



*Better health through
laboratory medicine.*

CÁPSULAS DE MEDICINA DE LABORATORIO

Manejo del Dolor: Opioides

Presentadora: Jada (Yu) Zhang, MD, PhD

Afiliación: Universidad de California, San Francisco
Hospital General Zuckerberg de San Francisco

DOI:



Esquema

- Introducción a los opioides
 - La familia de los opioides
 - Función biológica y aplicación médica
 - Efectos secundarios y crisis de opioides

- Detección de opioides en laboratorios
 - Muestras
 - Analitos
 - Metodologías

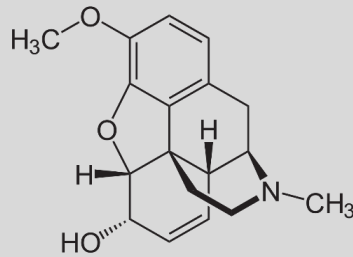
La familia de los opioides

Opiáceos naturales

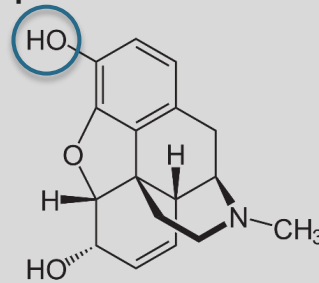
Opiáceos semi-sintéticos

Opioides sintéticos

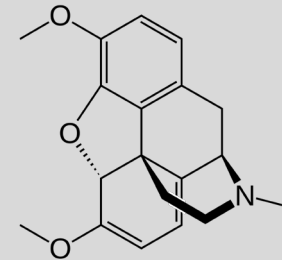
-Derivados naturales del opio



Codeína



Morfina



Tebaína



opio



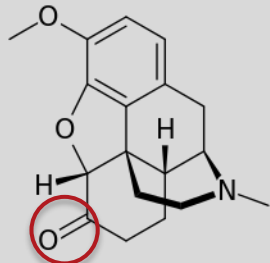
La familia de los opioides

Opiáceos naturales

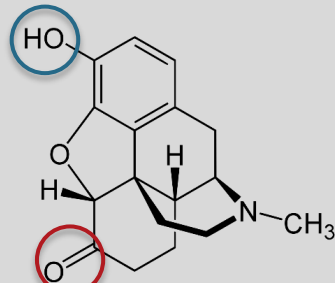
Opiáceos semi-sintéticos

Opioides sintéticos

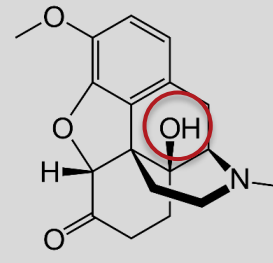
-Derivados sustituidos de la morfina o codeína, incluyendo



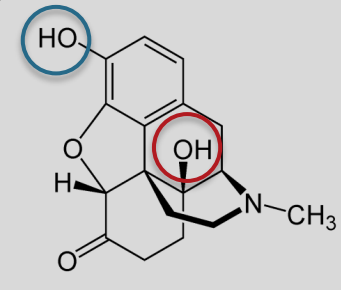
Hidrocodona



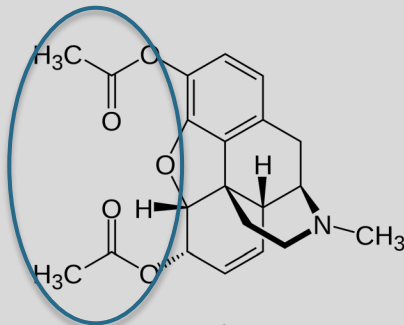
Hidromorfona



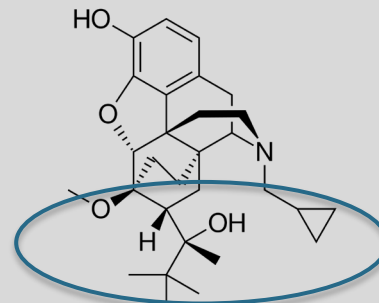
Oxicodona



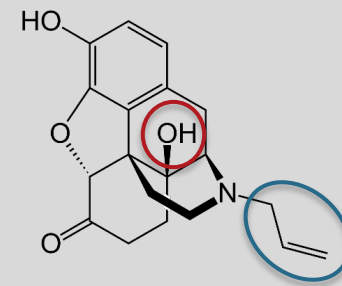
Oximorfona



Heroína



Buprenorfina, agonista parcial



Naloxona, antagonista

La familia de los opioides

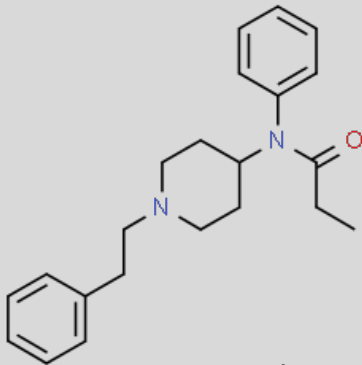
Opiáceos naturales

Opiáceos semi-sintéticos

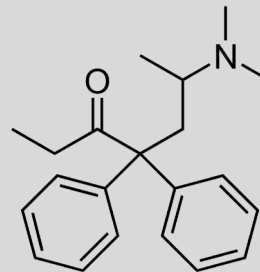
Opioides sintéticos

-Estructuralmente diferentes a la morfina

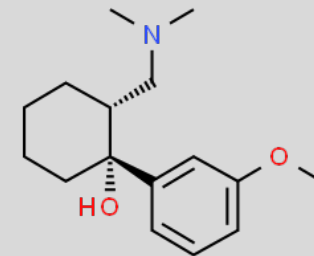
- Fenilpiperidinas: fentanilo, alfentanilo
- Difenilpropilaminas, por ejemplo, metadona
- Analgésicos complejos, por ejemplo, tramadol, tapentadol



Fentanilo



Metadona, agonista total



Tramadol

Función biológica y uso de opioides

➤ Función biológica

Unirse a receptores de opioides y provocar efecto analgésico y euforia.

➤ Aplicación médica

- Manejo del dolor: opioides más recetados: codeína, morfina, hidrocodona, hidromorfona, oxicodona, y oximorfona
- Antídoto para sobredosis: naloxona
- Tratamiento de adicciones: buprenorfina y metadona



Función biológica y uso de opioides

➤ Efectos adversos:

- Síndrome de toxicidad: depresión de los sistemas nervioso central y respiratorio, bradicardia, hipotensión, hipotermia, miosis y coma.
- Tolerancia, dependencia física y adicción.

Narcotic (Opioid) Toxidrome

Mnemonic: "CPR-3H"

- C** : Coma
- P** : Pinpoint pupils
- R** : Respiratory depression
- H** : Hypotension
- H** : Hypothermia
- H** : Hyporeflexia

NOTE: Meperidine (*Demerol*) will not cause miosis



Antidote: Naloxone

Start with **0.04 mg** and titrate up q 2-3 min as need for ventilation to 0.5 mg, 2 mg, 5 mg, up to max 10-15 mg

Síndrome de toxicidad inducido por narcóticos (opioides)

Mnemotecnia: "CPR-3H"

C: Coma

P: Pupilas puntiformes

R: Respiración comprometida

H: Hipotensión

H: Hipotermia

H: Hiporreflexia

NOTA: La meperidina (*Demerol*) no provoca miosis

Antídoto: Naloxona

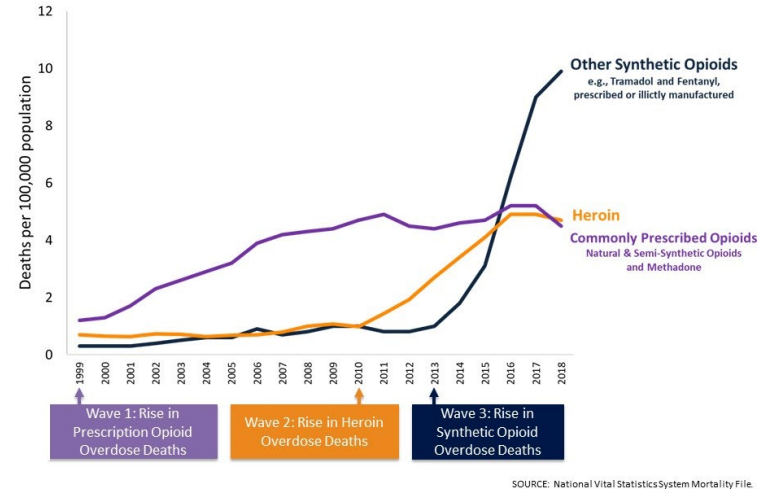
Empieza con 0.04 mg y valora la respiración cada 2-3 minutos, subiendo la dosis en caso necesario a 0.5 mg, 2 mg, 5 mg hasta un máximo de 10-15 mg

Crisis de Opioides

Entre 1999 y 2018 murieron casi 450,000 personas de una sobredosis en la que estaba implicado un opioide, ya sea recetado o ilícito.

En dos de cada tres muertes por sobredosis en 2018 estaba involucrado un opioide.

3 Waves of the Rise in Opioid Overdose Deaths



3 Olas en Aumento de Muertes por Sobredosis de Opioides

(eje y) Muertes por población de 100,000

- Otros Opioides Sintéticos, por ej., Tramadol y Fentanilo, recetados o de fabricación ilícita
- Heroína
- Opioides Comúnmente Recetados, opioides naturales y semi-sintéticos y metadona

(eje x)

- Ola 1: Aumento de muertes por sobredosis de opioides recetados
- Ola 2: Aumento de muertes por sobredosis de heroína
- Ola 3: Aumento de muertes por sobredosis de opioides sintéticos

<https://www.cdc.gov/drugoverdose/epidemic/index.html>

Detección de Opioides en Laboratorios



Cuestiones clínicas

- Controlar la adherencia del paciente a los opioides recetados
- Identificar consumo recreativo de drogas no reconocido

➤ Muestras: orina, suero/plasma, saliva, otros (pelo, sudor)

* Examinar las muestras más antiguas, si es posible

➤ Analitos

- Drogas progenitoras
- Metabolitos

➤ Métodos

- Inmunoensayos
- Espectrometría de masas



Para Detectar Opioides: Muestras

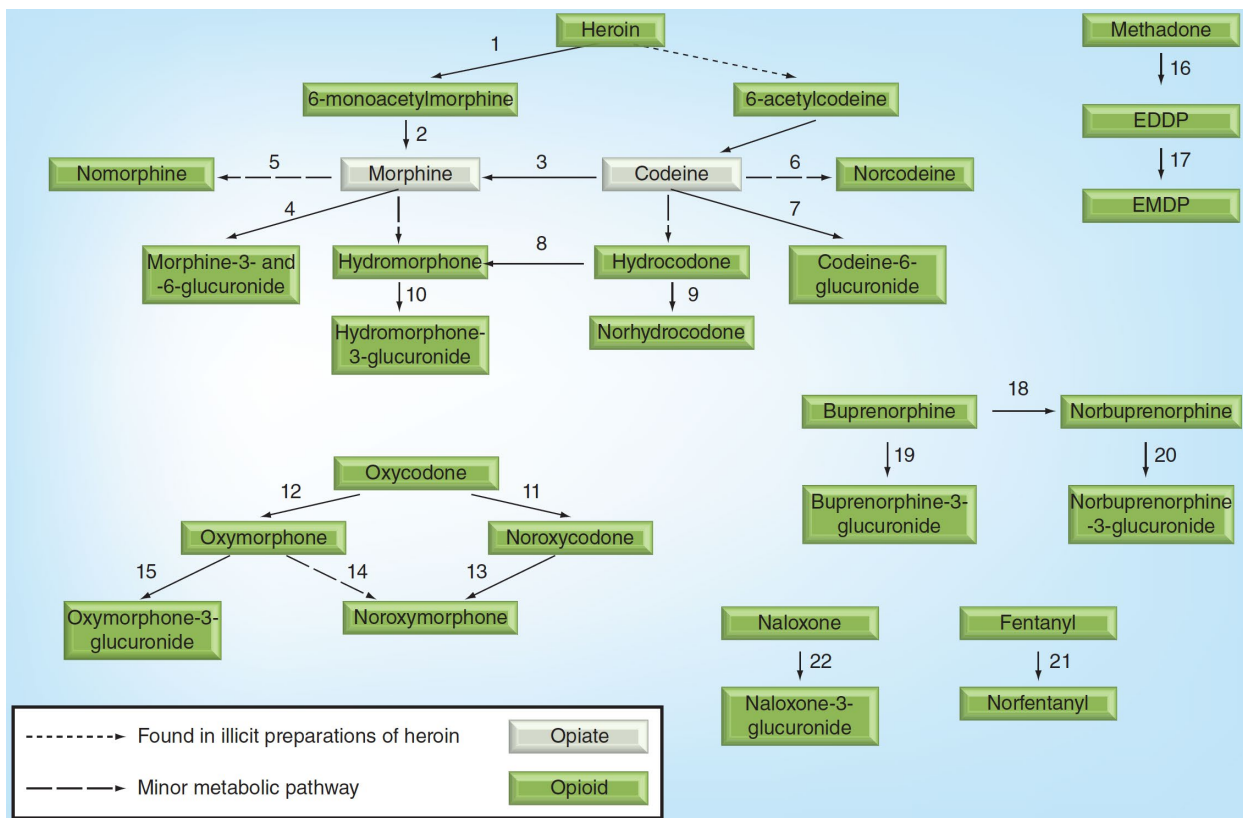
- Orina, el tipo de muestreo más común para el tamizaje de drogas
 - Ventajas: Ventana más larga de detección, generalmente mayor concentración, menos interferencia, procesamiento más sencillo.
 - Desventajas: puede ser alterada fácilmente, de forma intencional o no intencional

- Integridad de la muestra
 - Temperatura esperada: 90 –100°F/ 32 –38°C
 - *Leer la tira de temperatura dentro de 5 minutos de la evacuación
 - pH esperado: 4.5 –9.0

- Pruebas de validez de la muestra
 - Creatinina: ≥ 20.0 mg/dL
 - Gravedad específica: ≥ 1.003
 - Oxidantes generales: *por ej.*, < 200 $\mu\text{g/mL}$ para nitritos



Para Detectar Opioides: Metabolismo de Opioides



Encontrado en preparaciones ilícitas de heroína
Vía metabólica menor

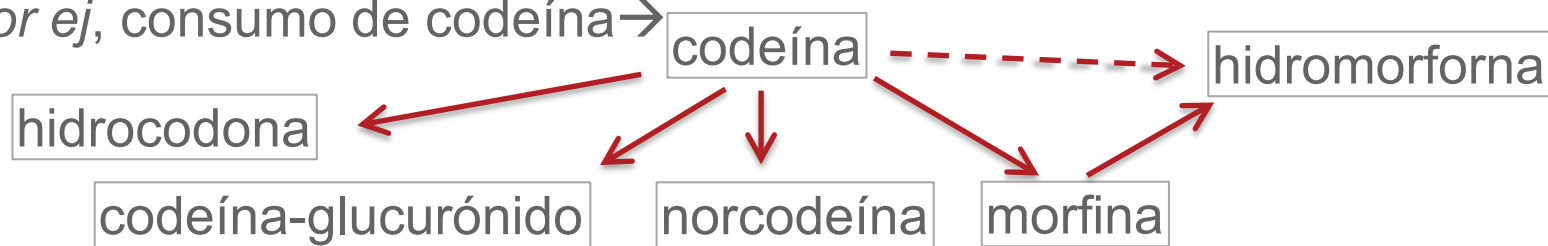
Opiáceo
Opiode

French D. The challenges of LC-MS/MS analysis of opiates and opioids in urine. Bioanalysis. 2013 Nov;5(22):2803-20. doi: 10.4155/bio.13.244. PMID: 24256360.

Para Detectar Opioides: Selección de Analitos

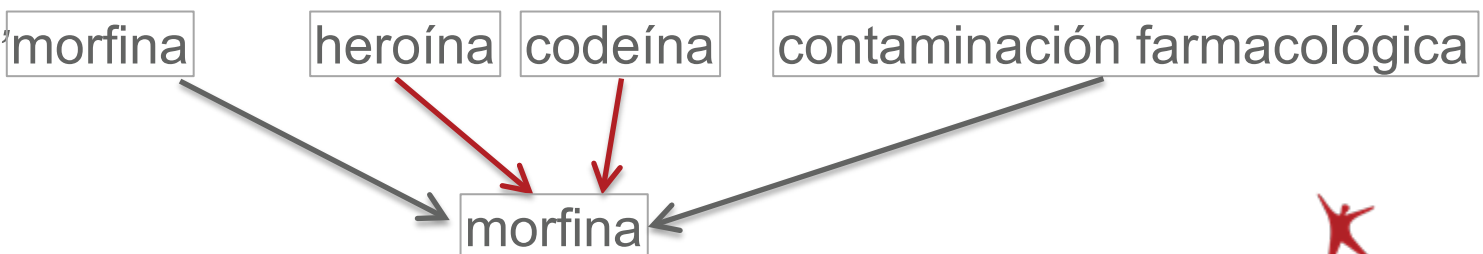
- Cuando un paciente toma un opioide, pueden detectarse tanto la droga progenitora como su(s) metabolito(s)

por ej, consumo de codeína →



- Cuando se detecta un opioide en la orina, puede indicar:
 - consumo de este opioide
 - consumo de otras drogas progenitoras
 - a veces contaminación de otras drogas

por ej.

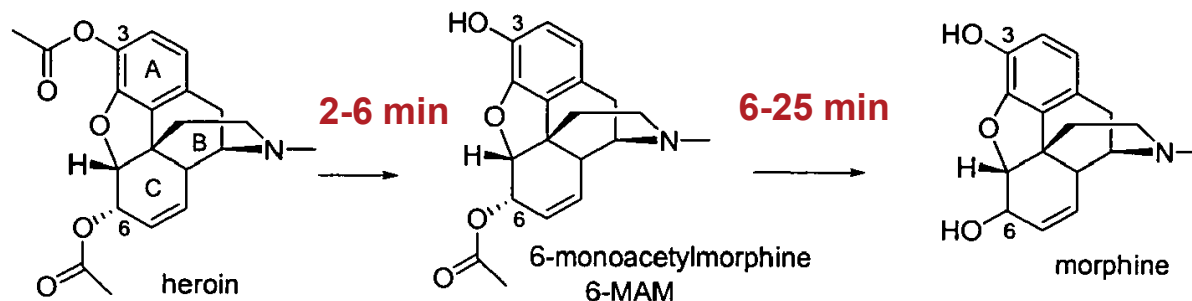


Para Detectar Opioides: Selección de Analitos

- Metabolitos, en vez de drogas progenitoras
 - Para controlar adherencia del paciente a opioides recetados, *por ej.*,
 - Metadona → EDDP
 - Buprenorfina → norbuprenorfina

Excluir la adulteración intencional con drogas agregadas a la muestra de orina ya tomada

- Para drogas de metabolismo rápido, *por ej.*, heroína → 6-MAM



Para Detectar Opioides: Analitos y Ventana de Detección

Drogas	Analitos	Ventana de detección
Morfina	Morfina, morfina-glucurónido	1-3 días
Codeína	Codeína, codeína-glucurónido, morfina, hidrocodona	1 a 2 días
Heroína	6-MAM	12-24 hrs
Metadona	EDDP	3 a 4 días
Buprenorfina	Norbuprenorfina	Hasta 11 días
Oxicodona	Noroxicodona, noroximorfona, oxicodona, oximorfona	1 a 3 días
Oximorfona	Noroximorfona, oximorfona	1 a 4 días
Fentanilo	Fentanilo, norfentanilo	1 a 3 días

Para Detectar Opioides: Métodos

	Inmunoensayo	Espectrometría de masas
Ventajas	rápido, fácil de automatizar, menos mano de obra y costo.	alta especificidad, capacidad múltiple, desarrollo rápido de ensayo
Desventajas	puede arrojar falsos positivos y falso negativos, detecta solo clases de drogas y no drogas específicas, necesidad de desarrollar anticuerpos	altas exigencias de instrumentos y técnicas, aún no se automatiza
Aplicaciones	tamizaje	confirmación



Para Detectar Opioides con Inmunoensayos

➤ Inmunoensayos competitivos

- **Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique (EMIT)** (Técnica de Inmunoensayo de Enzimas Multiplicadas)
- **Cloned Enzyme Donor Immunoassay (CEDIA)** (Inmunoensayo de Donante de Enzima Clonada)
- **Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA)** (Inmunoensayo de Polarización Fluorescente)
- Inmunoensayos de flujo lateral

➤ Detección de opioides en laboratorio mediante inmunoensayos

- Inmunoensayos de opiáceos:
 - ✓ detectan opiáceos naturales o algunos opioides semi-sintéticos mas no opioides totalmente sintéticos
 - ✓ No distinguen entre diferentes opioides.
- Inmunoensayos específicos para opioides individuales: metadona, buprenorfina, oxicodona/oximorfona, 6-MAM, fentanilo, etc.



Para Detectar Opioides con Inmunoensayos

- Los inmunoensayos pueden arrojar falsos positivos y falsos negativos.
 - Presuntos positivos
 - Negativos inexplicables
- Por otro lado, los inmunoensayos de opioides no distinguen entre diferentes opioides.



Pruebas de confirmación basadas
en espectrometría de masas



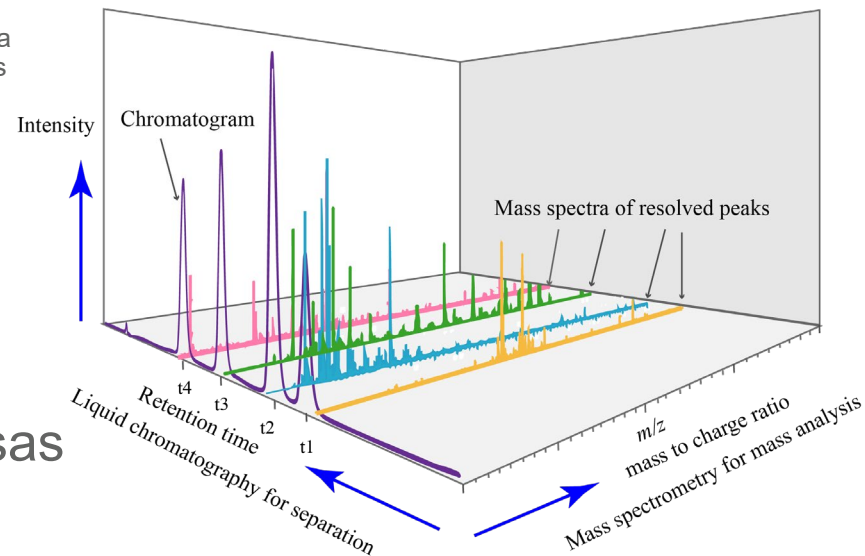
Para Detectar Opioides con Espectrometría de Masas

- Las drogas y metabolitos individuales se identifican por su tiempo de retención, masa (m/z), isótopo, MS/MS o transiciones, etc.

Intensidad Cromatograma
Espectros de masas de picos resueltos

m/z
Relación masa/carga
Espectrometría de masas para análisis de masas

t_4 t_3 t_2 t_1
Tiempo de retención
Cromatografía de líquidos para separación



- Métodos de espectrometría de masas

- Cromatografía de gases (GC)-MS
- Cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS)
- Cromatografía de líquidos acoplada de espectrometría de masas de alta resolución (LC-HRMS)

Para Detectar Opioides con Espectrometría de Masas

Sample Purification

Sample preparation

- Urine
- Serum/Plasma
 - protein precipitation
 - liquid liquid extraction
 - Supported liquid extraction
- Tissues

Molecular Separation

Chromatography

- Gas chromatography (GC)
- Liquid chromatography (LC)
- no separation

Molecular Identification

mass spectrometer

Ion source

- Electron ionization (EI)
- Chemical ionization (CI)
- Electrospray ionization (ESI)
- APPI
- APCI
- ICP
- MALDI

mass analyzer

- Beam-type
 - Magnetic sector
 - Quadrupole
 - Time-of-flight
- Trapping-type
 - Linear Ion trap
 - Orbitrap
- Tandem MS, MS/MS

Detector

- Electron multipliers
- Photomultipliers
- MCP
- Faraday cups
- Array detectors
- Daly knob



Purificación de muestra	Separación molecular	Identificación molecular		
		espectrómetro de masas		
Preparación de muestra	Cromatografía	Fuente de iones	Analizador de masas	Detector
<ul style="list-style-type: none"> • Orina • Suero/Plasma • -preparación de proteína • -extracción líquido-líquido • -extracción de líquidos con soporte • Tejidos 	<ul style="list-style-type: none"> • Cromatografía de gases (GC) • Cromatografía de líquidos (LC) • Sin separación 	<ul style="list-style-type: none"> • Ionización electrónica (EI) • Ionización química (CI) • Ionización por electrospray (ESI) • APPI • APCI • ICP • MALDI 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipo haz • -Sector magnético • -Cuadrupolo • -Tiempo de vuelo • Tipo trampa • -Trampa lineal de iones • -Orbitrampa • Espectrometría de masas en tándem, MS/MS 	<ul style="list-style-type: none"> • Multiplicadores de electrones • Fotomultiplicadores • MCP • Copas de Faraday • Detectores de matriz • Mango de Daly

Para Detectar Opioides con Espectrometría de Masas

➤ Pruebas desarrolladas en laboratorios

Por ejemplo,

- Prueba de conformación de opioides (LC-MS/MS), opioides comunes
- Tamizaje para análogos de fentanilo (LC-HRMS)

➤ Validación de métodos – Directrices del CLSI

- C50-A: Espectrometría de masas en el laboratorio clínico
- C43-A2: Espectrometría de masas en el laboratorio clínico
- C62: Métodos de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas



Resumen

- La familia de los opioides incluye los opiáceos naturales y semi-sintéticos, así como los opioides totalmente sintéticos. Todos tienen funciones biológicas similares, pero los opioides totalmente sintéticos son diferentes en cuanto a su estructura.
- Para detectar los opioides es importante elegir la muestra correcta en el momento correcto, los analitos correctos y los métodos correctos.
- Por lo general se utilizan los inmunoensayos para el tamizaje y los métodos de espectrometría de masas para confirmar los presuntos positivos y los negativos inexplicables.
- Es esencial conocer las técnicas analíticas (inmunoensayos y espectrometría de masas) y el metabolismo de las drogas para saber elegir la prueba más adecuada e interpretar los resultados.



Referencias

1. Reisfield GM, Salazar E, Bertholf RL. Rational use and interpretation of urine drug testing in chronic opioid therapy. *Ann Clin Lab Sci* 2007;37(4):301-14.
2. French D. The challenges of LC-MS/MS analysis of opiates and opioids in urine. *Bioanalysis* 2013;5(22):2803-20.
3. He S. Yang, Alan H. B. Wu, Kara L. Lynch, Development and validation of a novel LC-MS/MS opioid confirmation assay: evaluation of β -glucuronidase enzymes and sample cleanup methods. *J. Anal. Toxicol* 2016;40(5):323–9
4. Bodor G. S. The laboratory's role in opioid pain medication monitoring. *EJIFCC* 2012;23(2): 55–62.
5. Krajewski LC, Swanson KD, Bragg WA, et al. Application of the fentanyl analog screening kit toward the identification of emerging synthetic opioids in human plasma and urine by LC-QTOF. *Toxicol Lett.* 2020;320:87-94.

Transparencia / Conflictos de interés potenciales

Al presentar la Cápsula, la presentadora llenó el formato de transparencia para Química Clínica. Declaraciones y/o conflictos de interés potenciales:

- **Empleo o liderazgo:** Sin declaraciones
- **Rol de consultor o asesor:** Sin declaraciones
- **Participación accionaria:** Sin declaraciones
- **Honorarios:** Sin declaraciones
- **Financiamiento de investigación:** Sin declaraciones
- **Testimonios periciales:** Sin declaraciones
- **Patentes:** Sin declaraciones

Thank you for participating in this
Clinical Chemistry Trainee Council
Pearl of Laboratory Medicine.

Find our upcoming Pearls and other
Trainee Council information at
www.traineecouncil.org

Download the free *Clinical Chemistry* app
on iTunes today for additional content!

Follow us:

