

Detección de drogas de abuso en orina y sus adulterantes

Laura Pérez-Campos-Mayoral,¹ Eduardo Pérez-Campos-Mayoral,¹
Ruth Martínez-Cruz,^{2,3} Eduardo Pérez-Campos^{2,3}

1. Laboratorio de Patología Clínica Dr. Eduardo Pérez Ortega. 2. Centro de Investigación en Ciencias Médicas y Biológicas, Facultad de Medicina. UABJO. 3. Unidad de Bioquímica e Inmunología ITO-UNAM, Oaxaca, México.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, debido al aumento en el consumo de drogas en Latinoamérica y en particular en México,⁽¹⁾ ha habido mucho interés en detectar a consumidores, en especial en escuelas, universidades y áreas de trabajo mediante pruebas rápidas en orina. En las Américas, la prevalencia del consumo de cualquier droga ilícita en la población escolar es significativamente alta, en particular en Estados Unidos, Canadá, Panamá, Barbados, Guyana y Brasil. Para darnos cuenta de la magnitud del problema, la Comisión Internacional para el Control del Abuso de Drogas (CICAD) estima que en el mundo, el 4.7% de la población entre 15 y 64 años consume drogas.⁽²⁾

Es muy frecuente encontrar en el mercado una gran variedad de pruebas para detectar drogas de abuso en orina, que son empleadas sin un criterio analítico.

Estas pruebas incluso, en algunos reglamentos, las han validado; como ejemplo está el Reglamento de la Ley Orgánica de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Baja California, México, en donde se adoptan oficialmente un método inmunocromatográfico de una etapa, haciendo referencia a una marca comercial, sin considerar otras opciones.⁽³⁾

Por otra parte, es frecuente que los laboratorios privados o asistenciales ofrezcan pruebas para “doping” como un panel de pruebas para detectar drogas psicotrópicas. Las pruebas de laboratorio que se emplean para detectar el dopaje definidas por la agencia mundial antidopaje WADA son muy diversas y no solo incluyen algunas psicotrópi-

ABSTRACT

Drug abuse assays in urine are reviewed. The evolution of cut-off points, the sensitivity of immunoassays, the types of antibodies used in these assays, and adulterating agents used to invalidate drug abuse assays are presented.

Keywords: Drug abuse. Urine adulterants agents.

RESUMEN

Se hace una revisión sobre las pruebas para detectar drogas de abuso en orina, la evolución de los puntos de corte, la sensibilidad de los inmunoensayos, el tipo de anticuerpos que se emplean en estos análisis, y los adulterantes más comunes que se usan para enmascarar una prueba positiva.

Palabras clave: Drogas de abuso. Pruebas rápidas de tamizado. Agentes adulterantes.

cas. Entre los analitos que se miden en los paneles de “doping” están estimulantes, narcóticos, cannabinoides, anabólicos y hormonas, entre otros;⁽⁴⁾ esto quiere decir, que entre los profesionistas no tenemos una identificación clara de los conceptos. Dopar significa “administrar fármacos o sustancias estimulantes para potenciar artificialmente el rendimiento del organismo con fines competitivos”.⁽⁵⁾ En sentido estricto, este término solo se emplea para referirse a la administración de una droga al organismo, antes o durante una prueba deportiva, mientras que drogar se refiere a “administrar una droga” o “hacer uso de las drogas en su persona, casi siempre con fines deprimentes, alucinantes e ilícitos”;⁽⁶⁾ con el término “Pruebas de doping” nos estamos refiriendo a un panel muy grande que se aplica solamente en pruebas deportivas. Hay una confusión en los términos;

Correspondencia: Dr. Eduardo Pérez-Campos. Centro de Investigación en Ciencias Médicas y Biológicas. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca. Ex-Hacienda de Aguilera s/n, Carretera a San Felipe del Agua, Oaxaca, 68020, México. Correo-e: perezcampos@prodigy.net.mx

cuando se ofrecen pruebas para identificar dopaje, solo se reportan los resultados de algunos psicotrópicos en orina.

La identificación de drogas de abuso en muestras de orina tiene diferentes fines, entre los más importantes están: 1) como prueba de tamizado para la identificación de consumidores, con objeto de llevarlos a tratamiento; 2) en programas de “orinas limpias”; 3) como tamizado en la selección de personal; 4) en protocolos de intoxicación; 5) para control de recién nacidos de padres consumidores; 6) posterior a daños a terceros, y 7) control en la libertad condicional, en algunos países.

MÉTODOS PARA IDENTIFICAR DROGAS DE ABUSO EN ORINA

Los métodos de tamizado más comunes que se emplean para detectar drogas de abuso y doping son: Inmunoensayo enzimático (EIA), Radioinmunoensayo (RIA), Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (FPIA), Cromatografía en capa fina (TLC), Inhibición de aglutinación de látex, EMIT (enzyme multiplied immunoassay technique), e Inmuno cromatografía.

Entre los métodos más frecuentes para confirmar las pruebas presuntivas positivas están: Cromatografía de gas/espectrometría de masas (CGM), Cromatografía líquida (HPLC) y Electroforesis capilar.

Cualquiera de los métodos que estén disponibles en el mercado deben contener características propias de los reactivos y procedimientos: a) sensibilidad analítica, que corresponde a la menor concentración de la droga o metabolito de la droga que produce una respuesta distinguible del blanco, o límite mínimo de detección; b) punto de corte, se refiere al límite que distingue una prueba presuntiva positiva de una negativa; c) la especificidad analítica o capacidad del método de determinar exclusivamente una droga, el metabolito de la droga, y la reacción cruzada con otras drogas; d) la interferencia con otros compuestos; e) la precisión o la capacidad de la prueba para producir el mismo valor durante mediciones repetidas; y f) estudios comparativos con otra metodología de referencia como cromatografía de gas/espectrometría de masas.

En relación a los falsos positivos y falsos negativos, cabe señalar que la baja especificidad de los inmunoensayos en la detección de drogas de abuso tienen algunas características deseables, la reacción cruzada entre miembros del mismo grupo de drogas es esencial para las pruebas de tamizado, sin embargo la reacción cruzada con otros grupos de drogas pueden causar problemas de especificidad.⁽⁷⁾

Entre las drogas que en inmunoensayos dan reacción cruzada con miembros de varios tipos de drogas está el me-

tronidazol. La doxilamina, la rifampicina y la amitriptilina interfieren con opiáceos; la ranitidina y el clobenzorex interfiere con anfetaminas; la efedrina, pseudoefedrina y selegilina con la metanfetamina. La cuantificación de metadona interfiere la difenhidramina, doxilamina, verapamil y sertralina.⁽⁸⁾

Dependiendo del analito ensayado, del método y de los reactivos empleados se pueden reportar falsos positivos y falsos negativos. EMIT y FPIA dan falsos positivos entre 0.2 a 2.5% y falsos negativos entre 2.4 a 40.8%; el porcentaje más alto de falsos negativos se ha reportado en la medición de tetrahidrocanabinol (THC). Con radioinmunoensayo (RIA) se reporta entre 0.1 a 4.1% de falsos positivos; con este método el porcentaje más alto de falsos positivos está asociado a la medición cocaína.

Los falsos negativos para RIA están en el orden de 5.8 a 37.1% correspondiendo los más altos a la medición de THC. Por otra parte, con el método clásico de TLC se reporta de 0.3 a 3.1% de falsos positivos y de 52 a 92% de falsos negativos.

En relación a las pruebas rápidas de inmunocromatografía, es necesario que su interpretación se dé con precaución debido a que los laboratorios que las fabrican reportan alta sensibilidad y especificidad; sin embargo en estudios controlados, algunos investigadores han encontrado numerosas inexactitudes, en particular en anfetaminas y opiáceos.⁽⁹⁾ Otros⁽¹⁰⁾ han reportado problemas de exactitud para cannabinoides entre 52 a 90%, para opiáceos de 37 a 90%, para anfetaminas de 44 a 83%, y para cocaína de 72 a 92%. Desde luego, estas pruebas tienen algunas ventajas sobre las demás, como es el tiempo, la rapidez en la obtención de resultados y que no se requiere una cadena de custodia.⁽¹¹⁾

PUNTOS DE CORTE

Cuando por primera vez se establecieron puntos de corte para valorar los resultados de las drogas de abuso, el interés fue identificarlas sin producir resultados falsos positivos.

Los puntos de corte en inmunoensayos de metabolitos de opiáceos fueron de 300 µg/L, para metabolitos de cannabinoides (THC) 100 µg/L, para metabolitos de cocaína (BEG) 300 µg/L, para anfetaminas 1 000 µg/L, para fenciclidina (PCP) 25 µg/L, y para benzodiazepinas 100 µg/L.⁽¹²⁾ Más tarde el valor de corte de cannabinoides bajó a 50 µg/L,⁽¹³⁾ y el de opiáceos aumentó 2 000 µg/L.⁽¹⁴⁾

Con los métodos cualitativos, la mayoría de las personas que consumen dosis bajas no se les puede detectar en pruebas de orina, por lo que se requieren métodos más sensibles para detectarlos, vgr: el criterio para NIDA/SAMHSA para

metabolitos de cocaína (BEG) es de 300 µg/L (300 ng/ml). La norma para la comercialización de los reactivos para las placas de inmunocromatografía, es que detecten hasta ese nivel del analito. Los jóvenes después de un fin de semana de consumo ligero se les pueden detectar niveles entre 90 a 200 µg/L. Por lo que si, empleamos placas de inmunocromatografía para detectar cocaína (COC), con límite de sensibilidad de 300 ng/ml, el resultado será un falso negativo.

Recientemente se han propuesto nuevos puntos de corte por debajo de los establecidos por SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration) con objeto de mejorar la detección de estas drogas. Para FPIA se ha propuesto 250 µg/L en anfetaminas, 14 µg/L en THC, 72 en BEG, 76 en opiáceos y 10 en PCP. Para EMIT 700 µg/L en anfetaminas, 35 µg/L en THC, 60 µg/L en BEG, 76 µg/L para opiáceos, y 5 µg/L para PCP.⁽¹⁵⁾

Con métodos con puntos de corte más bajos, es recomendable evaluar a poblaciones de jóvenes, así como también a la población pediátrica que ha sido expuesta a la cocaína, vgr: disminuyendo de 300 µg/L a 80 µg/L se reporta en más de 100% el aumento de muestras positivas, provenientes de niños expuestos a esta droga.⁽¹⁶⁾ Para el empleo de diferentes puntos de corte se hace necesario comparar los diferentes métodos mediante ROC.⁽¹⁷⁾

ANTICUERPOS EN INMUNOENSAYOS QUE DETECTAN DROGAS

En la identificación de opiáceos, cocaína, anfetamina o barbituratos, la sensibilidad y especificidad varían dependiendo del método, metabolito, tipos de anticuerpos monoclonales o policlonales empleados, y si se hace amplificación con doble anticuerpo; asimismo, el punto de corte puede variar, se reporta que puede disminuir a 5 µg/L en el caso de la morfina, 50 µg/L para la cocaína y sus metabolitos, 25 µg/L para anfetaminas y sus metabolitos, y 50 µg/L para barbituratos.⁽¹⁸⁾

La ventana de detectabilidad de las drogas en orina varía dependiendo del tipo de droga, condición física del individuo, estado de hidratación y balance de fluidos, ruta de ingestión de la droga, cantidad de droga usada, y frecuencia de uso.⁽¹⁹⁾

Anfetaminas. La mayoría de los anticuerpos empleados en los inmunoensayos van dirigidos contra la d-anfetamina. La sensibilidad de estos inmunoensayos depende del método y tipo de anticuerpo,^(20,21) y a su vez estos anticuerpos dependen del método de purificación de los mismos.⁽²²⁾ Estos ensayos pueden detectar por reacción cruzada l-anfetamina, d-l anfetamina, d-metanfetamina, 4-cloro-anfeta-

mina, y algunos otros compuestos con estructuras similares a MDA (3,4-methylenedioxyamphetamine), y a MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine). La anfetamina se detecta en orina en un periodo de 1 a 4 días. Cuando el consumo de anfetamínicos es crónico se puede detectar durante varias semanas. También se han desarrollado anticuerpos monoclonales para detectar metanfetaminas, estos anticuerpos van dirigidos contra epítopes en donde el hidroxilo del carbono de la cadena lateral y el anillo aromático juegan un papel importante.^(23,24)

Cocaína y metabolitos. La mayoría de los anticuerpos empleados en los inmunoensayos son de tipo policlonal, y van dirigidos a benzoilecgonina y detectan por reacción cruzada, entre otros a cocaína y ecgonina. Dependiendo del consumo, y del método, estos detectan la benzoilecgonina entre 2 a 3 días. Después de aplicación parenteral, se detectan entre 3 a 6 horas postdosis. Poco se han empleado los anticuerpos monoclonales para el diagnóstico, la mayoría de estos anticuerpos se han desarrollando experimentalmente para inmunoterapia.^(25,26)

Opiáceos. Los anticuerpos empleados en inmunoensayos van dirigidos contra la morfina, detectan morfina, codeína, nalorfina e hidromorfona. Los opiáceos se pueden detectar de 2 a 4 días después de la aplicación. Se han empleado inmunoensayos de inhibición competitiva con fragmentos Fab de anticuerpos monoclonales con especificidad a morfina, con objeto de aumentar la sensibilidad y estudiar el metabolismo de esta droga.⁽²⁷⁾ Cuando se emplean anticuerpos monoclonales en métodos diagnósticos, se ha reportado una sensibilidad analítica de 100 pg/ml.⁽²⁸⁾ Para otros metabolitos como la buprenorfina la sensibilidad analítica mediante radioinmunoensayo llega a 10 pg/ml.⁽²⁹⁾ Anticuerpos a morfina en los sujetos consumidores o en trabajadores expuestos a opiáceos o narcóticos pueden alterar los resultados de estas pruebas.^(30,31)

Fenciclidina (PCP). Los anticuerpos empleados en inmunoensayos van dirigidos a fenciclidina y detectan por reacción cruzada, entre otros, a 4-OH fenciclidina, ciclazocina, dextrometorfano y prolintano. La determinación de fenciclidina se recomienda realizar en el lapso máximo de 1 a 2 semanas después del consumo de la droga. Los anticuerpos monoclonales dirigidos a los derivados de fenciclidina se han diseñado para estudiar interacciones de la droga con sus receptores.⁽³²⁾

Marihuana (THC). Los anticuerpos a THC en inmunoensayos van dirigidos contra el ácido 11-nor-delta-9-THC-9-carboxílico, y detectan por reacción cruzada entre otros, a ácido 11-nor-delta-8THC-9 carboxílico, 11-OH-delta-9-THC y canabinol. En orina estas drogas se detectan entre 1 a 4 días, en uso moderado de 2 a 10 días y en uso intenso de 4 a 6 semanas. La inhalación pasiva da resulta-

dos negativos. En el terreno de la biotecnología de los anticuerpos contra THC se han publicado algunos trabajos interesantes sobre inmunógenos no cannabinoides derivados de benzapiran acoplados a tiroglobulina bovina, que inducen una respuesta inmune celular con una amplia reactividad cruzada a metabolitos cannabinoides.⁽³³⁾ Por otra parte, los investigadores de Syva han desarrollado anticuerpos anticomplejo inmune a tetrahidrocanabinol, este anticuerpo une al antiTHC en un epítipo reconocido por un antiidiotipo, lo que favorece el aumento de la afinidad y especificidad de este tipo de anticuerpos en los inmunoensayos.⁽³⁴⁾ Estos dos ejemplos muestran que la inducción y el tipo de anticuerpos producidos para emplearlos en los inmunoensayos son de mayor importancia.

IDENTIFICACIÓN DE ADULTERANTES

La validez de las pruebas para la identificación de drogas de abuso depende de la integridad de la orina, es decir, que no se le adicione algún adulterante o se modifique la muestra mediante algún procedimiento físico-químico.

Los adulterantes se han empleado para invalidar la identificación de drogas de abuso en las pruebas de orina, los hay de origen comercial y de origen casero.

Algunos de los mecanismos de interferencia para detectar las drogas de abuso son: 1) por ingestión de drogas “terapéuticas” como neurolépticos y anorexígenos; 2) por dilución, ingesta de abundantes líquidos, y empleo de diuréticos, o dilución externa de la orina; 3) por ingesta de productos con principios químicos similares a las drogas de abuso, productos herbolarios (poppy seeds) o vitaminas; 4) empleo de orina artificial u orina de otros sujetos; y 5) adición de sustancias a los tubos de pruebas.

Mediante una adecuada cadena de custodia se pueden detectar algunos métodos de manipulación como el intercambio de orinas y la dilución externa de la orina.^(35,36)

Entre las pruebas que se efectúan para identificar adulterantes están la medición de creatinina urinaria, nitritos, pH urinario, gravedad específica, e identificación de glutaraldeído, blanqueadores (lejía), cromatos/clorocromato de piridino, yoduros y peróxido/peroxidadas.

CREATININA, NITRITOS, PH, Y GRAVEDAD ESPECÍFICA

El método más común de adulterar las muestra de orina es por dilución, en particular la dilución se ha empleado para alterar las pruebas después del consumo de THC y cocaína. La dilución de la orina se ha reportado hasta en un 86% de casos.^(19,37) Para diluir la orina se emplea té en cápsulas

o líquidos con productos naturales, o por la ingesta excesiva de agua; también se han empleado diuréticos combinados con vitaminas y creatina, para simular una concentración adecuada de creatinina.⁽³⁸⁾

La creatinina en orina en sujetos sanos está entre 20 a 100 mg/dl. Se considera una orina diluida cuando la concentración de creatinina urinaria es menor de 10 mg/dl pero mayor que 5 mg/dl, con densidad relativa menor o igual a 1 003 kg/L pero mayor o igual de 1 001 kg/L.

Se define una orina como sustituida cuando la concentración de creatinina es igual o menor de 2 mg/dl y la densidad relativa es igual o menor de 1 001, kg/L o igual o mayor de 1 020 kg/L.

Las orinas adulteradas tienen un pH igual o menor de 3 o igual o mayor de 11, y nitritos sobre 500 mg/L. La temperatura de la orina debe de encontrarse entre 32 a 38 °C.

Los nitritos deben estar en un rango de 0 a 10 mg/dl. La muestra se considera alterada si tiene más o igual a 50 mg/dl. Los nitritos en solución ácida, se han empleado especialmente para manipular inmunoensayos y métodos cromatográficos con THC.⁽³⁹⁾

El pH de la orina debe estar entre 4.5 y 8.5, éste se modifica con la presencia de blanqueadores, limpiadores de alcantarillas, detergentes, vinagre, ácidos, en particular el ascórbico, polvo para hornear (Royal), amonio, peróxido y peroxidadas.

PRUEBAS DE TAMIZADO ESPECÍFICAS PARA ALGUNOS ADULTERANTES (PTA)

Como parte del comportamiento humano la respuesta ante los métodos de detección de drogas de abuso en particular en áreas de trabajo ha generado la búsqueda y el empleo de numerosas sustancias que tratan de inactivar, bloquear o reducir la sensibilidad, y especificidad de las pruebas de laboratorio. Entre los adulterantes más comunes están glutaraldeído, blanqueadores, clorocromato de piridinio, aldeído glutárico, cromato, Visina (tetrahidrozolina), todos ellos se pueden detectar en orina mediante pruebas de tamizado o por medio de cromatografía.

El glutaraldeído fue uno de los primeros reactivos empleados para adulterar las pruebas realizadas con Syva EMIT-II.⁽⁴⁰⁾

Otros compuestos que se emplean son los oxidantes, como hipocloritos, yoduros,⁽⁴¹⁾ cloritos, cloratos, percloratos, perganmanatos, ácido crómico, trióxido de cromo, clorocromato de piridinio, cromatos, peróxidos, peroxidadas,⁽⁴²⁾ sulfóxidos y ácido nítrico.^(43,44) Muchas de estas sustancias alteran los ensayos para THC, opiáceos, morfina y LSD.⁽⁴⁵⁾

ESTRATEGIAS DE SELECCIÓN DE PRUEBAS

En consideración a lo anterior podemos recomendar lo siguiente: las pruebas rápidas de inmunocromatografía pueden ser útiles en estudios de prevalencia, para control familiar, o en algunos casos de emergencia, aunque en estos últimos la inmunocromatografía es una buena herramienta,⁽⁴⁶⁾ para otros debe de ser evaluada en forma rigurosa. En los casos de identificación de consumidores crónicos, selección de personal, en el protocolo para identificar intoxicaciones y en control de la libertad condicional se sugiere se empleen pruebas de tamizado como EIA y TLC. Para el control de recién nacidos de padres consumidores de drogas de abuso o en el programa de "orinas limpias" se sugiere se empleen pruebas semicuantitativas, vgr: RIA y FPIA. Para procedimientos judiciales y daños a terceros se hace necesario en todos los casos confirmar las pruebas primarias o de tamizado con CGM. Adicionalmente en todos los casos se hace necesario emplear pruebas de tamizado para descartar que en las muestras de orina existan adulterantes.

REFERENCIAS

1. Medina-Mora ME, Cravioto P, Villatoro J, Fleiz C, Galvan-Castillo F, Tapia-Conyer R. Consumo de drogas entre adolescentes: resultados de la Encuesta Nacional de Adicciones, 1998. *Salud Pública Mex.* 2003;45 Suppl 1:S16-25.
2. Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas (CICAD). Panorama global sobre el consumo de drogas en el mundo y en las Américas, Secretaría General de la Organización de Estados Americanos, Washington, DC, 2006.
3. Reglamento de la Ley Orgánica de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Baja California. Publicado en el Periódico Oficial No. 28, Tomo CVI, Sección III, 2 de Julio de 1999.
4. The World Anti-Doping Agency. The 2006 prohibited list, International standard. www.wada-ama.org. 2006.
5. Diccionario de la Lengua Española. Real Academia Española. 22ª Edición Española. 2001.
6. Martín Alonso. Diccionario del Español Moderno. 6ª Edición, España. 1981.
7. Richardson T. Pitfalls in forensic toxicology. *Ann Clin Biochem* 2000; 37:20-44.
8. Lana Harrison, Arthur Hughes. The Validity of Self-Reported Drug Use: Improving the Accuracy of Survey Estimates en: Lana Harrison The Validity of Self-Reported Drug Use in Survey Research: An Overview and Critique of Research Methods. NIDA Research Monograph 167. 1997; 167: 17-36.
9. Taylor EH, Oertli EH, Wolfgang JW, Mueller E. Accuracy of five on-site immunoassay drugs-of-abuse testing devices. *J Anal Toxicol.* 1999; 23:119-24.
10. Jenkins A J, Goldberger B A. On-Site Drug Testing. Totowa, NJ: Humana Press, 2002.
11. George S, Braithwaite RA. Use of On-Site Testing for Drugs of Abuse. *Clin Chem* 2002; 48:1639-46.
12. Department of Health and Human Services. Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs. *Fed Regist* 1988;53:11970-89.
13. Department of Health and Human Services. Revised mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs. *Fed Regist* 1994;59:29908-31.
14. Department of Health and Human Services. Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs. *Fed Regist* 1997;62:51118-20.
15. Luzzi VI, Saunders AN, Koenig JW, Turk J, Lo SF, Garg UC, Dietzen DJ. Analytic performance of immunoassays for drugs of abuse below established cutoff values. *Clin Chem* 2004;50:717-22.
16. Soldin SJ, Morales AJ, D'Angelo LJ, Bogema SC, Hicks JC. The importance of lowering the cut-off concentrations for urine screening and confirmatory tests for benzoylcegonine/cocaine [Abstract]. *Clin Chem* 1991;37:993.
17. Zweig MH and Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem* 1993; 39:561-77.
18. Spiehler VR, Collison IB, Sedgwick PR, Perez SL, Le SD, Farnin DA. Validation of an automated microplate enzyme immunoassay for screening of postmortem blood for drugs of abuse. *J Anal Toxicol* 1998;22:573-9.
19. Cone EJ, Lange R, Darwin WD. *In vivo* adulteration, excess fluid ingestion causes false-negative marijuana and cocaine urine test results. *J Anal Toxicol* 1998; 22: 460-73.
20. de la Torre R, Badia R, Gonzalez G, Garcia M, Pretel MJ, Farre M, Segura J. Cross-reactivity of stimulants found in sports drug testing by two fluorescence polarization immunoassays. *J Anal Toxicol* 1996;20:165-70.
21. Suttijitpaisal P, Ratanabanangkoon K. Immunoassays of amphetamines: immunogen structure vs antibody specificity. *Asian Pac J Allergy Immunol* 1992;10:159-64.
22. Choi J, Kim C, Choi MJ. Influence of the antibody purification method on immunoassay performance: hapten-antibody binding in accordance with the structure of the affinity column ligand. *Anal Biochem* 1999;274:118-24.
23. Choi MJ, Choi J, Park J, Eremin SA. Localization of the epitope in methamphetamine and its antibody use for the detection of methamphetamine and benzphetamine by polarization fluoroimmunoassay. *J Immunoassay* 1995;16:263-78.
24. Faraj BA, Israili ZH, Kight NE, Smismann EE, Pazdernik TJ. Specificity of an antibody directed against d-methamphetamine. Studies with rigid and nonrigid analogs. *J Med Chem* 1976;19:20-5.
25. Paula S, Tabet MR, Farr CD, Norman AB, Ball WJ Jr. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship modeling of cocaine binding by a novel human monoclonal antibody. *J Med Chem* 2004 ;47:133-42.
26. Danger Y, Devys A, Gadjou C, Galons H, Blanchard D, Follea G. Development of monoclonal antibodies directed against cocaine and cocaine metabolites: potential new tools for immunotherapy. *Hybrid Hybridomics* 2004;23:212-8.
27. Yang TB, Yuan YH, Zhong P, Qu LN, Yang B, Li YH, Ju G. Group-selective immunoassay for the detection of morphine in urine. *Hybrid Hybridomics* 2004;23:69-72.
28. Rahbarizadeh F, Rasaee MJ, Madani R, Rahbarizadeh MH, Omidfar K. Preparation and characterization of specific and high-affinity monoclonal antibodies against morphine. *Hybridoma* 2000;19:413-7.
29. Debrabandere L, Van Boven M, Daenens P. Development of a radioimmunoassay for the determination of buprenorphine in biological samples. *Analyst* 1993;118:137-43.
30. Gamaleya N, Tagliaro F, Parshin A, Vrublevskii A, Bugari G, Dorizzi R, Ghielmi S, Marigo M. Immune response to opiates: new findings in heroin addicts investigated by means of an original enzyme immunoassay and morphine determination in hair. *Life Sci* 1993;53:99-105.
31. Biagini RE, Klinecicz SL, Henningsen GM, MacKenzie BA, Gallagher JS, Bernstein DI, Bernstein IL. Antibodies to morphine in workers exposed to opiates at a narcotics manufacturing facility and evidence for similar antibodies in heroin abusers. *Life Sci.* 1990;47:897-908.
32. Casalotti SO, Kozikowski AP, Fauq A, Tuckemantel W, Krueger KE. Monoclonal antibodies against a phencyclidine derivative are used to investigate protein-ligand interactions. *Eur J Pharmacol.* 1993;247:209-13.
33. Salamone SJ, Bender E, Hui RA, Rosen S. A non-cannabinoid immunoassay used to elicit antibodies with broad cross-reactivity to cannabinoid metabolites. *J Forensic Sci.* 1998;43:821-6.
34. Ullman EF, Millburn G, Jelesko J, Radika K, Pirio M, Kempe T, Skold C. Anti-immune complex antibodies enhance affinity and specificity of primary antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:1184-9.
35. Warner EA, Walker RM, Friedmann PD. Should informed consent be required for laboratory testing for drugs of abuse in medical settings?. *Am J Med* 2003;115:54-8.
36. Evans DG. Chain-of-custody errors can quickly undermine the case in court. *Occup Health Saf* 1992;61:48-9.
37. Fraser A, Worth D. Monitoring urinary excretion of cannabinoids by fluorescence-polarization immunoassay; A cannabinoid-to-creatinine ratio study. *Therap Drug Monitor* 2002;24:746-50.
38. Fraser AD, Zamecnik J. Impact of lowering the screening and confirmation cutoff values for urine drug testing based on dilution indicators. *Ther Drug Monit.* 2003;25:723-7.
39. Tsai SC, ElSohly MA, Dubrovsky T, Twarowska B, Towt J, Salamone SJ. Determination of five abused drugs in nitrite adulterated urine by immunoassays and gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1998;22:474-80.

40. George S, Braithwaite RA. The effect of glutaraldehyde adulteration of urine specimens on Syva EMIT II drugs-of-abuse assays. *J Anal Toxicol* 1996;20:195-6.
41. Jones C, Kuntz D, Feldman M. Urine adulteration testing for iodine by HPLC (P25). *J Anal Toxicol* 2004;28:297.
42. Tsai S, ElSohly MA, Tsai SF, Salamone SJ. Modulation of Oxidizing agents adulteration by manipulation of urinary pH values. *J Anal Toxicol* 2001;25:368.
43. Valtier S, Cody JT. Characterization of the effects of stealth adulterant on drugs-of-abuse testing. *J Anal Toxicol* 2001;25:369.
44. Cody JT, Valtier S. Effects of stealth adulterant on immunoassay testing for drugs-abuse. *J Anal Toxicol* 2001;25:466-70.
45. Schwarzhoff R, Cody JT. The effects of adulterating agents on FPIA analysis of urine for drugs of abuse. *J Anal Toxicol* 1993;17:14-7.
46. Tomaszewski C, Runge J, Gibbs M, Colucciello S, Price M. Evaluation of a rapid bedside toxicology screen in patients suspected of drug toxicity. *J Emerg Med.* 2005;28:389-94.