

Diagnóstico químico-toxicológico del consumo de cocaína en humanos

Juan Francisco Sánchez Bruzón.

Departamento de Toxicología Forense, Instituto de Medicina Legal, Avenida Independencia y Hernán Cortés, Ciudad de La Habana, Código Postal 10 800, Cuba.

Recibido: 9 de marzo del 2000. Aceptado: 10 de febrero del 2001.

Palabras clave: cocaína y metabolitos, metabolismo, diagnóstico.
Key words: cocaine and metabolites, metabolism, levels, diagnostic.

RESUMEN. La cocaína (COC) es uno de los estimulantes naturales más potentes del Sistema Nervioso Central. Este compuesto se encuentra en las hojas de la planta *Erythroxylum coca* y ha sido ampliamente utilizado desde hace muchos años como anestésico local en la práctica quirúrgica y por consumidores de drogas de abuso. La COC se hidroliza rápidamente en el organismo por vía química o enzimática de uno o ambos enlaces ésteres y sus concentraciones en muestras de orina no exceden las de su principal metabolito, la benzoilecgonina (considerado como metabolito marcador). Las concentraciones observadas de COC y sus principales metabolitos en orinas procedentes de consumidores y de víctimas de sobredosis varían grandemente dependiendo de las dosis, rutas de administración, formas de presentación, metabolismo, hora del muestreo y de las condiciones de almacenamiento de dichas muestras. En el presente trabajo se discuten algunos de los factores más importantes relacionados con el diagnóstico químico-toxicológico del consumo de COC en humanos. Esta revisión permite concluir que existen muchos factores a tener en cuenta para realizar una correcta interpretación de las concentraciones de COC y sus principales metabolitos en muestras de orina y que ellas solamente indican la presencia o ausencia de dichos analitos y no se puede realizar una cierta interpretación acerca de las cantidades y tiempo en que ellas fueron consumidas o si hubo algún cuadro clínico en el individuo. Las concentraciones de COC en pacientes intoxicados pueden estar en el intervalo desde concentraciones no detectadas hasta los 5 µg/mL y en casos de muerte relacionada con ella entre aquellas y 140 µg/mL. Además, las concentraciones de benzoilecgonina no siempre son superiores a las de su segundo metabolito en importancia, la ecgonina metiléster.

ABSTRACT. Cocaine (COC) is one of the most powerful natural central nervous system stimulant. This compound is found in the leaves of *Erythroxylum coca*, and has been widely utilized in medicine as a local anesthetic and by drug abusers since many years ago. COC is rapidly metabolized in the body by chemical or through an enzymatic hydrolysis of one or both of the ester linkages, and its concentration in urine samples usually does not exceed its principal metabolite, benzoylecgonine (consider as metabolite marker). COC and its main metabolites concentrations observed in urine samples from abusers and from victims the drug overdoses vary greatly depending on the dosage, route of administration, drug presentation form, metabolism, time of sampling and manner of storage of the specimens. In the present work some of the most important factors related to the chemical toxicology diagnostic of COC consumption in humans are discussed. This review concluded that there are many factors to consider in order to make a comprehensive interpretation of the COC and its metabolites levels in urine samples. These levels only indicate the presence or absence of the drug and it cannot support any interpretation such as to the amount of drug taken, time it was taken, or the absence or presence of impairment. COC concentrations found in urine samples from intoxicated people may be between not detected levels to 5 µg/mL and from cases of death between not detected levels to 140 µg/mL. Another important fact is that benzoylecgonine concentrations in urine samples are not always greater than those of the ecgonine methylester, its second important metabolite.

INTRODUCCION

La cocaína (COC) es un alcaloide que se extrae de una planta llamada *Erythroxylum Coca*, que se cultiva fundamentalmente en América del Sur y de la cual existen más de 200 variedades. La arqueología ha demostrado que 3 000 años antes de nuestra era ya los indios de los Andes consumían las hojas de coca, lo cual estuvo asociado generalmente a ceremonias religiosas. Con la conquista española, se trató de erradicar su uso, pero no se consiguió, generalizándose posteriormente su utilización a toda la sociedad, ya no tanto asociada a ceremonias religiosas, sino que su consumo se convirtió en una necesidad para soportar el hambre y el frío en las difíciles condiciones de vida del altiplano.¹

La humanidad ha vivido dos epidemias de consumo de COC: la primera iniciada justo después de su nacimiento en 1860 y hasta 1914; 50 años de consumo motivados por las aventuras científicas de aquella época, cuyo exponente más significativo fue la búsqueda de un tratamiento para la morfina-dependencia. La segunda y más extensa comenzó a finales de la década de los años setenta y tiene actualmente su máxima expresión.

La COC aunque no es la droga que más se consume, si es la que tiene más posibilidades de consumo: puede ser ingerida, inhalada, inyectada, fumada, aplicada directamente en las mucosas, mezclada con heroína, preparaciones de cannabis, bebidas alcohólicas y con otras drogas de origen sintético.

Una vez absorbida, es metabolizada rápidamente dando como metabolitos fundamentales la ecgonina metiléster (EME) por acción de las colinesterasas plasmáticas y hepáticas, es espontánea y enzimáticamente hidrolizada a benzoilecgonina (BE) y transformada a norcocaína (NORCOC) por isoenzimas de la citocromo-P450. El cocaetilo (COET) por su parte, parece ser producido por transesterificación de la COC en presencia de etanol. La BE es considerada como marcador del consumo de COC en muestras de orina por ser ella el principal metabolito.

Los mecanismos implicados en la acción de la cocaína son realmente complejos. Las investigaciones han demostrado que la COC bloquea la recaptación de algunos neurotransmisores: noradrenalina, dopamina, y serotonina. Este bloqueo se debe a que los receptores reconocen a la molécula de COC reaccionando ellos. Por lo tanto, tales sustancias permanecen en hendidura sináptica provocando que las neuronas receptoras sigan recibiendo órdenes por parte de estos neurotransmisores.

La duración e intensidad de los efectos de la cocaína en los seres humanos dependen de cinco factores fundamentales: de las dosis, frecuencia de consumo, tipo de consumo, forma de presentación de la droga y de la vía de administración. De manera general, un consumo recreacional de dosis moderadas (entre 10 y 35 mg) por vía inhalatoria o pulmonar (clorhidrato o *crack* respectivamente), produce una sensación de euforia, disminución de la fatiga y del apetito, además de un aumento de la sociabilidad entre otros efectos.

El diagnóstico del consumo de cocaína, generalmente está asociado a diferentes situaciones entre las que se pueden citar: el control del consumo en programas de rehabilitación, determinación del consumo en casos de sobredosis, en algún proceso judicial, en estudios epidemiológicos y en el deporte. Este diagnóstico se realiza mediante la demostración analítica en la orina de la BE. El tiempo de aparición y las concentraciones tanto de cocaína como de sus principales metabolitos en la orina, también son dependientes de los cinco factores mencionados para la duración e intensidad de los efectos y de manera general, es poco probable realizar con éxito estos análisis pasadas 24 h después del último consumo. Además, no es posible realizar un cálculo certero de la cantidad

consumida, ni predecir los efectos que se experimentaron a través de las concentraciones de cocaína y sus metabolitos en la orina, a no ser que dichas concentraciones sean muy elevadas, las cuales podrían ser atribuidas a una sobredosis de este psicofármaco.

Además de la orina, las muestras biológicas útiles para la determinación toxicológica de la COC y sus metabolitos son: la sangre, saliva, pelos, tejidos, uñas, sudor, humor vítreo y el meconio.

La toxicología analítica de la cocaína involucra generalmente un paso preparación de la muestra (que depende del tipo de muestra), seguida de una extracción en fase sólida (EFS) con columnas de tipo mixto, con una posterior determinación analítica por cromatografía gas-líquido con detector selectivo de nitrógeno-fósforo o detector de masas. La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM), dada su elevada especificidad y sensibilidad parece ser la técnica mediante la cual se obtiene la adecuada eficiencia para este tipo de estudio. Sin embargo, se han descrito varios métodos alternativos empleando cromatografía de gases con detector de nitrógeno-fósforo (CG-DNF), los cuales han permitido obtener resultados con la adecuada sensibilidad y selectividad para realizar un diagnóstico inequívoco.²

DATOS HISTORICOS

El consumo de COC se puede enmarcar en tres etapas muy bien delimitadas en la historia. La primera de ellas se corresponde con el uso milenario que los indios de todo el sur de América le dieron a las hojas de LA planta de coca y se extiende probablemente a más de 30 siglos a.n.e y hasta la conquista española. En este período se mascaron las hojas de la planta y generalmente, este consumo estuvo asociado a ceremonias religiosas y prácticas curativas, desempeñando un papel muy importante en las culturas indígenas. La segunda etapa se puede enmarcar desde el comienzo de la conquista y hasta alrededor de 1914 cuando se firmó el Acta de Narcóticos de Harriinson por parte del Gobierno de los EE.UU., donde se incluyó a la COC equívocadamente entre las drogas narcóticas. Durante este período se realizaron importantes investigaciones científicas relacionadas con la COC, destacándose dos acontecimientos relevantes que fueron, el aislamiento y caracterización del al-

caloide y el descubrimiento de sus propiedades anestésicas locales. Por otra parte, además de generalizarse el consumo de las hojas de la planta en Sudamérica, se hicieron famosos en Europa y Norteamérica numerosos brebajes (vino Mariani y la Coca-cola) y preparaciones farmacéuticas (la motivación fundamental fue la búsqueda de un remedio para la morfina-dependencia) que contenían dicho alcaloide. La tercera etapa de consumo comenzó a finales de la década de los años setenta hasta el presente. Durante todos estos años, los países productores (Perú, Bolivia, Colombia, etc.) han incrementado la producción ilegal de la planta, a pesar de que todos ellos fueron signatarios de la Convención Única de Estupefacientes de las Naciones Unidas en el año 1961, en la cual se coordinaron esfuerzos para erradicar tanto el consumo como la producción de las hojas de coca.³⁻⁵

De manera que se puede afirmar que la humanidad ha vivido dos epidemias de abuso de COC, la primera iniciada después de la caracterización del alcaloide en 1860 y hasta 1914 y la segunda y más extensa comenzó a finales de la década de los años setenta y que tiene en los días actuales su máxima expresión, fenómeno éste que no tiene precedentes en la historia de la humanidad.

FORMAS DE PRESENTACION

La COC como sustancia psicoactiva puede consumirse a partir de cinco preparaciones fundamentalmente: las hojas, el sulfato de COC (SCOC), el clorhidrato de COC (CCOC), la base libre y el *crack*. En este mismo orden y partiendo de las hojas, se pueden obtener todas las formas de presentación conocidas. El procesamiento es bastante simple: Las hojas se maceran con un disolvente orgánico (generalmente gasolina o kerosene), posteriormente, se extrae el alcaloide con ácido sulfúrico y se precipita con carbonato de sodio, obteniéndose el SCOC. Este último se disuelve en éter y se le añade ácido clorhídrico formándose el CCOC, que es la forma que generalmente se trafica en el ámbito internacional. El clorhidrato es soluble en agua y se descompone apreciablemente con la temperatura. A partir de esta forma de presentación se obtiene la base libre y el *crack* que son formas moleculares del alcaloide y solo se diferencian por el modo en que se obtienen partiendo del CCOC. El CCOC se mezcla con hidrógenocarbonato de sodio. Si se trata

con éter se obtiene la base libre y si se trata en medio acuoso se obtiene el *crack*, que debe su nombre al sonido que se produce cuando se lleva a cabo esta reacción en una pipa especialmente diseñada para estos fines. Ambas formas son insolubles en agua y más estables al calor. La COC que se vende en el narcomercado callejero es una sustancia blanca, cristalina y cuyo sabor es amargo y astringente, además su pureza generalmente no supera el 65 %, debido a que se encuentra diluida y adulterada. Las impurezas de la COC pueden dimanar de los constituyentes de la planta, del proceso de elaboración o de su adulteración. En los extractos de hojas de coca se han identificado los alcaloides *cis* y *trans*-cinamoil-cocaína, metilecgonina, tropacocaína, pseudotropina, truxilina, higrina, cuscohigrina y nicotina. Ahora bien, junto con la COC adulterada se han identificado también los compuestos siguientes: ecgonina, éster metílico de la ecgonina, benzoilecgonina, transmetilcinamato, cismetilcinamato, éster metílico de la ecgonidina (anhidroecgonina), metilbenzoato, ácido benzoico, acetona, éter, etanol y agua. El objetivo de la dilución es por una parte económico y por otra, para evitar una posible sobredosis. Los diluentes que se emplean son generalmente carbohidratos como la lactosa, dextrosa o talcos. La adulteración y transformación puede involucrar además, la adición de anestésicos no controlados (lidocaína y procaína), los cuales no cambian la apariencia de la droga debido a que la mayoría de ellos son polvos blancos muy finos. Además de esto, el CCOC puede contener almidón, ácido bórico, hidrógeno carbonato de sodio, dipirona, anfetaminas, disolventes, etcétera.^{5,7}

VIAS DE ADMINISTRACION

La COC puede consumirse por todas las vías posibles: oral, inhalatoria, pulmonar, parenteral, a través de las mucosas y de la piel. Por vía oral suelen mascarse las hojas (coqueo), de las cuales se preparan infusiones (té de coca), las que son comercializadas y socialmente toleradas en algunos de los países de Sudamérica. Por vía inhalatoria (*snifing*), suele consumirse en forma de clorhidrato, debido a que como es una sal penetra más fácilmente por las mucosas de la nariz. Por vía pulmonar los consumidores prefieren la COC en su forma molecular (base libre y *crack*), debido a que por

su naturaleza química penetra con mayor facilidad por los alvéolos pulmonares, aunque se conoce que todas las formas de presentación son susceptibles de ser fumadas y de hecho se fuman. Además, se puede inyectar por vía intravenosa (el CCOC suele mezclarse con heroína), intramuscular y subcutánea, puede ser aplicada en las mucosas de la garganta, ojos, vagina y recto y puede aplicarse en forma de bálsamo en cualquier zona anatómica de la piel. (Las formas moleculares se absorben más fácilmente por esta vía). Las formas más comunes de empleo por parte de los consumidores es el CCOC por vía inhalatoria y el *crack* en forma fumada. No obstante, el patrón de consumo varía considerablemente de un país a otro, en dependencia fundamentalmente de la forma disponible en que se presenta la droga en una zona o país determinado, lo cual depende a su vez, de si es una región productora o puramente consumidora.

METABOLISMO

En la orina de consumidores de la droga se han identificado alrededor de 19 metabolitos de la COC, que se corresponden con procesos metabólicos tales como hidrólisis, n-desmetilación, arilhidroxilación, etcétera. En síntesis, algunos de los metabolitos reportados son: benzoilecgonina (BE), ecgonina metiléster (EME), ecgonina (EG), cocaetileno (COCET), norcocaína (NORCOC), *N*-hidroxi-norcocaína (*N*-OH-NORCOC), norbenzoilecgonina (NORBE), anhidroecgonina metiléster (AEME), ecgonidina (EGA), *p*-hidroxycocaína (*p*-OH-COC), *m*-hidroxycocaína (*m*-OH-COC), *m*-hidroxibenzoilecgonina (*m*-OH-BE), *p*-hidroxibenzoilecgonina (*p*-OH-BE), norcocaetileno (NORCOCET), ecgonina etiléster (EEE). Estos dos últimos metabolitos fueron reportados recientemente por Jenkins y col.⁸ quienes ratificaron además que la AEME es un producto directo de la pirólisis de la COC y un analito indicador del uso de la COC cuando ella se fuma. Buddha y col.⁹ sugirieron que el mejor indicador del uso de COC fumada es la EGA, que es producto metabólico formado a partir de la metilecgonidina o AEME. La EGA es un metabolito estable que fue detectado por estos investigadores en el 96 % de las orinas positivas ensayadas en el contexto de un programa de control. Asimismo, Lewis y col.¹⁰ reportaron que la *m*-OH-BE es un metabolito muy importante para

diagnosticar la exposición fetal a la COC, y demostraron que el número de casos positivos aumentó en un 23 % comparado con la utilización de la BE como metabolito diagnóstico.¹¹⁻¹⁴

El metabolismo de la COC es muy amplio (Fig. 1). Es excretada sin transformación solamente del 1 al 9 % de las dosis (depende del pH de la orina). El metabolito principal es la BE que puede formarse por la acción de una carboxilesterasa hepática o por hidrólisis química espontánea a pH > 7. Se estima que alrededor del 35 al 55 % de las dosis se excretan en la orina en forma de este analito, aunque dicha eliminación es dependiente del pH urinario. El segundo metabolito en importancia es la EME que se forma por acción de una colinesterasa plasmática y hepática y representa aproximadamente del 26 a 60 % de las dosis de COC administradas. Además, la EME puede generarse por hidrólisis no metabólica (*in vitro*) de la COC en muestras mal conservadas y se favorece también a pH superiores a 7. Está demostrado que la COC es un analito muy inestable, que puede ser degradada rápidamente por acción enzimática y que su hidrólisis química espontánea se favorece a pH elevados. Esta degradación comienza desde el momento en que muere el individuo y continúa durante la autopsia, el muestreo, el análisis y en el almacenamiento mismo. También está bien estudiado que esta degradación puede prevenirse al menos durante el almacenamiento por adición de algún preservativo como el fluoruro de sodio 0,25 %.¹⁵⁻¹⁷

En este sentido, Isenschmid y col.¹⁸ demostraron que la suma aritmética de las concentraciones de EME y de COC encontradas en sangre tomada del corazón en cadáveres, podría ser usada para estimar las concentraciones de COC en el momento de la muerte. Sin embargo Logan y col.¹⁹ plantearon que mediante este procedimiento se subestiman las concentraciones de COC, debido a que la hidrólisis enzimática *in vivo* de la EME para dar EG procede al mismo ritmo que la hidrólisis de la COC para dar BE a pH fisiológico.

Otro metabolito importante es la NORCOC que se forma por acción del metabolismo oxidativo del nitrógeno tropano de la COC y se ha encontrado en la orina del 2 al 6 % de las dosis consumidas. Esta desmetilación está mediada por una isoenzima de la cit-450 y está demostrado

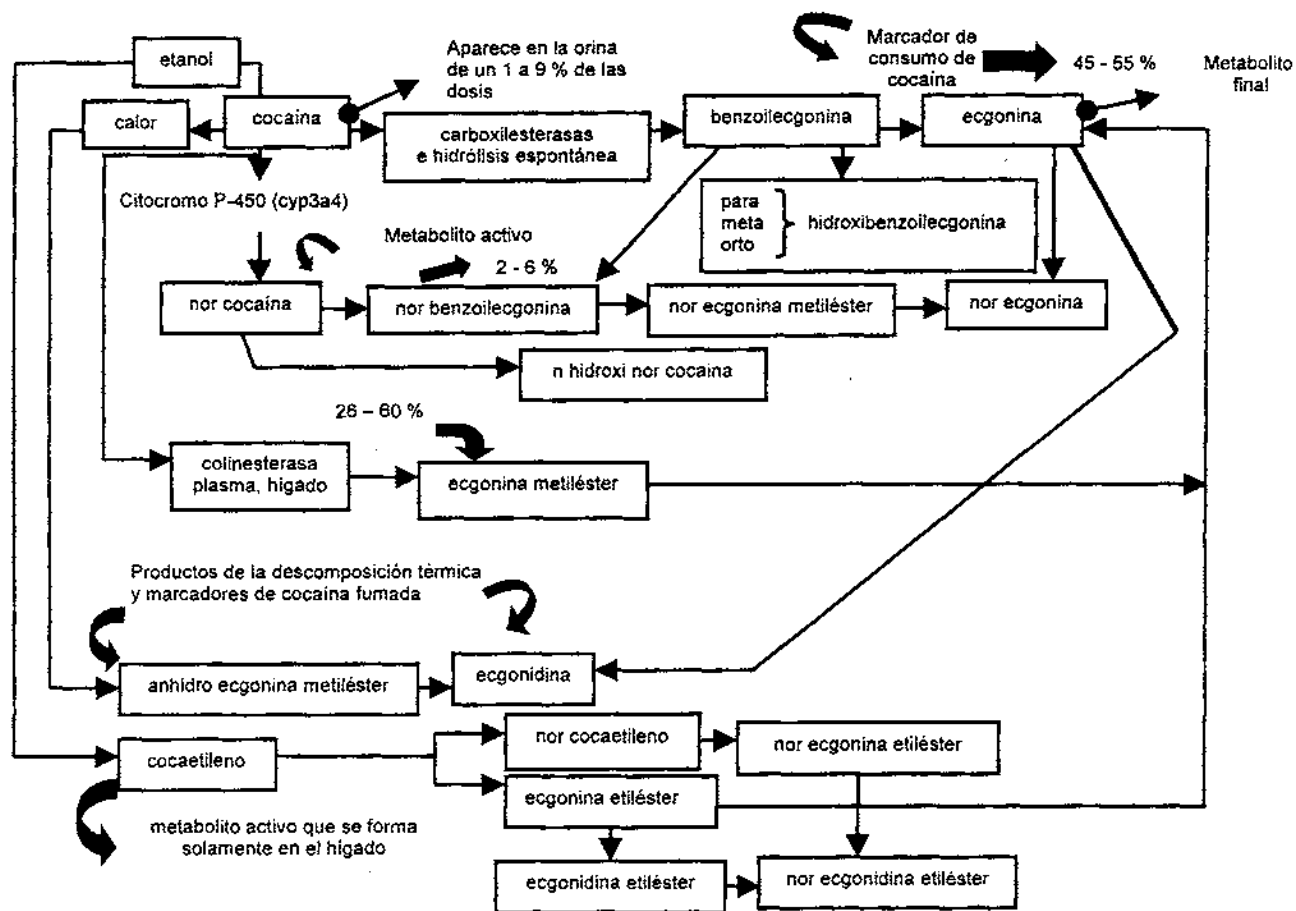


Fig. 1. Rutas metabólicas de la cocaína en humanos.

que el metabolismo continúa hasta la N-OH-NORCOC. La NORCOC es un metabolito farmacológicamente activo que ha estado asociado a la hepatotoxicidad que produce la COC tanto en animales de experimentación como en el hombre, de manera que todas las sustancias que aumenten la actividad de la cit-P-450 incrementan la posibilidad de un evento hepatotóxico asociado con la COC.²⁰

Otro metabolito farmacológicamente activo es el COCET, que se forma por transesterificación de la COC con el etanol. Esta reacción está mediada por una de las dos carboxilesterasas hepáticas microsomaes no específicas, la cual en ausencia de etanol cataliza la hidrólisis de la COC a BE (la otra es la responsable del paso de la COC a EME). Bojack-Mackey y col.²¹ demostraron que las concentraciones de BE son más bajas cuando está presente el COCET, sugiriendo que la misma enzima media en la formación de ambos metabolitos. El COCET se produce solamente en el hígado y tiene un comportamiento farmacológico idéntico al de la COC. Bailey^{22,23} demostró que la formación del COCET también puede ocurrir por acción de

la enzima acilgraso etilestersintasa a partir de los mismos substratos e hizo evidente además, que a pesar de no generarse en el cerebro el COCET tiene su mayor porcentaje de unión a las proteínas en ese tejido. La interacción entre el etanol y la COC ha recibido gran atención en los últimos años, debido a que es una combinación muy frecuente entre los consumidores y drogodependientes y desde un punto de vista toxicológico, presenta matices muy interesantes.²⁴ Las consecuencias de esta combinación ha sido extensamente reportada. Se conoce que se incrementa notablemente el riesgo de daño cardíaco asociado normalmente al consumo de COC y que paralelamente aumenta su hepatotoxicidad e inmunotoxicidad. En este sentido, se ha observado un incremento notable de muertes súbitas en contraste con el uso de COC solamente.^{25,26} Sin embargo, otros reportes sugieren que no está muy clara la contribución del COCET a la hepatotoxicidad producida por la COC, debido a que en algunos estudios clínicos con alcohólicos consumidores de COC no se ha observado esta tendencia.^{27,28}

DIAGNOSTICO DEL CONSUMO DE COCAINA EN HUMANOS

El diagnóstico del consumo de COC en humanos suele realizarse a través de la demostración de la presencia de su principal metabolito BE en muestras de orina. Sin embargo, también puede realizarse mediante la determinación simultánea de la COC y sus principales metabolitos (BE, EME y EG) en dichas muestras. La forma más segura de realizar este diagnóstico es mediante la determinación del perfil metabólico donde inequívocamente se pueda afirmar que hubo un consumo de la droga, a través de la observación de todos los metabolitos presentes en la muestra.

Las concentraciones de las drogas en muestras de orina varían con las dosis, ruta de administración, tiempo desde el último consumo a la toma de las muestras y estado fisiológico del individuo, que repercute en el flujo y el pH de la orina, así como en el metabolismo.³⁰ De manera general, se puede afirmar que no es posible realizar un cálculo retrospectivo de la cantidad de COC consumida, tiempo anterior de consumo y cuadro clínico que pudo estar presente, a través de las concentracio-

nes encontradas en la orina para la COC y sus metabolitos, debido a que dichas concentraciones van a estar influenciadas por factores tales como: tipo de consumo, dosis, frecuencia, vía de administración, forma de presentación de la droga y por las características mismas del individuo (Fig. 2). Como puede apreciarse, las combinaciones pueden ser numerosas e incluyen desde el llamado coqueo (acto de mascar hojas de coca) hasta el consumo crónico en forma fumada de la COC por parte de drogodependientes. De modo que el perfil farmacocinético puede ser diferente dependiendo de estos mismos factores. Así lo demostraron Juffer y col.³¹ en un estudio sobre el perfil plasmático de la COC y sus metabolitos después de la administración crónica de la COC por vía oral. En él concluyeron que dicho perfil puede alterarse por factores tales como la ruta de administración, la frecuencia de uso y por las dosis. En este trabajo no quedó claro cuál de estos factores contribuye a que el comportamiento observado sea sustancialmente diferente al descrito para una administración parente-

ral aguda de esta sustancia. De modo general, las concentraciones plasmáticas que encontraron estos autores fueron más elevadas que las reportadas para una administración parenteral.

Fernández y col.³² en un estudio por cromatografía líquida de alta presión, reportaron las concentraciones de COC y BE en 42 muestras de orina procedentes de intoxicados por dicha droga, las que se encontraron en el intervalo de 22 a 4 140 ng/mL y de 210 a 75 550 ng/mL para la COC y la BE respectivamente. Es importante destacar que estos autores detectaron la droga madre solamente en el 61 % de los casos y no se observó una relación lógica entre las cantidades de BE en los casos con y sin COC, pero en todos ellos, las de BE excedieron las de COC. En este mismo trabajo, se informaron las concentraciones de estos analitos en muestras de orina procedentes de ocho casos de fallecidos relacionados con el abuso de drogas, en cuyas muestras las concentraciones de COC estuvieron entre 1 530 y 33 240 ng/mL y las de BE entre 140 y 198 760 ng/mL, destacándose que la COC solo

fue detectada en el 51 % de los casos. De acuerdo con estos reportes, se evidencia que la COC puede estar ausente en muestras de orina, aun en casos de muerte relacionada con ella y esto es debido en gran parte, a su inestabilidad en muestras biológicas,^{33,34} donde esta se hidroliza a EME y BE y consecuentemente las concentraciones de estos dos metabolitos generalmente exceden los de la droga madre. Estos hallazgos coinciden con los reportes de otros autores,^{35,36} los cuales plantean que estas irregularidades pueden ser debidas a la ya mencionada inestabilidad de ese analito, y a la diferencia entre los tiempos de vida media de esas sustancias (0,5 a 1,5 h para la COC y 5 a 8 h para la BE). Realmente es poco frecuente que las concentraciones de COC excedan las de BE en orina, pero puede darse el caso solamente en situaciones de una dosis masiva o en un estado carencial de colinesterasas encargadas de hidrolizar el alcaloide.³⁷ Es importante destacar que la cinética de eliminación en neonatos difiere a la descrita para adultos. Así lo demostraron Dempsey y col.^{38,39} al estudiar el tiempo de

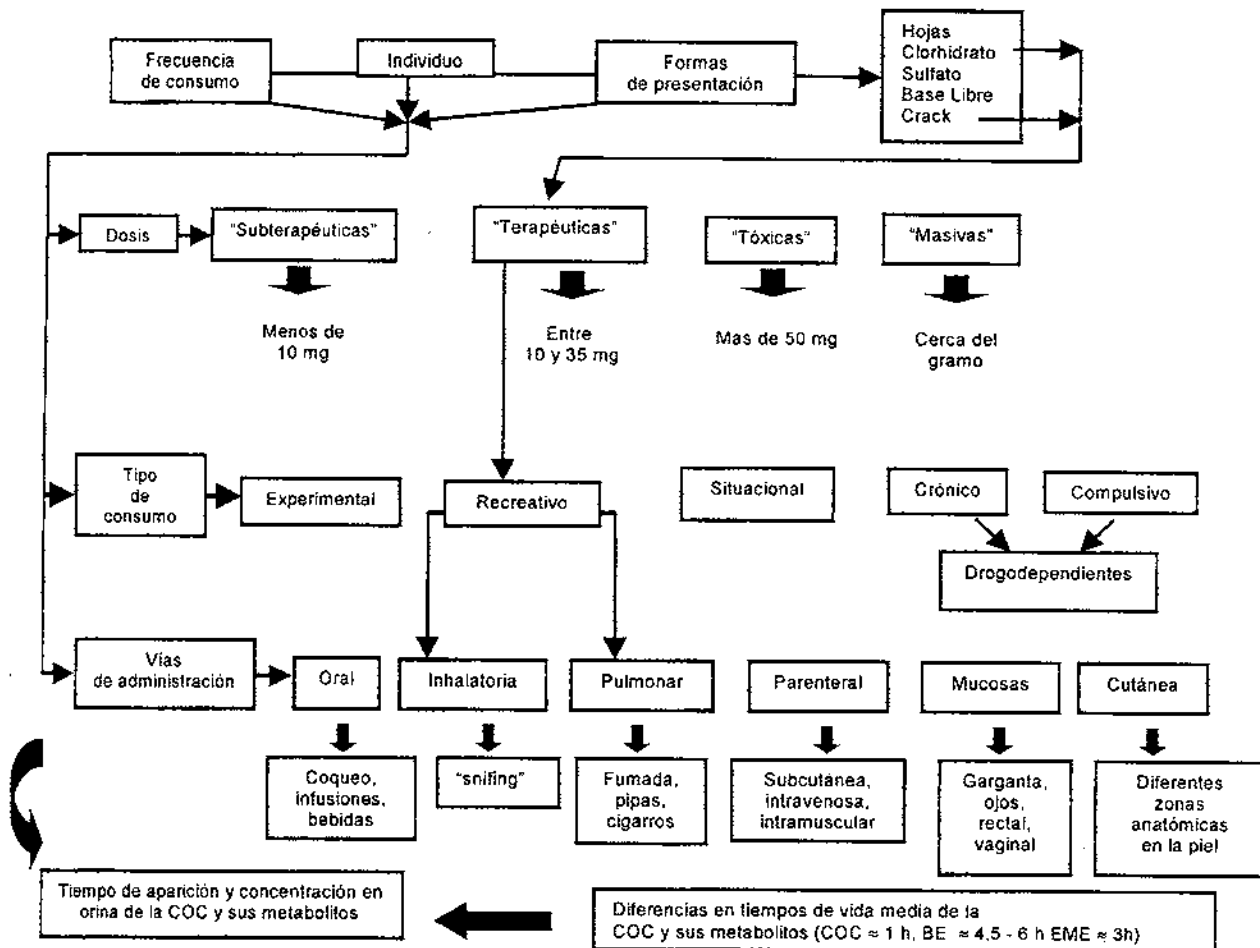


Fig. 2. Factores que influyen en el tiempo de detección de la COC y sus metabolitos en la orina.

vida media de eliminación en orina para la COC y la BE en recién nacidos llegando a la conclusión de que este indicador para la COC fue de alrededor de 20 veces mayor que el reportado para adultos. Esto significa que existe una tendencia de los neonatos a eliminar lentamente la COC, lo que podría aumentar el riesgo de daño cardíaco asociado a esta sustancia. Para la BE resultó de 1,5 a 2,1 veces mayor que lo reportado para los adultos.

Ramcharitar y col.⁴⁰ trabajando con 380 muestras de orina procedentes de autopsias determinaron COC solamente en 69 casos, en un intervalo de concentraciones de 70 a 7 800 ng/mL y en un total de 93 muestras detectaron BE y EME en un intervalo de concentraciones de entre 100 y 386 500 ng/mL y entre 120 y 72 000 ng/mL respectivamente. De manera que hubo un total de 35 muestras negativas a COC, pero positivas a los otros dos metabolitos. Por lo tanto, se detectaron los tres metabolitos en el 66 % de las muestras positivas.

Es importante señalar que las dosis de COC consumidas independientemente de la vía de administración y la forma de presentación, aparecen en la orina principalmente en forma de BE y EME y que la BE tiene un tiempo de vida media ligeramente mayor que el de la EME,^{41,42} pudiera esperarse en la gran mayoría de los casos, concentraciones elevadas de BE comparadas con los otros metabolitos y con la COC misma, sin embargo, estos autores encontraron concentraciones superiores para la EME en el 24 % de los casos, lo cual coincide con lo reportado por Clark y col.,⁴³ quienes procesaron 70 muestras de orina, con un 37 % de casos positivos para la BE y EME y detectaron COC en solo dos muestras.

Oyler y col.⁴⁴ reportaron las concentraciones de COC y 11 de sus metabolitos en 34 muestras de orina pertenecientes a drogodependientes como parte de un programa de rehabilitación. Las concentraciones de COC, BE y EME estuvieron en un intervalo de 0 a 140 400 ng/mL, de 42 700 a 1 183 600 ng/mL y de 410 a 496 600 ng/mL respectivamente. La COC fue detectada en la orina en el 91 % de los casos. Estos autores plantean que es muy probable que dichos drogodependientes consumieran entre 0,2 y 8 g de COC, debido a que en experimentos previos no publicados en los cuales dieron a fumar a cuatro sujetos 42 mg del alcaloide, se obtuvo un valor máximo en orina a las 8 h de 6 000 ng/mL.

Recientemente, Jenkins y Goldberger⁸ reportaron 13 casos de muerte relacionados con la COC en los que las concentraciones de este analito en dichas muestras de orina oscilaron entre 391 y los 129 650 ng/mL. Además, las de BE y EME estuvieron entre 962 y más de 300 000 ng/mL y entre 831 y 126 150 ng/mL respectivamente. Estos autores detectaron COC en todos los casos, reportando además las concentraciones para otros seis metabolitos.

Preston K.L. y col.⁴⁵ trabajando con pacientes bajo tratamiento de rehabilitación, analizaron un total de 2 327 muestras de orina como parte de los controles realizados durante 17 semanas a dichos pacientes. Estos autores encontraron COC solamente en el 36,8 % de los casos (concentraciones entre 36 y 112 025 ng/mL) y BE en el 62,7 % (concentraciones entre valores no detectados y 62 641 ng/mL) Resulta interesante destacar que en el 2,2 % de los casos, las concentraciones de COC fueron mayores o iguales a las de BE, de ma-

nera que la droga madre estuvo por encima de su principal metabolito en el 6 % de todos los casos positivos. De acuerdo con estos resultados, esos autores sugieren que la COC puede tener un tiempo de vida media mayor de 1 h, a no ser que tenga lugar un fenómeno de acumulación del alcaloide en los pacientes crónicos.

A manera de conclusión se puede afirmar que los intervalos correspondientes a concentraciones de COC encontradas en muestras de orina son muy variadas, tanto para casos de intoxicación, como de muerte y se debe destacar que en ambos tipos de muestras se pueden encontrar concentraciones de COC no detectables con las técnicas utilizadas y además, que estos intervalos se superponen, lo que evidencia la dificultad que existe cuando se quieren extrapolar dosis consumidas en función de concentraciones encontradas en orina, bajo el supuesto de que entre el 1 y el 9 % de las dosis, se excreta la droga sin transformar (Fig. 3).

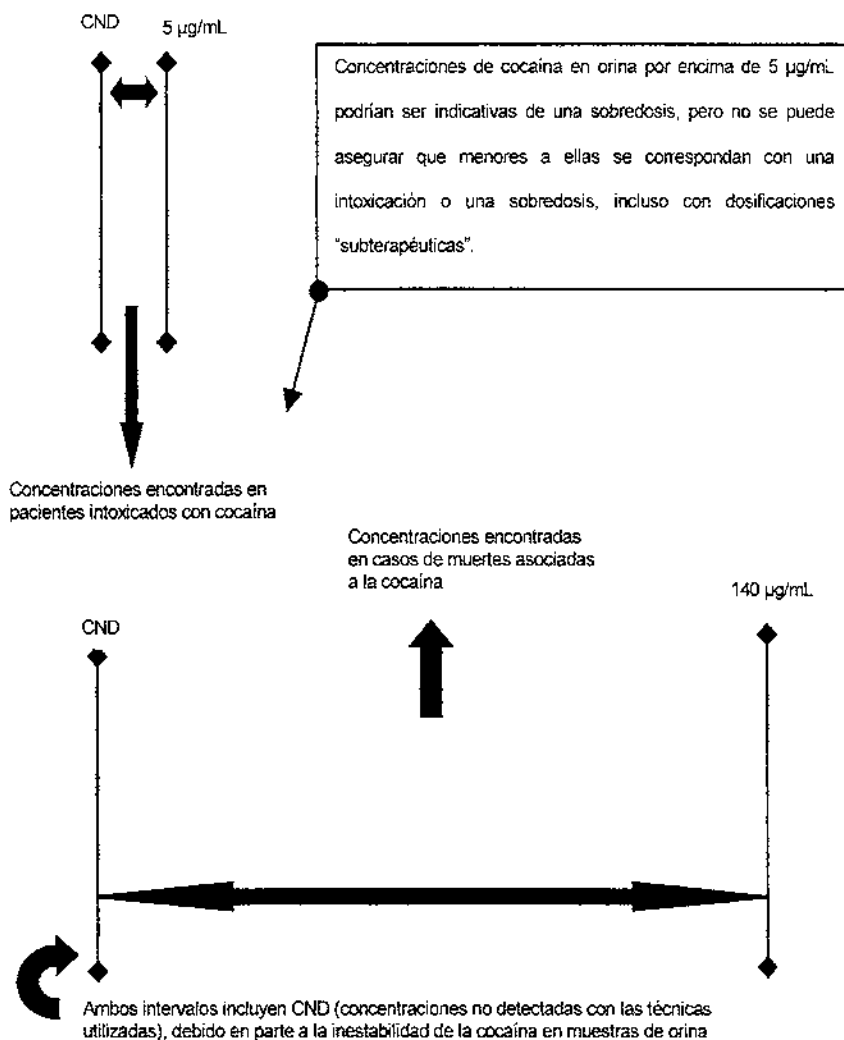


Fig. 3. Concentraciones de cocaína encontradas en muestras de orina.

MUESTRAS UTILES PARA LA INVESTIGACION

La investigación de COC y sus metabolitos puede llevarse a cabo en disímiles muestras biológicas (Fig. 4) y para la mayoría de ellas existen procedimientos detallados con las cantidades recomendadas de acuerdo con los técnicos que para tales fines se han reportado en los últimos años.⁴⁶

Una de las vías más importante de excreción de xenobióticos es la renal, fundamentalmente para compuestos polares, entre los que se pueden encontrar los metabolitos de la mayoría de las drogas de abuso. Uno de las funciones más importantes del metabolismo humano es hacer los compuestos extraños más polares para favorecer la eliminación por esta vía. La orina es la muestra que con mayor frecuencia se envía a los laboratorios clínicos y toxicológicos para rastrear drogas de ese tipo, debido a que como regla general, las concentraciones de estas y sus metabolitos suelen estar entre 100 a 1 000 veces mayores que en el suero.⁴⁷⁻⁴⁹

Todos los aspectos relacionados con la detección de drogas de abuso en los EE.UU., se encuentran en la actualidad muy bien regulados en la Guía final del programa para el control de drogas de abuso en los lugares de trabajo que aparece publicado en el registro federal.⁵⁰ En este documento, que puede resultar válido para cualquier país, se estipula todo lo relacionado con la toma de muestras de orina, la cadena de custodia, la calificación del personal, las concentraciones aceptables a partir de las cuales se puede dar un resultado como positivo (*cut-off*), aspectos relacionados con la validación de las técnicas analíticas, los procedimientos para detectar y confirmar la presencia de dichas drogas y lo concerniente con el necesario control, interno y externo de la calidad. En esta publicación se ratifica que la orina es la muestra que debe ser sometida a la investigación en dichas situaciones y que la cantidad mínima es de al menos 60 mL, de manera que si en la primera colección no se llegara a esta cantidad, se debe

esperar a recoger una segunda para completar dicho volumen. Inmediatamente después (no debe exceder de los 4 min), se le debe medir la temperatura, la que debe estar entre los 32,5 y 37 °C (90,5 a 99,8 °F), además, se debe observar el color y anotar cualquier anomalía presente. Los Grupos de Expertos de Europa para el rastreo de drogas en los lugares de trabajo y el de Bruselas han adoptado medidas similares y son del criterio de que la orina es la muestra idónea para el análisis de drogas de abuso.⁵¹⁻⁵³

La mayoría de los métodos reportados están destinados a la determinación del principal metabolito de la COC o la determinación simultánea de ella y sus principales metabolitos.^{54,55} Recientemente, Panganiban K. y col.⁵⁶ demostraron la utilidad de las determinaciones cuantitativas de la BE para incrementar la eficacia en el tratamiento en programas de rehabilitación de cocaínadependientes.

El plasma, el suero y la sangre total son muestras alternativas para

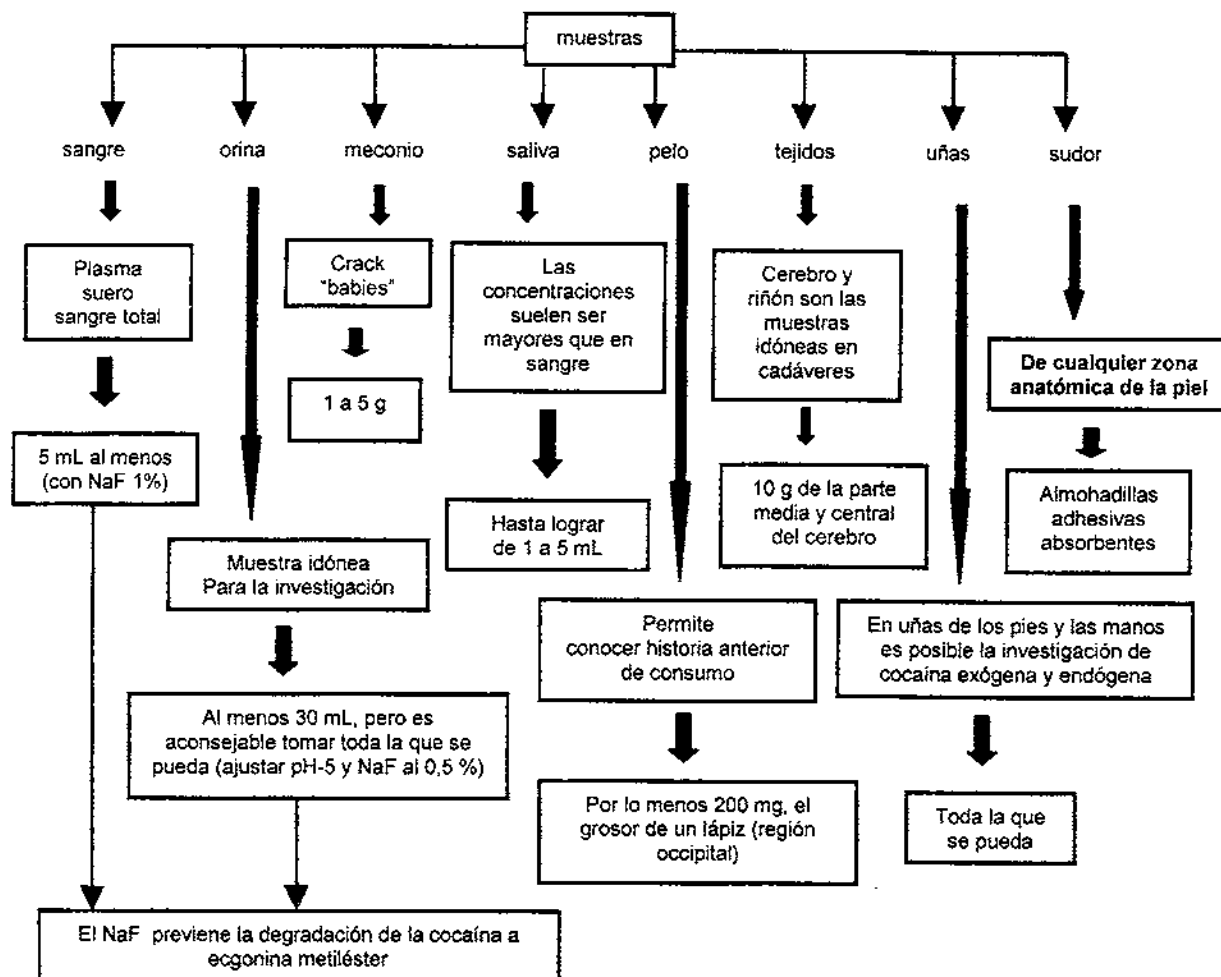


Fig. 4. Resumen de muestras y cantidades útiles para la investigación de cocaína y sus principales metabolitos.

el rastreo de drogas de abuso y de hecho en muchos laboratorios clínicos y forenses se reciben a diario cada vez más muestras de sangre con el objetivo de investigar las concentraciones de determinadas drogas, además, en ocasiones la orina no está disponible en casos de fallecidos, por lo tanto, se hace necesario realizar la investigación en sangre u otro fluido, de manera que se hace imprescindible contar con los protocolos de extracción y análisis de dichas drogas.

Las muestras de sangre deben ser tomadas con fluoruro de sodio 1 % (NaF) como preservativo para evitar las pérdidas de COC durante el almacenamiento y en una cantidad ≥ 5 mL. Además, las condiciones óptimas para el almacenamiento tanto de muestras de sangre como de orina es la congelación (preferiblemente -15 °C) y el pH ≈ 5 .^{57,58}

Generalmente, los protocolos para el aislamiento de drogas utilizando muestras de sangre comprenden de tres pasos fundamentales: preparación de las muestras, aislamiento de los analitos y determinación. El proceso de preparación de las muestras de sangre total es muy importante debido a que entre otras cosas, los eritrocitos y otras células tienden a bloquear las columnas de EFS, lo cual repercute en la reproducibilidad de los recobrados. Se han descrito diferentes métodos para el tratamiento de muestras de sangre antes de las extracciones, entre los cuales se puede citar: tratamiento con metanol, acetona, *N*-dimetilformamida, ácido sulfosalicílico, ácido tricloroacético, sulfato de zinc, etcétera.⁵⁹

Estos métodos de preparación tienen una importancia crucial en el análisis de drogas de abuso, debido también a que generalmente estas se encuentran en concentraciones muy bajas, y se hace necesario garantizar una buena recuperación, aunque dichas concentraciones no sólo dependen de las dosis, sino también, de la vía de administración, la farmacocinética, el peso, la edad, el sexo, los factores genéticos, las enfermedades, la inducción e inhibición enzimática y el primer paso en el metabolismo.⁶⁰

Por otra parte, la determinación de drogas en diferentes tejidos procedentes de cadáveres ha tenido siempre un interés muy especial en Toxicología Forense, asociado con la posibilidad de realizar un diagnóstico preciso de la causa de la muerte. Además, en muchos casos de muer-

te no es posible obtener muestras de orina o de sangre y se hace imprescindible llevar a cabo las determinaciones de drogas en otros especímenes.

Los métodos que generalmente se han utilizado para aislar drogas de vísceras involucran un pretratamiento de los tejidos mediante un procedimiento de precipitación de proteínas o hidrólisis química o enzimática, siendo el tratamiento con proteasas los que han dado los mejores resultados.⁶¹

Estas determinaciones en tejidos son muy importantes, porque para muchas drogas las concentraciones en sangre son dramáticamente sitio-dependientes y aunque la causa de este fenómeno es multifactorial, se ha demostrado que lo que influye, es la difusión de estas drogas desde los órganos sólidos hacia la sangre cercana a ellos, lo que ha venido a llamarse: la redistribución *post-mortem* de las drogas, que dicho sea de paso, ha creado muchas dificultades a la hora de la interpretación de los resultados analíticos.⁶²

Aunque la determinación de COC y sus metabolitos puede llevarse a cabo en todos los órganos, como por ejemplo el hígado, riñón, cerebro, etc., se ha visto que este último es la muestra donde este analito es más estable debido a la presencia de menores concentraciones de colinesterasas capaces de degradar la COC. Spiehler y Reed⁶³ en 1985 fueron los primeros en demostrar que el cerebro es la mejor muestra para determinar COC y BE en un cadáver. Estos autores demostraron que las concentraciones de COC en el cerebro suelen ser cuatro veces mayores que las del plasma, en el momento de máximas concentraciones plasmáticas.

Otro fluido importante es la saliva que ha sido propuesta como una muestra muy útil para la determinación de drogas que pudieran estar en el plasma en estado no ionizado. Las drogas pasan desde el plasma a los diferentes compartimentos, incluyendo las glándulas parótida, submaxilar y sublingual, por difusión pasiva, proceso que está limitado por la disponibilidad de la droga en forma libre, no ionizada y no enlazada a las proteínas y por las propiedades físico-químicas que determinan en última instancia, el ritmo y la extensión en que una droga pasa a este fluido. Existen procedimientos recomendados de muestreo para la saliva que de manera general permiten la colección de este fluido en un tubo

especialmente diseñado para este fin, el cual se conserva en congelación hasta el momento de los análisis.^{64,65}

Las concentraciones de COC en la saliva generalmente son mayores que las del plasma, aunque esto depende del pH de la saliva (a bajos pH será mayor la concentración de COC y por encima de siete será menor). Ahora bien, hay que tener en cuenta que la BE es un zwitterion, que contiene ambos grupos funcionales (ácido y básico, con pKa = 2,25 y 11,2), por lo tanto sus concentraciones no se afectarán considerablemente con las variaciones de pH. Las desventajas que pudiera tener la toma de muestras de saliva, a la hora de querer correlacionar las concentraciones encontradas ella con las del plasma, radican en el pH que posea como ya se refirió y en los posibles restos de drogas en la cavidad bucal o nasal, que elevan las concentraciones en ella. Así lo demostraron Sharamm y col.⁶⁶ quienes detectaron COC y BE en saliva 16 h después de fumada e inhalada dicha droga, encontrando que las concentraciones de estos analitos en aquella fueron mayores que las del plasma y la orina y concluyendo por lo tanto que esta muestra es muy útil para estas determinaciones.

El pelo ha sido propuesto como una muestra alternativa muy útil para demostrar la presencia de algunas drogas, generalmente asociado a un consumo crónico, debido a que como es lógico el nivel de exposición incrementa la probabilidad de eliminación por esta vía. El mecanismo mediante el cual una droga se incorpora al cabello no está completamente esclarecido, sin embargo, se han propuesto diferentes modelos para explicar este fenómeno, uno de los cuales plantea que una droga puede incorporarse por diferentes vías tales como la difusión desde el torrente sanguíneo a la base del folículo piloso durante la formación del cabello, difusión a través de diferentes secreciones y por contaminación externa. Existen tres factores que influyen en la incorporación de una droga al cabello: afinidad por la melanina, lipofilidad y basicidad. Drogas liposolubles y de carácter básico tendrán mayor probabilidad de incorporarse al pelo, así como en cabellos pigmentados se favorecerá este proceso.^{67,68} La determinación de drogas en pelo puede brindar información acerca de la historia de consumo anterior en un período de semanas, meses o años dependiendo

lógicamente de la longitud del cabello. Teniendo en cuenta que el cabello puede crecer como promedio a razón de 1 a 1,5 cm por mes, es posible hacer un cálculo aproximado del período que lleva expuesto un individuo a una determinada droga.^{69,70}

Existen métodos recomendados para el muestreo, preparación y análisis de muestras de pelo relacionadas con el análisis de drogas de abuso.^{71,72} De manera general, se recomienda tomar las muestras de pelo de la región occipital, lo más próximo posible al cuero cabelludo y en una cantidad aproximada de 200 mg. Estas muestras deben ser guardadas en papel de aluminio y pueden conservarse a temperatura ambiente en un lugar seco. Todas las muestras de pelo deben ser sometidas a un procedimiento de descontaminación antes de proceder a los análisis, con el objetivo de remover la contaminación externa. Después de este proceso de lavado, se deben secar y cortar en pequeños pedacitos para finalmente someterlas a un procedimiento de hidrólisis con el objetivo de romper los enlaces de la sustancia de interés con las proteínas y finalmente, el sobrenadante se somete a un procedimiento de extracción.

Aunque se conoce que las uñas han sido objeto de análisis de metales pesados, la determinación de drogas de abuso en estas muestras es relativamente reciente.⁷³ Existen pocos reportes de determinación de COC y sus metabolitos en muestras de uñas, sin embargo, estos análisis son muy útiles cuando se pretende demostrar la manipulación reciente de esta droga, aunque está demostrado que efectivamente las drogas se incorporan al interior de esta matriz.

El sudor es una secreción normal en todos los humanos y su función está relacionada con el control de la temperatura corporal, protección inmunológica e hidratación de la piel entre otras. Las muestras de sudor se toman con almohadillas adhesivas absorbentes (AAA) especialmente diseñadas para este fin, en las cuales se acumula el sudor. El agua contenida en el sudor se volatiliza por el calor corporal y pasa a través de la capa adhesiva de poliuretano que cubre dicha almohadilla. Estas AAA pueden ser colocadas en una región determinada del cuerpo durante varios días (entre 3 y 10 d), y transcurrido este tiempo, se realiza un proceso de elución generalmente con una disolución estabilizadora disuel-

ta en metanol. El eluato resultante se somete a las técnicas analíticas mencionadas anteriormente. El paso crítico en estas determinaciones es el procedimiento de muestreo que se use.

Aunque se han reportado muy pocos estudios relacionados con la determinación de COC y sus metabolitos en muestras de sudor, el progreso en las técnicas de muestreo y detección posibilitarán el incremento de las investigaciones en este campo. Existen dispositivos especialmente diseñados y comercializados para la toma de muestras de sudor, así como métodos recomendados para el muestreo y posterior elución, con el objetivo de determinar drogas de abuso que se excretan por esta vía.⁷⁴

El consumo de COC durante el embarazo se ha convertido en un problema de salud en los últimos años en varios países fundamentalmente en los EE.UU. donde cada año nacen más de 100 000 niños que durante el embarazo de sus madres han estado expuestos a la COC. Las complicaciones neonatales asociadas al uso de COC durante el embarazo son muy variadas e incluyen retardo en el crecimiento, malformaciones congénitas y muerte súbita, entre otras complicaciones.⁷⁵ La terminología *crack babies* que se refiere fundamentalmente a los niños que durante el embarazo de sus madres estuvieron expuestos a la COC, ya se ha generalizado y muchas veces se refiere a los niños que han estado expuesto a través de sus madres a cualquier droga de abuso.⁷⁶

De aquí, se pudiera deducir que otra muestra importante es el meconio, la cual ha sido utilizada en los últimos años como una muestra alternativa con ventajas apreciables para analizar drogas en recién nacidos, donde la orina y la sangre no son suficientes y además difícil, de obtener en los primeros momentos del nacimiento.^{77,78} Generalmente, se recomienda tomar todo el meconio y guardarlo en congelación y trabajar posteriormente con porciones de muestras de 1 a 5 g.

Bojack y col.²¹ recientemente demostraron que el humor vítreo puede ser utilizado para la determinación cuantitativa de COC y sus metabolitos, sin embargo, en 62 casos no correlacionaron muy bien con las concentraciones calculadas en sangre, de todos modos, el humor vítreo puede ser muy útil para el diagnóstico en los casos en que no esté disponible dicha muestra.

CONCLUSIONES

El diagnóstico del consumo de COC en humanos puede realizarse mediante el análisis de sus principales metabolitos en diferentes circunstancias y en disímiles muestras, como por ejemplo, en sangre, orina, pelos, sudor, saliva, humor vítreo y meconio, aunque la orina está considerada como la muestra idónea para realizar este diagnóstico. De acuerdo con la experiencia de los autores la mejor forma de realizar el diagnóstico del consumo de COC en humanos es a través de la determinación simultánea de la COC y sus principales metabolitos en muestras de orina, aunque estos análisis también podrían ser realizados en otras muestras como se ha demostrado en esta revisión. Existen varios factores que influyen en la intensidad y duración de los efectos de la COC en humanos, entre los cuales los más importantes son la dosis, la frecuencia y la vía de administración. Además, estos factores influyen en las concentraciones y en el tiempo de detección de la COC en orina. A través de las concentraciones encontradas para la COC y sus principales metabolitos en muestras de orina no es posible hacer una extrapolación acerca de las dosis, efectos que se manifestaron, y tiempo en que fue consumida, a no ser que ellas sean tan elevadas que podría atribuirse a una sobredosis. De manera que cualquier intento de realización de estos cálculos no tienen un basamento científico adecuado.

BIBLIOGRAFIA

1. Stingo R.N., Zazzi M.C., Gatti C.L., Curci O. y Tortora G. El impacto social de la drogadicción. Repercusión a nivel médico Legal. Premio José Beldey de la asociación Médica Argentina, 1995.
2. Sánchez B.J.F., Farrás F.I., Cruz R.H., Valera L.B., Herrera T.H., Iglesias G.M., Yanes G.J., Bravo G.L. Determinación simultánea de cocaína y sus principales metabolitos en orina por Cromatografía Gaseosa con detector de nitrógeno-fósforo. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 31, 83, 2000.
3. Renzo A.A. Coca, cocaína: su historia, producción y consumo. *Rev. Prev. Salud Soc.*, 3, 4, 1990.
4. Pérez A.G. Cocaína, surgimiento y evolución de un mito. Ed. Catálogo Científico, Colombia. 1-40, 1987.
5. UNITED NATIONS. Single Convention on Narcotic Drugs, 1961, as amended by the 1972. Protocol Amending the Single convention on Narcotic Drugs, United Nations, 1961.
6. Schlesinger H.L. Notas sobre la química de la cocaína. *Boletín de estupeficientes. Naciones Unidas*, 37, 65, 1985.

7. United Nations. Recommended methods for testing cocaine. ST/NAR/7. New York, 1986.
8. Jenkins A.J. and Goldberger B.A. Identification of unique cocaine metabolites and smoking by-products in post-mortem blood and urine specimens. *J. Forensic Sci.*, **42**, 824, 1997.
9. Buddha D.P., McWhorler L.K. and Smith M.L. Detection of urinary ecgonidine as an indicator of active smoking of cocaine. TIAFT annual meeting. Thursday, October 8, 1998.
10. Lewis D., Moore C., Becker J., and Leikin J. Prevalence of meta-hydroxybenzoylecgonine (M-OH-BZE) in meconium samples. Proceedings of the 1994 Joint TIAFT/SOFT International meeting. October 31-Nov-4, Tampa, Florida. 513-518, 1994.
11. Cone E.J. and Darwin W.D. Review. Rapid assay of cocaine, opiates and metabolites by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.*, **580**, 43, 1992.
12. Zhang J.Y. And Foltz R.L. Cocaine metabolism in man: identification of four previously unreported cocaine metabolites in human urine. *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 201, 1990.
13. Cone E.J. Tsadik A. Oyler J. Darwin W.D. Cocaine metabolism and urinary excretion after different routes of administration. *Ther Drug Monit.*, **20**, 556, 1998.
14. Karlix J. and Bertholf R.L. Detection of cocaine and its metabolites in amniotic fluid and umbilical cord tissue. *J. Anal. Toxicol.*, **21**, 97, 1997.
15. Isenschmid S.D., Fischman M.W., Foltin R.W., Caplan Y.H. Concentration of cocaine and metabolites in plasma of humans following intravenous administration and smoking of cocaine. *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 311, 1992.
16. Sukbuntherng J., Martin D.K., Pak Y. and Mayersahn M. Characterization of the properties of cocaine in blood: blood clearance, blood to plasma ratio, and plasma protein binding. *J. Pharm. Sci.*, **85**, 567, 1996.
17. Baelt W.R. Stability of cocaine in biological fluids. *J. Chromatogr.*, **13**, 250, 1983.
18. Isenschmid D.S., Levine B.S. and Caplan Y.H. The role of ecgonina methylester in the interpretation of cocaine concentrations in postmortem blood. *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 319, 1992.
19. Logan B.K. and Peterson K.L. The origin and significance of ecgonine methyl ester in blood samples. Letter to the editor. *J. Anal. Toxicol.*, **18**, 124, 1994.
20. Stephen M.R., Harbinson R.D. and James R.C. Human microsomal N-oxidative metabolism of cocaine. *Drug Met. Disp.*, **19**, 1046, 1991.
21. Bojack-Mackey S., Kloss J., Apple F. Cocaine, cocaine metabolite and ethanol concentration in postmortem blood and vitreous humor. *J. Anal. Toxicol.*, **24**, 59, 2000.
22. Bailey D.N. Studies of cocaethylene (ethylcocaine) formation by human tissues *in vitro*. *J. Anal. Toxicol.*, **18**, 13, 1994.
23. Bailey D.N. Cocaine and cocaethylene binding to human tissues: a preliminary study. *Ther Drug. Monit.*, **18**, 280, 1995.
24. Giroud C., Colassis T., Rivier L., and Ottinger E. Cocaine et alcool: un cocktail explosif. *Schweiz-Rundsch-Med-Prax*, **82**, 441, 1993.
25. Hear W.L., Rose S., Wagner J. Cocaethylene is more potent than cocaine in mediating lethality. *Pharmacol Biochem. Behav.*, **39**, 531, 1991.
26. Pirozhkov S.V., Watson R.R., Chen G.J. Ethanol immunosuppression induced by cocaine. *Alcohol Alcohol Suppl.*, **2**, 75, 1993.
27. Worner T.M. Hepatotoxicity is not increased in alcoholics with positive urinary cocaine metabolites. *Drug Alcohol Depend.*, **35**, 191, 1994.
28. Henning R.J., Wilson L.D. Cocaethylene is a cardiotoxic as cocaine but less toxic than cocaine plus ethanol. *Life Sci.*, **59**, 615, 1996.
29. Cami J. Farré M., González M.L., Segura J. and De la Torre R. Cocaine Metabolism in humans after use of alcohol. Clinical and research implications. Recent Developments in Alcoholism, Vol. 14: The Consequences of Alcoholism, Edited by Galanter. Plenum Press, New York, 1998.
30. Goerlach-Graw A., Carstensen C.A. and Schaeffer J. Rapid screening test for the detection of drugs of abuse in urine. Proceedings of the 1994 Joint TIAFT/SOFT International meeting. Tampa, Florida. Edited by Vina Spiehler, Newport Beach, CA, 417, 1994.
31. Jufer A.R., Walsh S.L. and Cone E.J. Cocaine and metabolite concentrations in plasma during repeated oral administration: Development of a human laboratory model of chronic cocaine use. *J. Anal. Toxicol.*, **22**, 435, 1998.
32. Fernández P., La Fuente N., Bermejo A.M., López-Rivadulla M. and Cruz A. HPLC determination of cocaine and benzoylecgonine in plasma and urine from abusers. *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 224, 1996.
33. Liu Y., Budd R.D. and Griesemer E.C. Study of the stability of cocaine and benzoylecgonine its major metabolite, in blood samples. *J. Chromatogr.*, **248**, 318, 1982.
34. Baselt R.C. Stability of cocaine in biological fluids. *J. Chromatogr.*, **268**, 502, 1983.
35. Jatlow P.I. Drug of abuse profile: cocaine. *Clin. Chem.*, **33**, 66B, 1987.
36. Chaw M.J., Ambre J.J., Ruo T.I., Atkinson A.J., Bowsher D.J. and Fischman M.W. Kinetics of cocaine distribution, elimination and chronotropic effects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 318, 1985.
37. Hearn W.L., Koran E.E., Wei H. and Hine G. Site-dependent postmortem changes in blood cocaine concentrations. *J. Forensic Sci.*, **36**, 673, 1991.
38. Dempsey D.A., Jacob P., Partridge J.C., Jones R.T., Panganiban K. And Rawbotham C. Cocaine metabolite kinetics in the newborn. *J. Anal. Toxicol.*, **23**, 24, 1999.
39. Dempsey D.A., Partridge R.T., Jones R.T. Cocaine, nicotine, caffeine and metabolite plasma concentrations in neonates. *J. Anal. Toxicol.*, **22**, 220, 1998.
40. Ramcharitar V., Levine B. and Smialek J.E. Benzoylecgonine and ecgonine methyl ester concentrations in urine specimens. *J. Forensic Sci.*, **40**, 99, 1995.
41. Jeffcoat A.R., Perez Reyes M., Hill J.M., Sadler B.M. and Cook C.E. Cocaine disposition in humans after intravenous injection, nasal insufflations (snorting) or smoking. *Drug Metab. Disp.*, **17**, 153, 1989.
42. Ambre J., Ruo T.I., Nelson J. and Belknap S. Urinary excretion of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in humans. *J. Anal. Toxicol.*, **12**, 301, 1988.
43. Clark D.R. and Hajar T.M. Detection and confirmation of cocaine use by chromatographic analysis for methylecgonine in urine. *Clin. Chem.*, **33**, 118, 1987.
44. Oyler J., Darwin W.D., Preston K.L., Suess P. and Cone E.J. Cocaine disposition in meconium from newborns of cocaine-abusing mothers and urine of adult drug users. *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 453, 1996.
45. Preston K.L., Goldberger B.A. and Cone E.J. Occurrence of cocaine in urine of substance-abuse treatment patients. *J. Anal. Toxicol.*, **22**, 580, 1998.
46. Sánchez B.J.F. Determinación simultánea de cocaína y sus metabolitos en muestras biológicas por Cromatografía de Gases. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, **31**, 67, 2000.
47. Verebey K. Laboratory methodology for drug and alcohol addiction. Comprehensive handbook of drug and alcohol addiction. Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 809-824, 1991.
48. Puchades Q.A., Magallon I.E., Del Baño M.J.P., Cañigal B.F.J., Noguera, S.B. Evaluación de los controles de orina de centros asistenciales y rehabilitación del programa municipal de drogodependencias. *Rev. Esp. Drogodep.*, **19**, 245 1994.
49. Penton Z. Sample preparation for gas chromatography with Solid Phase Extraction and Solid Phase Microextraction. *Adv. Chrom.*, **37**, 205 1996.
50. Department of Health and Human Service. Mandatory Guideline for Federal workplace drug testing programs. Federal Register. Vol. 53 No. 69. Monday, April 11, 1170-1189, 1988.
51. European Workplace drug testing group. (EWDGTG). *Bulletin of TIAFT*, **28**, 3, 1998.
52. Recommendations for the reliable detection of illicit drugs in urine in the European Union, with special attention to the workplace. *Bulletin of TIAFT*, **27**, 14, 1997.

53. United Nation International Drug Control Programme. Recommended methods for the detection and assay of heroin, cannabinoids, cocaine, amphetamine, methamphetamines and ring-substituted amphetamines derivatives in biological specimens, ST/NAR/27, Ed United Nation, New York, 5-14, 1995.
54. Soriano C., Guerra J.M., Carreras D., Rodríguez C., Rodríguez A.F and Cortes R. Automated análisis of drugs in urine. *J. Chromatogr. B.*, **687**, 183, 1996.
55. Fernández P., La Fuente N., Bermejo A.M., López-rivadula M. And Cruz A. HPLC determination of cocaine and benzoylecgonine in plasma and urine from abusers. *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 224, 1996.
56. Panganiban K., Jacob P., Everhart E.T., Tisdale C.E., Batki S.L., Mendelson J.E. and Jones R.T. Sulfonium Salts as derivatizing agents. 3. Quantitation of cocaine metabolite benzoylecgonine in urine using Gas Chromatography Ion-Pair Extration/on-column alkylation. *J. Anal. Toxicol.*, **23**, 581, 1999.
57. Hippenstiel M.J., and Gerson B. Optimization of storage conditions for cocaine and benzoylecgonine in urine. A review. *J. Anal. Toxicol.*, **18**, 104, 1994.
58. Moniya F. and Hashimoto Y. Postmortem Stability of Cocaine and Cocaehtylene in Blood and Tissues of Humans and Rabbits. *J. Forensic Sci.*, **41**, 612, 1996.
59. Lillsunde P., Michelson L., Forsström T., Korte T., Shultz E., et al. Comprehensive drug screening in blood for detecting abuse drugs or drugs potentially hazardous for traffic safety. *Forensic Sci. Int.*, **77**, 191, 1996.
60. Lillsunde P. Drugs and driving, analytical and epidemiological aspects. Publications of the National Public Health. Institute. Academic Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy. KTL.A3/p.29, Helsinki, 1996.
61. Shankar V., Damodaran C and Sekharan C.P. Comparative evaluation of some enzymic digestion procedures in the release of basic drugs from tissue. *J. Anal. Toxicol.*, **11**, 164, 1987.
62. Pounder D.J. and Jones G.R. Post-mortem drug redistribution- A toxicological nightmare. *Forensic Sci. Int.*, **45**, 253, 1990.
63. Spiehlner V.R. and Reed D.B.S. Brain concentrations of cocaine and benzoylecgonine in fatal cases. *J. Forensic Si.*, **30**, 1003, 1985.
64. United Nations International Drug Control Programme. Guidelines for testing drugs under international control in Hair, sweat and saliva. United Nations, ST/NAR/30/Rev.1, New York, pp. 15-18, 1998.
65. Saliva Sampler, The official saliva website <http://www.salivanet.com>, 1998.
66. Schramm W., Smith R.H., Craig P.A. and Kidwell D.A. Drugs of abuse in saliva: A review. *J. Anal Toxicol.*, **16**, 1, 1992.
67. Henderson G.L. Mechanisms of drug incorporation in hair. *Forensic Sci. Int.*, **63**, 19, 1993.
68. Nakahara Y., Takahashi K., and Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse. X. Effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair. *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1223, 1995.
69. United Nations International Drug Control Programme. Guidelines for testing drugs under international control in Hair, sweat and saliva. United Nations, ST/NAR/30/Rev.1, New York, 4-11, 1998.
70. Joseph R.E., Su T.P. and Conc E.J. *In vitro* binding studies of drugs to hair: influence of melanin and lipids on cocaine binding to caucasoid and africanoid hair. *Anal. Toxicol.*, **20**, 338, 1996.
71. Segura J., Stramesi C., Rendón A., Ventura M., Sánchez C.J., González G., San L., Montagna M. Immunological screening on drugs of abuse and gas chromatographic-mass spectrometric confirmation of opiates and cocaine in hair. *J. Chromatogr. B.*, **724**, 9, 1999.
72. Clauwaet K.M., Van Bocxlaer J.F., Lambert W.E., De Leenheer A.P. Segmental analysis for cocaine and metabolites by HPLC in hair of suspected drug overdoses cases. *Forensic Sci. Int.*, **110**, 157, 2000.
73. Suzuki O., Hattori H. and Asako M. Nail as useful materials for detection of methamphetamines or amphetamine abuse. *Forensic Sci. Int.*, **24**, 9, 1984.
74. United Nations International Drug Control Programme. Guidelines for testing drugs under international control in Hair, sweat and saliva. United Nations, ST/NAR/30/Rev.1, New York, pp.12-14, 1998.
75. Guiellet A.F., Breunec J.Y., Baert A., Javaudin L., Chevrant-Breton O., et al. *Cocaine et Grossesse: revue Littéraire. J. Pharm. Clin.*, **14**, 299, 1995.
76. Litt J. and Mcneil M. "crack babies" and the politics of reproduction and nurturance. *Troubling children, studies of children and social problem.* Ed ALDINE DE GRUYTER, New York, 93-113, 1994.
77. ElSohly M.A., Stanford D. F., Morphy T.P., Lester B.M., Wright L.L. Smeriglio V.L., et al. Immunoassay and procedures for the analysis of drugs abuse in meconium. *J. Anal. Toxicol.*, **23**, 436, 1999.
78. ElSohly M.A., Kopycki W., Freng S. And Murphy T.P. Identification and analysis of the major metabolites of cocaine in meconium. *J. Anal. Toxicol.*, **23**, 446, 1999.

**NUEVO
PRODUCTO
PARA RECUBRIR
SUS SEMILLAS**

ECOMIC

Especialmente indicado para:
arroz, algodón, cafeto, frutales, hortalizas,
frijol, maíz, cítricos, pastos, girasol, soya,
flores, maní y sorgo.

EcoMic es un inoculante sólido que funciona como un biofertilizante y contiene propágulos de hongos micorrizógenos con un elevado grado de pureza y estabilidad biológica. Se emplea para elevar la población de una o más especies microbianas en el suelo, favoreciendo el crecimiento de las plantas.

Es producido por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba y ha sido evaluado con éxito, así como también, comercializado en Colombia, Bolivia y México.

COMERCIAL MERCADU S.A.

Calle 13 y 8, No. 915, Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana.

Fax: (53)(7) 55 3784 y 33 302. Correo electrónico: agencia@mercadu.get.cma.net