formar uniones cruzadas entre las proteínas. Debido a esto tiene la capacidad de interferir con los análisis tanto por su reactividad con grupos funcionales presentes en las sustancias de interés como por inhibición enzimática en los inmunoensayos (George & Braithwaite, 1996).

El glutaraldehído al 0.75% v/v puede provocar falsos negativos en los resultados de las pruebas de detección para sustancias de abuso empleando inmunoensayos enzimáticos (EMIT) II. (George & Braithwaite, 1996). Empleando concentraciones entre 1 y 2% se alteran considerablemente los resultados para metabolitos de anfetamina, metadona, benzodiacepina, opiato, y cocaína (Dasgupta, 2010).

Un método simple para identificar la adulteración de las muestras con un inhibidor enzimático como el glutaraldehído, es emplear los promedios y desviaciones estándar de las lecturas finales del cociente del cambio de absorbancia por unidad de tiempo (dA/min) correspondientes al control negativo a lo largo de las corridas de trabajo, y comparar este valor con el de los ensayos, con lo cual se asegura que tanto el ensayo como el analista están trabajando óptimamente (George & Braithwaite, 1996). También se pueden detectar con métodos fluorométricos empleando ácido etil-tiobarbitúrico en medio ácido para generar un fluoróforo en presencia de glutaraldehído (Wu, 2003). Finalmente, se pueden emplear también tiras reactivas comerciales para identificar la presencia de esta sustancia.

## 6. Otros adulterantes no oxidantes

Los adulterantes que no son oxidantes incluyen algunos químicos “caseros” de uso común como la sal de mesa (cloruro de sodio), jabón de manos, Visine™ (gotas para ojos), ablandador de carne, vinagre y los productos para la limpieza como Drano™ (hidróxido de sodio). Estos dos últimos, como ya se comentó, actúan modificando el pH de la muestra y alterando la sensibilidad de los inmunoensayos; el resto, tienen mecanismos de adulteración muy variados.

El detergente causa disminución en la sensibilidad por CEDIA para el análisis de compuestos tipo anfetamínicos, cannabis, cocaína y opioides, (Wu et al., 1995) así como disminución de sensibilidad por EMIT y Radioinmunoensayo (RIA) para la detección de cannabis (Mikkelsen & Ash, 1988).

Por su parte, la papaína y la proteasa de cisteína, que son los principales componentes de los ablandadores de carne, pueden emplearse como adulterantes para disminuir la sensibilidad de la detección de 11-nor-9-carboxy- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC-COOH) en muestras de orina por EMIT, FPIA y KIMS, así como disminuye la concentración detectada en los ensayos confirmatorios (Burrows et al., 2005; Larson et al., 2008).

El zinc disminuye la detección de compuestos tipo anfetamina (metanfetamina), cocaína, cannabis y opiatos por inmunoensayos como ELISA y EMIT. (Lin & Strathmann, n.d.; Venkatratnam & Lents, 2011).

## Métodos de identificación de la adulteración

En cada una de las secciones se han indicado algunos métodos para la detección de esa forma en particular de adulteración y su fundamento; sin embargo, en esta se intentará proporcionar al lector una clasificación general de los métodos que se emplean en los laboratorios y que se pueden emplear rutinariamente para identificar adulteraciones.

### 1. Pruebas de integridad de la muestra de orina:

Estas pruebas de integridad consisten en monitorear en general parámetros fisiológicos como temperatura después de la toma de muestra, pH, gravedad específica, fuerza iónica o niveles de creatinina. En la Tabla 1 se muestran los rangos fisiológicos. Cualquier desviación de los rangos esperados puede indicar una adulteración. Debido a que algunos adulterantes pueden cambiar el color de la muestra muy ligeramente, si existen desviaciones en los rangos deben aplicarse otros métodos complementarios para verificarla, por ejemplo: ensayos coloridos, tiras reactivas u otros métodos más elaborados. Estas pruebas pueden realizarse tanto en el sitio de la toma de muestra como en el laboratorio.

Parámetro	Rango
Creatinina	80-200 mg/dL (7.0-17.8 mM)
pH	4.7-7.8
Gravedad específica	1.0003-1.035 g/mL
Temperatura	32.5-37.7°C

**TABLA 1.** Parámetros fisiológicos esperados. Traducido de Fu (2016).



## 2. Reacciones de color:

Este método para identificar adulterantes consiste en la formación de compuestos coloridos en presencia de los adulterantes, principalmente tienen su utilidad para detectar oxidantes y glutaraldehído. Varias de estas reacciones coloridas se han mencionado en las secciones anteriores.

## 3. Detección con tiras reactivas:

Las tiras reactivas permiten identificar las muestras adulteradas en el momento de la toma o en el laboratorio ya que son prácticas y portátiles. Existen muchas marcas comerciales de tiras reactivas de plástico con diferentes almohadillas tratadas químicamente, cada almohadilla permite la detección de algún adulterante o alguna característica como el pH que permite inferir la adulteración. En general, estos dispositivos contienen tiras reactivas para las adulteraciones más comunes, y permiten evaluar creatinina, pH, nitritos, glutaraldehído, PCC y presencia de peroxidasas, sin embargo, los límites de corte pueden ser una limitante para la detección de bajas concentraciones de adulterantes.(Dasgupta, 2005, 2007; King, 1999; Peace & Tarnai, 2002; Urry et al., 1998).

## 4. Otros métodos

Existen también otros métodos que no suelen ser empleados como ensayos de rutina en los laboratorios debido a su complejidad y costo en comparación con la detección con tiras reactivas y las reacciones coloridas. Entre ellos están los métodos espectrofotométricos, que en general se aplican para la identificación de oxidantes enzimáticos como los sistemas de peroxidasas (Valtier & Cody, 2002) y no enzimáticos como iones férricos, cromato, nitritos, permanganatos, oxicluros, peróxido de hidrógeno y PCC (Fu, 2016; Paul, 2004; Paul et al., 2000). Existen también otro tipo de inmunoensayos, cuyo fundamento es la detección de un complejo colorido que se forma resultado de la interacción de tetrametilbenzidina y cualquier oxidante presente, la detección se realiza espectrofotométricamente (Fu, 2016). La electroforesis capilar para la detección de cromatos, PCC y nitritos (Minakata et al., 2008), la cromatografía de líquidos y cromatografía de gases acoplada a masas, así como, plasma acoplado inductivamente-masas que permiten la detección de PCC, Cr<sup>6+</sup> (Dasgupta, 2007; Minakata et al., 2008) y algunos productos de oxidación estables de anfetaminas (Luong et al., 2012; Pham et al., 2013), , cannabinoides (Charlton & Fu, 2013) y opiatos (Luong & Fu, 2014).

Una posibilidad alternativa es administrar una sustancia biológicamente inerte de bajo peso molecular (polietilenglicol) que se excreta en orina después de la ingestión oral y eso permite marcar la muestra de orina, este método permite detectar la sustitución en el caso de no encontrar el polietilenglicol en la muestra, sin embargo, no permite identificar adulteraciones *in vitro* (Schneider et al., 2008).

## Conclusiones

La adulteración de las muestras de orina es un reto en todos los laboratorios que realizan pruebas toxicológicas ya sea clínicas, deportivas o forenses. Verificar la integridad de

la muestra a través de la evaluación de sus parámetros fisiológicos o la detección de sustancias ajenas a la muestra como oxidantes, es útil para monitorear la adulteración; sin embargo, no garantizan la identificación de todas las muestras adulteradas debido a las bajas concentraciones de estas sustancias en relación con los límites de corte de las pruebas para su detección. Los inmunoensayos son las pruebas más empleadas debido a la cantidad de muestra requerida para los ensayos y la facilidad para su automatización; sin embargo, estas pruebas son muy vulnerables a las interferencias de los adulterantes por lo que es recomendable verificar la integridad de las muestras.

En general, en caso de encontrar que una muestra está adulterada, se tendría que realizar otra toma de muestra y analizarla; sin embargo, debido a los procesos farmacocinéticos, las concentraciones de las sustancias de interés cambian en el tiempo y podrían haber concluido su metabolismo y eliminación para el momento de la segunda toma.

En México, se corren algunas pruebas de rutina para verificar la adulteración en algunos laboratorios forenses; sin embargo, no es una práctica obligatoria, los laboratorios confían en la toma de muestras supervisadas y la cadena de custodia para disminuir la posibilidad de adulteración. No obstante, muchos de los métodos presentados son económicos y pueden implementarse con facilidad, incrementando así la confiabilidad de los resultados del análisis, por lo que recomendamos llevarlos a cabo en función de las posibilidades de cada laboratorio.

## Bibliografía

- Abramson, S. (2010). Extracorporeal Treatment of Poisonings. In *Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation* (pp. 700–719). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0987-2.00051-0>
- Brazwell, E., Crossey, M., Racz, M., Quitariano, T., & Chavez, M. (2004). Urine adulterant test for oxidants yields positive results from microbial-contaminated urine. *Journal of Analytical Toxicology*, 28(8), 692–693. <https://doi.org/10.1093/jat/28.8.692>
- Burrows, D. L., Nicolaidis, A., Rice, P. J., Dufforc, M., Johnson, D. A., & Ferslew, K. E. (2005). Papain: A Novel Urine Adulterant\*. *Journal of Analytical Toxicology*, 29(5), 275–295. <https://doi.org/10.1093/jat/29.5.275>
- Bush, D. M. (2008). The U.S. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs: Current status and future considerations. *Forensic Science International*, 174(2–3), 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.03.008>
- Cassells, N. P., & Craston, D. H. (1998). The effects of commonly used adulterants on the detection of spiked LSD by an enzyme immunoassay. *Science & Justice*, 38(2), 109–117. [https://doi.org/10.1016/S1355-0306\(98\)72087-8](https://doi.org/10.1016/S1355-0306(98)72087-8)
- Catlin, D. H., Cowan, D., Donike, M., Fraisse, D., Oftebro, H., & Rendic, S. (1992). Testing urine for drugs. *Annales de Biologie Clinique*, 50(5), 359–366. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1485694>
- Charlton, N., & Fu, S. (2013). Analysis of stable oxidation products of THC-COOH following urine adulteration: pyridinium chlorochromate and betadine o Title. *Presented at Forensic and Clinical Toxicology Association (FACTA) Biannual Meeting*.

- Chaturvedi, A. K., Sershon, J. L., Craft, K. J., Cardona, P. S., Soper, J. W., Canfield, D. V., Dubowski, K. M., Whinnery, J. E., Leyva, M. J., Aston, C. E., Blevins, S. M., Wright, J. E., Fraser, A. D., & Kuntz, D. J. (2013). Effects of Fluid Load on Human Urine Characteristics Related to Workplace Drug Testing \*. *Journal of Analytical Toxicology*, 37(1), 5–10. <https://doi.org/10.1093/jat/bks082>
- Chou, S. L., Ling, Y. C., Yang, M. H., & Giang, Y. S. (2008). Influences of seven Taiwan-produced adulterants on gas chromatographic-mass spectrometric (GC-MS) urinalysis of amphetamines. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 55(3), 682–693. <https://doi.org/10.1002/jccs.200800103>
- Cone, E. J., Lange, R., & Darwin, W. D. (1998). In Vivo Adulteration: Excess Fluid Ingestion Causes False-Negative Marijuana and Cocaine Urine Test Results. *Journal of Analytical Toxicology*, 22(6), 460–473. <https://doi.org/10.1093/jat/22.6.460>
- Dasgupta, A. (2005). Adulteration of Drugs-of-Abuse Specimens. In *Drugs of Abuse* (pp. 217–232). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-59259-951-6\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-59259-951-6_13)
- Dasgupta, A. (2007). The Effects of Adulterants and Selected Ingested Compounds on Drugs-of-Abuse Testing in Urine. *American Journal of Clinical Pathology*, 128(3), 491–503. <https://doi.org/10.1309/FQY06F8XKTQPM149>
- Dasgupta, A. (2010). Household Chemicals and Internet Based Products for Beating Urine Drug Tests. In *Beating Drug Tests and Defending Positive Results* (pp. 61–78). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-527-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-527-9_5)
- ElSohly, M. A., Feng, S., Kopycki, W. J., Murphy, T. P., Jones, A. B., Davis, A., & Carr, D. (1997). A Procedure to Overcome Interferences Caused by the Adulterant “Klear” in the GC-MS Analysis of 11-nor- $\Delta^9$ -THC-9-COOH. *Journal of Analytical Toxicology*, 21(3), 240–242. <https://doi.org/10.1093/jat/21.3.240>
- Ferslew, K. E., Nicolaidis, A. N., & Robert, T. A. (2003). Determination of Chromate Adulteration of Human Urine by Automated Colorimetric and Capillary Ion Electrophoretic Analyses\*. *Journal of Analytical Toxicology*, 27(1), 36–39. <https://doi.org/10.1093/jat/27.1.36>
- Fu, S. (2016). Adulterants in Urine Drug Testing. *Advances in Clinical Chemistry*, 76, 123–163. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.05.003>
- Fu, S., Luong, S., Pham, A., Charlton, N., & Kuzhiumparambil, U. (2014). Bioanalysis of urine samples after manipulation by oxidizing chemicals: technical considerations. *Bioanalysis*, 6(11), 1543–1561. <https://doi.org/10.4155/bio.14.102>
- George, S., & Braithwaite, R. A. (1996). The Effect of Glutaraldehyde Adulteration of Urine Specimens on Syva EMIT II Drugs-of-Abuse Assays. *Journal of Analytical Toxicology*, 20(3), 195–196. <https://doi.org/10.1093/jat/20.3.195>
- Heard, K., & Mendoza, C. D. (2007). Consequences of Attempts to Mask Urine Drug Screens. *Annals of Emergency Medicine*, 50(5), 591–592. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2007.04.003>

- Jaffee, W. B., Trucco, E., Levy, S., & Weiss, R. D. (2007). Is this urine really negative? A systematic review of tampering methods in urine drug screening and testing. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 33(1), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2006.11.008>
- Kim, V. J., Okano, C. K., Osborne, C. R., Frank, D. M., Meana, C. T., & Castaneto, M. S. (2019). Can synthetic urine replace authentic urine to “beat” workplace drug testing? *Drug Testing and Analysis*, 11(2), 331–335. <https://doi.org/10.1002/dta.2497>
- King, E. J. (1999). Performance of AdultraCheck 4 Test Strips for the Detection of Adulteration at the Point of Collection of Urine Specimens Used for Drugs-of-Abuse Testing. *Journal of Analytical Toxicology*, 23(1), 72–72. <https://doi.org/10.1093/jat/23.1.72>
- Kuzhiumparambil, U., & Fu, S. (2013). Effect of hydrogen peroxide oxidation systems on human urinary steroid profiles. *Analytical Methods*, 5(17), 4402. <https://doi.org/10.1039/c3ay40181b>
- Larson, S. J., Holler, J. M., Magluilo, J., Dunkley, C. S., & Jacobs, A. (2008). Papain Adulteration in 11-nor- $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-9-carboxylic Acid-Positive Urine Samples\*†. *Journal of Analytical Toxicology*, 32(6), 438–443. <https://doi.org/10.1093/jat/32.6.438>
- Lee, S.-F., Hsu, J., & Tsay, W.-I. (2013). The trend of drug abuse in Taiwan during the years 1999 to 2011. *Journal of Food and Drug Analysis*, 21(4), 390–396. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.09.003>
- Lin, C.-N., & Strathmann, F. G. (n.d.). Elevated urine zinc concentration reduces the detection of methamphetamine, cocaine, THC and opiates in urine by EMIT. *Journal of Analytical Toxicology*, 37(9), 665–669. <https://doi.org/10.1093/jat/bkt056>
- Luong, S., & Fu, S. (2014). Detection and identification of 2-nitro-morphine and 2-nitro-morphine-6-glucuronide in nitrite adulterated urine specimens containing morphine and its glucuronides. *Drug Testing and Analysis*, 6(3), 277–287. <https://doi.org/10.1002/dta.1476>
- Luong, S., Shimmon, R., Hook, J., & Fu, S. (2012). 2-Nitro-6-monoacetylmorphine: potential marker for monitoring the presence of 6-monoacetylmorphine in urine adulterated with potassium nitrite. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(7), 2057–2063. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6017-4>
- Luzzi, V. I., Saunders, A. N., Koenig, J. W., Turk, J., Lo, S. F., Garg, U. C., & Dietzen, D. J. (2004). Analytic Performance of Immunoassays for Drugs of Abuse Below Established Cutoff Values. *Clinical Chemistry*, 50(4), 717–722. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.028878>
- Mikkelsen, S. L., & Ash, K. O. (1988). Adulterants causing false negatives in illicit drug testing. *Clinical Chemistry*, 34(11), 2333–2336. <https://doi.org/10.1093/clinchem/34.11.2333>
- Minakata, K., Nozawa, H., Yamagishi, I., Suzuki, M., Gonmori, K., Kanno, S., Watanabe, K., Ahmed, W. H. A., & Suzuki, O. (2008). Determination of Urine Luck in urine using electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Forensic Toxicology*, 26(2), 71–75. <https://doi.org/10.1007/s11419-008-0049-7>

- Mirrakhimov, A. E., Ayach, T., Barbaryan, A., Talari, G., Chadha, R., & Gray, A. (2017). The Role of Sodium Bicarbonate in the Management of Some Toxic Ingestions. *International Journal of Nephrology*, 2017, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2017/7831358>
- Mladěnka, P., Applová, L., Patočka, J., Costa, V. M., Remiao, F., Pourová, J., Mladěnka, A., Karlíčková, J., Jahodář, L., Vopršalová, M., Varner, K. J., & Štěrba, M. (2018). Comprehensive review of cardiovascular toxicity of drugs and related agents. *Medicinal Research Reviews*, 38(4), 1332–1403. <https://doi.org/10.1002/med.21476>
- Moeller, K. E., Lee, K. C., & Kissack, J. C. (2008). Urine Drug Screening: Practical Guide for Clinicians. *Mayo Clinic Proceedings*, 83(1), 66–76. <https://doi.org/10.4065/83.1.66>
- Olivieri, B., Marić, M., & Bridge, C. (2018). Determining the effects of adulterants on drug detection via enzyme-linked immunosorbent assay and adulterant tests strips. *Drug Testing and Analysis*, 10(9), 1383–1393. <https://doi.org/10.1002/dta.2404>
- Paul, B. D. (2004). Six Spectroscopic Methods for Detection of Oxidants in Urine: Implication in Differentiation of Normal and Adulterated Urine. *Journal of Analytical Toxicology*, 28(7), 599–608. <https://doi.org/10.1093/jat/28.7.599>
- Paul, B. D., & Jacobs, A. (2002). Effects of Oxidizing Adulterants on Detection of 11-Nor-9-THC-9-Carboxylic Acid in Urine. *Journal of Analytical Toxicology*, 26(7), 460–463. <https://doi.org/10.1093/jat/26.7.460>
- Paul, B. D., & Dunkley, C. S. (2007). Specimen Validity Testing (SVT) -- Effects of Oxidizing Agents on Drugs in Urine and Procedures for Detection. *Forensic Science Review*, 19(1), 29–47. <http://ezproxy.stir.ac.uk/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=i3h&AN=27483196&site=ehost-live>
- Paul, B. D., Martin, K. K., Maguilo, J., & Smith, M. L. (2000). Effects of Pyridinium Chlorochromate Adulterant (Urine Luck) on Testing for Drugs of Abuse and a Method for Quantitative Detection of Chromium (VI) in Urine\*. *Journal of Analytical Toxicology*, 24(4), 233–237. <https://doi.org/10.1093/jat/24.4.233>
- Peace, M. R., & Tarnai, L. D. (2002). Performance evaluation of three on-site adulterant detection devices for urine specimens. *Journal of Analytical Toxicology*, 26(7), 464–470. <https://doi.org/10.1093/jat/26.7.464>
- Pham, A. Q. N., Kelly, T., & Fu, S. (2013). Urine adulteration: can bleach be used to mask MDMA use? *Anal. Methods*, 5(16), 3948–3955. <https://doi.org/10.1039/C3AY40543E>
- Schneider, H. J., Rühl, B., Meyer, K., Keller, R., & Backmund, M. (2008). Efficacy of a Polyethylene Glycol Marker System in Urine Drug Screening in an Opiate Substitution Program. *European Addiction Research*, 14(4), 186–189. <https://doi.org/10.1159/000141642>
- Silva, F., Kaileh, I., & Hobbs, G. A. (2019). A new automated assay for the detection of synthetic urine in drug testing. *Drug Testing and Analysis*, 11(7), 926–930. <https://doi.org/10.1002/dta.2596>
- Tsai, J. S. C., ElSohly, M. A., Tsai, S.-F., Murphy, T. P., Twarowska, B., & Salamone, S. J. (2000). Investigation of Nitrite Adulteration on the Immunoassay and GC-MS Analysis of Cannabinoids in Urine Specimens. *Journal of Analytical Toxicology*, 24(8), 708–714. <https://doi.org/10.1093/jat/24.8.708>



- Urry, F. M., Komaromy-Hiller, G., Staley, B., Crockett, D. K., Kushnir, M., Nelson, G., & Struempfer, R. E. (1998). Nitrite Adulteration of Workplace Urine Drug-Testing Specimens I. Sources and Associated Concentrations of Nitrite in Urine and Distinction Between Natural Sources and Adulteration. *Journal of Analytical Toxicology*, 22(2), 89–95. <https://doi.org/10.1093/jat/22.2.89>
- Valtier, S., & Cody, J. T. (2002). A procedure for the detection of Stealth adulterant in urine samples. *Clinical Laboratory Science : Journal of the American Society for Medical Technology*, 15(2), 111–115. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12776774>
- Venkatratnam, A., & Lents, N. H. (2011). Zinc Reduces the Detection of Cocaine, Methamphetamine, and THC by ELISA Urine Testing. *Journal of Analytical Toxicology*, 35(6), 333–340. <https://doi.org/10.1093/anatox/35.6.333>
- Vree, T. B., & Henderson, P. T. (2019). Pharmacokinetics of Amphetamines: In Vivo and in Vitro Studies of Factors Governing Their Elimination. In *Amphetamines and Related Stimulants: Chemical, Biological, Clinical, and Sociological Aspects* (pp. 47–68). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429279843-4>
- Waller, D. G., & Sampson, A. P. (2018). Drug toxicity and overdose. In *Medical Pharmacology and Therapeutics* (pp. 659–673). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-7167-6.00053-1>
- Wu, A. H. B., Bristol, B., Sexton, K., Cassella-McLane, G., Holtman, V., & Hill, D. W. (1999). Adulteration of urine by “urine luck.” *Clinical Chemistry*, 45(7), 1051–1057. <https://doi.org/10.1093/clinchem/45.7.1051>
- Wu, A. H., Forte, E., Casella, G., Sun, K., Hemphill, G., Foery, R., & Schanzenbach, H. (1995). CEDIA for screening drugs of abuse in urine and the effect of adulterants. *Journal of Forensic Sciences*, 40(4), 614–618. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7595298>
- Wu, A.H.B. (2003). Urine Adulteration and Substitution Prior to Drugs of Abuse Testing. *Journal of Clinical Ligand Assay*. 26, 11-18.