

Detección mediante enzimoinmunoensayo del consumo de Cannabis en una población joven

PEDRO PLANS RUBIO (1)
JOSEP VAQUÉ RAFART (1)
LLUÍS SALLERAS SANMARTÍ (2)

RESUMEN

El consumo de derivados del cannabis puede estudiarse mediante encuestas socioepidemiológicas o bien mediante estudios objetivos de cribaje. Hoy en día existen métodos analíticos muy fiables para la práctica del cribaje de drogas en orina de forma rutinaria. Mediante la técnica de enzimoensayo homogéneo se ha analizado la orina de 3.236 individuos jóvenes, de 20 a 30 años, de nivel social y cultural medio, hallándose la presencia de metabolitos del Cannabis en 233 (7'2%). La prevalencia diaria del consumo fue descendiendo durante los días del estudio. Los resultados de los estudios de cribaje son de difícil comparación con los obtenidos mediante encuestas sociológicas, por el componente subjetivo que se encuentra en éstas, la gran variación respecto a los tiempos y consumos investigados y las disparidades ya de por sí existentes en la estructura de las poblaciones estudiadas.

SUMMARY

The consumption of cannabis derivatives can be studied by socioepidemiological studies or by objective screening studies. Nowadays, highly reliable analytic methods are available for the routine screening of drugs in urine. Using the technique of homogenous enzymeimmunoassay, the urine of 3.236 young people (aged 20-30 years with average social and cultural background) was analysed and cannabis metabolites were found in 233 (7'2%). The daily consumption prevalence decreased as the study progressed. It is difficult to compare the results of the screening studies with those obtained from the sociological surveys, due to the subjective element that the latter contain, the considerable variation in the times and consumptions studied and the disparities existing per se in the populations studied.

PALABRAS CLAVE: Cannabis, prevalencia de consumo, enzimoensayo, cribaje.

(1) Servicio de Medicina Preventiva, Ciutat Sanitària Vall d'Hebron, Barcelona.

(2) Servicio de Promoción de la Salud, Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya, Barcelona.

Introducción

El consumo de derivados de la planta *cannabis sativa* (hachís, marihuana) constituye hoy día, en nuestra sociedad, una preocupación creciente, tanto sanitaria como social. En España se consume la preparación de origen marroquí, que está constituida, además de por la resina de la planta, o hachís, por partes de la planta molida o triturada. Para tener un conocimiento estimado de la prevalencia del consumo se pueden realizar encuestas socioepidemiológicas, y para lograr la detección objetiva de consumidores se pueden realizar pruebas analíticas.

En una encuesta socioepidemiológica realizada en Cataluña, en 1982, para evaluar el nivel de consumo de diversas drogas, se estimó que habían consumido derivados del cannabis un 24'8% de la población comprendida entre los 16 y 25 años, un 4'7% de la población general y un 3% de la población entre los 12 y 15 años (1).

Los niveles de consumo encontrados mediante técnicas analíticas poseen una gran validez y fiabilidad, y permiten tener un conocimiento más real del consumo que el estimado mediante encuestas de percepción. En el presente trabajo se dan a conocer los resultados obtenidos mediante la práctica de una prueba analítica de enzimoimmunoensayo en 3.236 individuos jóvenes.

Bases fisiológicas para la detección del consumo de cannabis

Los derivados del cannabis son consumidos por vía digestiva, o por vía respiratoria inhalando el humo procedente de la combustión de la resina, consiguiendo de esta manera una mayor absorción de sustancias psicoactivas y, por lo tanto, superiores efectos.

La concentración plasmática del ácido Δ^9 tetrahidrocannabinol (THC), que es el principal componente psicoactivo de la marihuana y del hachís, alcanza niveles máximos poco después de fumar la sustancia, descendiendo hasta un 10% de la concentración máxima en una hora. La vida media del

THC es de 18 horas, esto es, en 18 horas el 50% del THC desaparece del suero (2), como consecuencia del paso de esta sustancia muy lipofílica a los tejidos ricos en grasas, de los que se elimina lentamente.

La metabolización del THC conduce a la formación de 11-OH-THC y 9-carboxi-THC. El 9-carboxi-THC es un metabolito no activo, pero el 11-OH-THC (11-hidroxi- Δ^9 -THC) tiene propiedades psicoactivas similares a las del THC (3).

La eliminación de los metabolitos de la droga se realiza principalmente por las heces, y en mucha menor cantidad por la orina. Los metabolitos urinarios que pueden encontrarse son el 9-carboxi-THC y en menor cantidad otros 20 metabolitos. Estos metabolitos alcanzan concentraciones detectables (> 20 ng/ml.) en el plazo de una hora desde la inhalación de la droga. En los individuos que fuman marihuana con poca frecuencia, estos niveles dejan de ser detectables de 2 a 5 días después del último consumo (4). En fumadores crónicos el THC se almacena en el tejido adiposo volviendo lentamente a la sangre, de lo que resulta una mayor persistencia de metabolitos en el plasma y en la orina. En fumadores crónicos importantes se detectan metabolitos en la orina hasta 4 semanas después del último consumo de marihuana, mediante la técnica EMIT de detección de drogas (5).

La cantidad de metabolitos que se detecta en la orina depende de muchos factores, entre los que cabe destacar: cantidad de líquido ingerido previamente, cantidad de THC absorbido, consumo crónico, tasa de liberación de metabolitos desde el tejido adiposo y tiempo transcurrido desde el consumo de marihuana y la recogida de orina.

Material y método

Determinaciones analíticas

Los métodos utilizados para la detección de derivados del cannabis en la orina son: enzimoimmunoensayo homogéneo, radioinmu-

TABLA 1

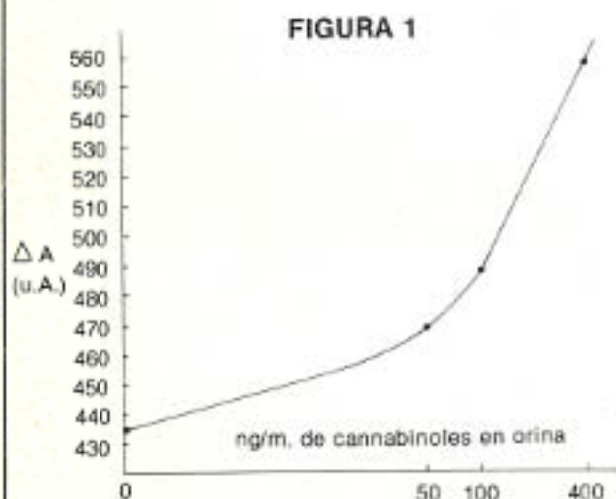
Técnica	Muestra	Sustancias detectadas	Nivel detectado (ng/ml)
Enzimoimmunoensayo homogéneo (EMIT)			
EMIT st	orina	cannabinoides	100
EMIT dau	orina	cannabinoides	20-50
Radioinmunoensayo	sangre/orina	cannabinoides	100
Cromatografía de gases	sangre/orina	9-carboxi-THC	5
Cromatografía en capa fina	orina	9-carboxi-THC	50

Características de las distintas técnicas de detección del consumo de cannabis. La técnica empleada por nosotros ha sido el enzimoimmunoensayo homogéneo EMIT dau.

noensayo, cromatografía de gases y cromatografía en capa fina, cuyas características se indican en la Tabla 1.

El método empleado en nuestro estudio ha sido el enzoinmunoensayo homogéneo EMIT dau (6). Se trata de una prueba semicuantitativa inmunoquímica que permite detectar 9-carboxi-THC y otros metabolitos de estructura similar en la orina. En un primer paso de la prueba los cannabinoles contenidos en la muestra de orina se unen con anticuerpos específicos, a la vez que se añade a la solución coenzima nicotinadenin dinucleótido (NAD) y sustrato de enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH). En un segundo paso, se añaden cannabinoles unidos con el enzima G6PDH, que se inactivan al unirse con los anticuerpos que han quedado libres. El enzima que ha quedado libre permanece activo en la solución y transforma, en presencia de sustrato, el NAD en NADH. Como resultado se produce un incremento de absorbencia que se registra espectrofotométricamente. El incremento de absorbencia (ΔA) se relaciona directamente con la concentración de droga en la muestra de orina. Si se conoce el incremento de absorbencia producido por distintas muestras con concentraciones de droga conocidas, se puede averiguar la concentración de droga en una muestra problema. Nosotros hemos utilizado muestras patrón (calibradores) con concentraciones de metabolitos de: 0 ng/ml., 50 ng/ml., 100 ng/ml. y 400 ng/ml. Uniendo los

A que estas concentraciones producen se puede construir una curva estándar que permite determinar la concentración aproximada de droga en la muestra problema (figura 1). En la figura 1 se presenta la curva estándar obtenida en uno de los días del estudio. Si



Curva standard para determinar la concentración aproximada de cannabinoles en orina. El incremento de absorbencia se mide espectrofotométricamente (ΔA). Calibradores de 0, 50, 100 y 400 ng/ml.

una muestra problema examinada ese día presenta un incremento de absorbencia superior a 468 u.A. (50 ng/ml.), la consideramos positiva y con una concentración que determina su A .

La sensibilidad de la técnica EMIT para detectar una concentración de 50 ng/ml. en la orina es del 95%. Esto quiere decir que en el 95% de los casos la técnica es capaz de distinguir una orina negativa de una que contenga la mínima cantidad de droga detectable. La sensibilidad de la prueba aumenta al incrementarse la cantidad de droga en la orina, siendo del 99% para detectar concentraciones de 100 ng/ml. y del 100% para detectar concentraciones superiores a 400 ng/ml. La empresa suministradora, Syva Co., declara una confianza del 95% en la detección de droga, atribuyendo el 5% de errores no a falsos positivos, sino a falsos negativos y a errores de procedimiento. La especificidad de la técnica es del 99 a el 100%. En un control de calidad de laboratorios de detección de droga realizado por el Center for Disease Control, Atlanta, en 1980, tres laboratorios de los 64 encuestados obtuvieron sólo un resultado falso positivo. Este mismo estudio muestra que la técnica EMIT logra resultados correctos en un 97% a 99% de casos, la cromatografía de gases en un 95% a 99% y la cromatografía en capa fina en un 92% a 97% (7, 8, 9, 10, 11).

La tabla 2 recoge las concentraciones de cannabinoles mínimas necesarias para dar una respuesta positiva.

TABLA 2

8- \pm -11-dihidroxi Δ_9 -THC	50 ng/ml.
8- β -hidroxi Δ_9 -THC	50 ng/ml.
11-hidroxi Δ_8 -THC	50 ng/ml.
11-hidroxi Δ_9 -THC	50 ng/ml.
Δ_9 -THC	75 ng/ml.
Cannabinol	200 ng/ml.

Concentraciones mínimas detectadas mediante el enzoinmunoensayo de diversos componentes procedentes del cannabis. Fuente: (6), (12).

La tabla 3 recoge las concentraciones en orina de fármacos no relacionados estructuralmente con los cannabinoles, para los que se ha comprobado una respuesta negativa mediante la técnica EMIT.

Sujetos

Durante los meses de mayo y junio de 1985 hemos examinado 3.236 individuos, 2.819 varones y 417 hembras, de edades comprendidas entre los 20 y 30 años, de nivel socioeconómico y cultural medio, dentro de un programa de revisiones médicas practica-

TABLA 3

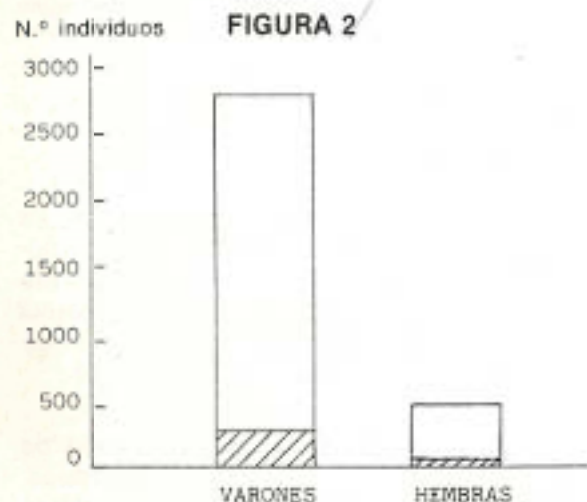
Amitriptilina	50 mcg/ml.
Amfetamina	100 mcg/ml.
Aspirina	1.000 mcg/ml.
Benzolecgonina	400 mcg/ml.
Clorpromacina	12 mcg/ml.
Fenciclidina	750 mcg/ml.
Meperidina	500 mcg/ml.
Metacualona	100 mcg/ml.
Morfina	200 mcg/ml.
Oxacepan	100 mcg/ml.
Prometacina	125 mcg/ml.
Propoxifeno	100 mcg/ml.
Secobarbital	100 mcg/ml.

Fármacos que no producen una respuesta positiva a las concentraciones indicadas (en microgramos por mililitro), mediante el enzoinmunoensayo. Fuente: (6).

das a personas en su mayor parte de Barcelona ciudad y su área metropolitana. Las muestras de orina se obtuvieron de lunes a viernes, de 16 a 18 horas. Los individuos habían sido informados previamente mediante carta personal sobre las características de la revisión médica, avisándoseles de que, entre otras pruebas, se practicarían diversos análisis de sangre y de orina. Dichos sujetos no tenían ninguna vinculación con el hospital o el sistema sanitario; se trataba de aspirantes a puestos de trabajo en la administración. Estimamos que, como máximo, un 15% de los sujetos se conocían entre sí.

Resultados

Se han detectado cannabinoles en 233 de los 3.236 individuos examinados (7'2%). De ellos, 212 eran varones (7'5%) y 21 hembras (5'0%) (figura 2). La razón del consumo de varones sobre el de hembras fue de 1'5.

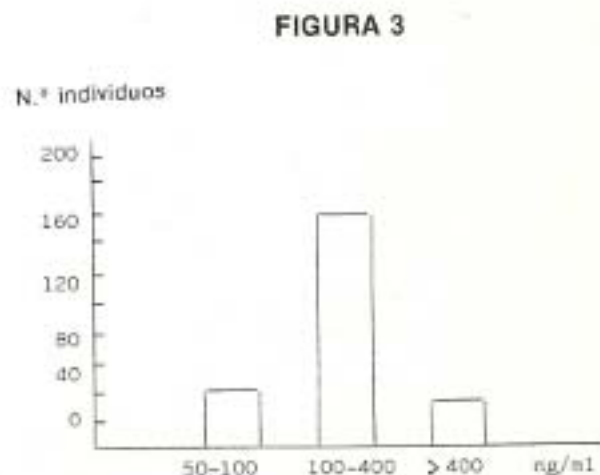


Varones y hembras consumidores en relación al total de individuos examinados. (En rayado: consumidores detectados.)

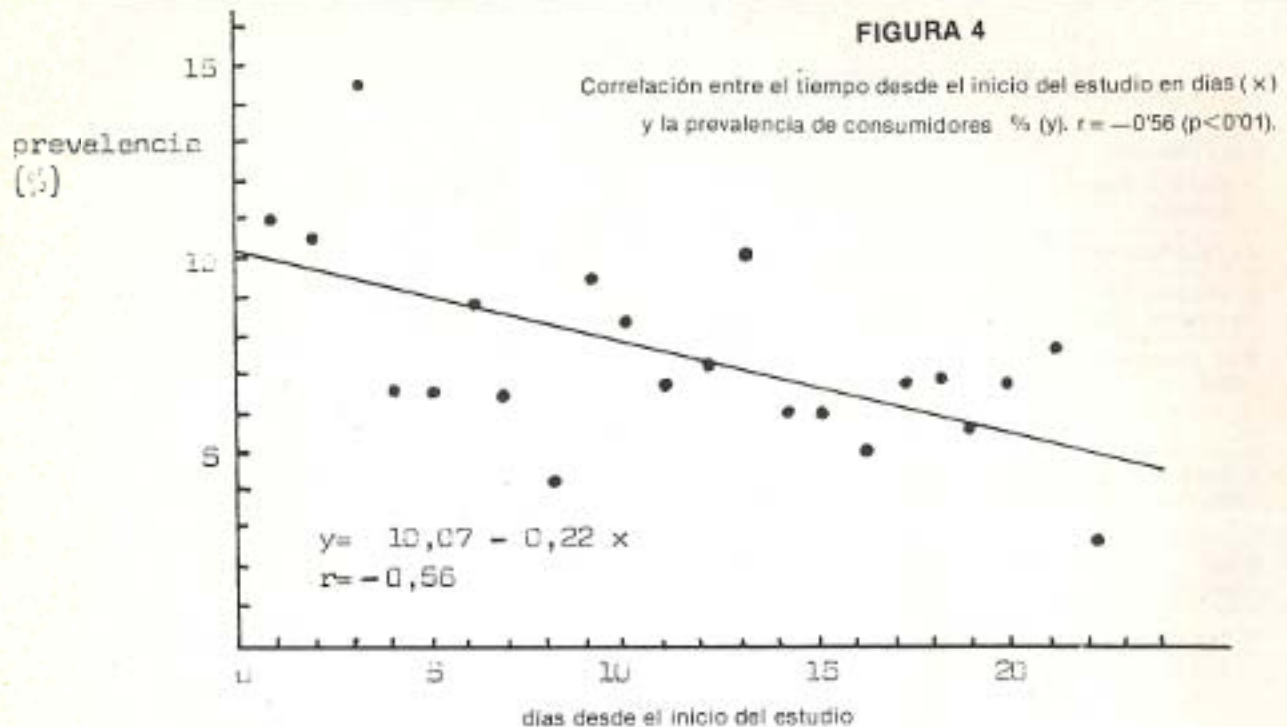
El número de casos detectados por día fue bastante semejante, con una media de $9'6 \pm 2'9$ para los varones y $3'8 \pm 1'6$ para las hembras, siendo el número medio de individuos examinados por día de $127'2 \pm 5'0$ para los varones y $69'5 \pm 12'3$ para las hembras. La prevalencia diaria, o número de consumidores sobre el número total de individuos examinados, varió desde una prevalencia máxima de 14'3% a una prevalencia mínima de 2'8% para los varones, y 9% y 1'5% para las hembras. La prevalencia diaria media fue de $7'5 \pm 2'5\%$ para los varones y de $4'9 \pm 2'2\%$ para las hembras.

La concentración de droga detectada en los consumidores varió desde 50 ng/ml. a más de 400 ng/ml. Se detectaron 40 individuos con una concentración de 50 a 100 ng/ml. (17'2%), 161 individuos con una concentración de 100 a 400 ng/ml. (69'1%) y 32 individuos con una concentración superior a 400 ng/ml. (13'7%) (figura 3). Entre los varones se hallaron 39 individuos con una concentración de 50 a 100 ng/ml. (18'4%), 142 con una concentración entre 100 y 400 ng/ml. (67'0%) y 31 con una concentración superior a 400 ng/ml. (14'6%). Entre las hembras, se observó un individuo con una concentración de droga entre 50 y 100 ng/ml. (4'8%), 19 individuos con una concentración entre 100 y 400 ng/ml. (90'4%) y un individuo con una concentración superior a 400 ng/ml. (4'8%).

La prevalencia diaria disminuyó a lo largo del período de examen de los varones —22 días—, sin que esto ocurriera en el examen de las mujeres —6 días—, con una correlación $r = -0.56$ ($p < 0.01$) (figura 4).



Individuos consumidores detectados según la concentración de droga encontrada en la orina.



Discusión

El nivel de consumo detectado (7'5%, en los varones; 5'0%, en las hembras, y 7'2%, global), debería considerarse como el nivel de consumo frecuente o habitual de la población examinada, cuya población de referencia la constituyen los jóvenes de 20 a 30 años de situación socioeconómica y cultural media de Barcelona y área metropolitana. La prevalencia diaria media encontrada en los varones de $7,5 \pm 2,5$, que varió a lo largo del período de examen desde un máximo de 14'3% al inicio a un mínimo de 2'8% al finalizar y con una prevalencia media en los seis primeros días de examen de 9'6%, nos hace suponer que la prevalencia de consumo frecuente en la población referida debe encontrarse entre 7'5% y 10%.

La razón del consumo de los varones sobre el de las hembras es de 1'5, subiendo a 1'92 al considerar la prevalencia de los seis primeros días en el examen de los varones. En la población examinada, y posiblemente en la de referencia, por cada hembra consumidora encontraríamos de 1'5 a 2 varones consumidores, apoyando la idea de que el consumo es más frecuente en los varones.

La disminución progresiva de la prevalencia diaria la atribuimos al efecto «halo» derivado de la práctica, en otra fase del examen de salud, de una encuesta sobre hábitos tóxicos, cosa que probablemente permitió vislumbrar en los examinados el interés del equipo examinador hacia el tema.

En la tabla 4 se comparan los resultados obtenidos en nuestro estudio con otros reali-

zados recientemente. J.V. García et al. (12), utilizando la técnica EMIT, detectaron una prevalencia de 4'3% entre los individuos que acudieron a un Centro de Reconocimiento de Conductores. Se trata, por tanto, de una población muy distinta a la examinada por nosotros, aunque la prevalencia encontrada apoya la idea de que el consumo debe ser superior en la población joven y entre los varones. La prevalencia de consumo detectada mediante encuestas socioepidemiológicas es de difícil comparación con la obtenida mediante pruebas objetivas de cribaje, ya que se desconoce el grado de sinceridad de los encuestados y el nivel de aceptación que el consumo de cannabis tiene para ellos, existiendo, por otra parte, diferencias en el tiempo de consumo y la intensidad del mismo entre los distintos trabajos, aparte de las disparidades existentes en la estructura de las poblaciones estudiadas. En un cribaje analítico se detectan los consumidores diarios y en buena medida los de la última semana y quincena, los cuales, en su conjunto, pueden etiquetarse como los consumidores frecuentes o habituales; consideramos como de escasa relevancia numérica los eventuales consumidores esporádicos que hayan podido detectarse en un estudio de cribaje. En las encuestas socioepidemiológicas, además del consumo habitual (diario, semanal, quincenal) se suele cuestionar el consumo esporádico, es decir, si se ha consumido la substancia en los últimos meses, los últimos seis meses o alguna vez, pudiéndose apreciar notables diferencias entre los consumos habituales y los esporádicos (13, 14, 15); los

TABLA 4
Prevalencia de consumo de cannabis detectada en diversos estudios

Autor y publicación	Técnica	Nivel de consumo cuestionado	Muestra	Edad (años)	Prevalencia %
P. Plans, J. Vaqué, L. Salleras	analítica: EMIT	—	3.236	20-30	7'2
J.V. García et al. (12)	analítica: EMIT	—	372	14-40	4'3
D. Sanitat i S.S. Generalitat (1982) (1)	encuesta socioepidemiológica	ha consumido	1.500 500	16-65 15-25	4'7 24'8
M.A., Torres (13) (1985)	encuesta socioepidemiológica	diario último mes último año ha consumido	3.000	estudiantes COU y BUP	2'6 13'8 22'7 27'6
J. Camí, H. Rodríguez (1985) (14)	encuesta socioepidemiológica	frecuente ha consumido	2.305 U.A.B.	estudiantes 0'1 U.C.B.	20'7
EDIS (1985) (15)	encuesta socioepidemiológica	alguna vez últimos 6 meses	5.998	12-49	21'3 14'3

U.A.B.: Universidad Autónoma de Barcelona.
 U.C.B.: Universidad Central de Barcelona.

elevados porcentajes que suelen observarse para estos últimos no tienen el interés epidemiológico de los primeros, que son los que como hemos dicho se detectan en los estudios de cribaje analítico, los cuales permiten apreciar la existencia de un grupo de población especialmente sometida a los riesgos que para la salud comporta el uso de la sustancia. En nuestro estudio no hemos podido apreciar una prevalencia significativamente mayor de cannabis en orina tras los días festivos (Δ 27%, N.S.).

La presencia de cannabis en la orina indica consumo de hachis o de marihuana, y por esa razón, cuando el resultado de la prueba ha de tener consecuencias importantes para el individuo examinado, un resultado positivo debería confirmarse con una técnica analítica alternativa, como la cromatografía en capa fina o la cromatografía de gases.

El enzimoimmunoensayo es la prueba bioquímica de cribaje más adecuada para detectar el consumo de cannabis en un volumen importante de población, debido a su razonable coste, el poco tiempo empleado en su realización y la escasa preparación necesaria de instrumentación. Por otra parte, el porcentaje de resultados correctos obtenidos mediante la técnica de EMIT es semejante al obtenido mediante técnicas alternativas, más complejas y costosas.

BIBLIOGRAFIA

1. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Programa d'Informació sobre les Drogodependències-Drogues. Barcelona, 1984; pp. 5-6.
2. HUNT, C.A., JONES, R.T.: «Tolerance and disposition of THC in man», *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1980; 215: 135-144.
3. WALL, M.E., PEREZ-REYES, M.: «The metabolism of delta-9-tetrahydrocannabinol and related compounds in man», *J. Clin. Pharmacol.* 1980; 21: 1.785-1.795.
4. Mc BAY, A.J., DUBOWSKI, K.M., FINKLE, B.S.: «Urine testing for marijuana use», *Jama*, 1983; 249: 881.
5. DAKIS, C.A., POTLASH, A.L.C., ANNITO W., et al.: «Persistence of urinary marijuana levels after supervised abstinence», *Am. J. Psychiatry*, 1982; 1.196-1.198.
6. *Emit d.a.u. Urine Cannabinoid Assay*. Palo Alto, California: Syva Co, 1984.
7. SCHWARTZ, R.H., HAWKS, R.L.: «Laboratory detection of marijuana use», *Jama*, 1985; 254: 788-792.
8. *Frequently Asked Questions about Syva and Drug Abuse Testing*. Syva Co, Palo Alto, California, 1983.
9. Urine testing for detection of marijuana: An advisory, *MMWR*, 1983; 32: 469-471.
10. LAW, B., POCOK, K., MOFFAT, A.C.: «An evaluation of homogeneous enzyme immunoassay (EMIT) for cannabinoid detection in biological fluids», *J. Forensic Sci. Soc.*, 1982; 22: 275-281.
11. RODGERS, R.: «Homogeneous enzyme immunoassay for cannabinoids in urine», *Ch. Chem.*, 1978; 24: 95-100.
12. GARCIA GIMENEZ, J.V., MARQUES ALAMO, J.M., RODAMILLANS PEREZ, M., SANAHUJA BELTRAN, P.: *Toxicodependències, Seguretat Vial y Centros de Reconocimiento de Conductores*. Barcelona, Asociación Española de Centros Privados de Reconocimientos Médicos y Psicológicos, 1984; pp. 29-34.
13. TORRES, M.A.: «Consumo de drogas entre los estudiantes de Valencia», *Tribuna Médica*, 1985; 1.079, pp. 18.
14. CAMÍ, J., RODRIGUEZ, H.: *Estudi sobre el consum de drogues entre els estudiants de Medicina de les Universitats catalanes*, Ciril. Generalitat de Catalunya, 1985.
15. NAVARRO, J., LORENTE, S., VARO, J., RUIZ, M.: «El consumo de drogas en España». Equipo de Investigación Sociológica (EDIS), *Cuadernos Técnicos de Toxicomanías*, 4. Cruz Roja Española, Dirección General de Acción Social, Madrid, 1985.