

INVESTIGACIÓN DE COCAÍNA Y MARIHUANA EN MECONIO DE NEONATOS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL PÚBLICO. PRIMERA EXPERIENCIA REALIZADA EN LA CIUDAD DE CÓRDOBA, ARGENTINA

Suárez, Andrés; Peirano, Alberto; González, Inés; Odierna, Edgar; Gait, Nilda; Llebeilli, Ruth; Hansen, Cristian*

Laboratorio LACE SA. Vélez Sarsfield 562, Ciudad de Córdoba, Córdoba, Argentina (5000).

Teléfono: 0351-4246666. Fax: 0351-4218013.

* Correspondencia: cristian_hansen@hotmail.com

Resumen: INVESTIGACIÓN DE COCAÍNA Y MARIHUANA EN MECONIO DE NEONATOS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL PÚBLICO. PRIMERA EXPERIENCIA REALIZADA EN LA CIUDAD DE CÓRDOBA, ARGENTINA. Andrés Suárez; Alberto Peirano; Inés González; Edgar Odierna; Nilda Gait; Ruth Llebeilli; Cristian Hansen. *Acta Toxicol. Argent. (2009) 17 (2): 41-47*. Se investigaron cocaína y marihuana en meconio de neonatos nacidos en la Maternidad Provincial de la Ciudad de Córdoba y se relacionaron los resultados con las semanas de gestación y los pesos al nacer. Las determinaciones se realizaron utilizando inmunoensayo y cromatografía gaseosa-espectrometría de masas. Se analizaron 48 muestras de meconio recolectadas durante un año (2007-2008). De los 48 meconios analizados, 17 correspondieron a neonatos masculinos y 31 a neonatos femeninos. Se procesaron en paralelo 15 muestras de meconio como controles normales (niños no expuestos a drogas) seleccionados por historia clínica y controles prenatales. De las 48 muestras de meconio 13 fueron positivas para cocaína y/o marihuana. El peso y las semanas de gestación de los neonatos cuyas muestras fueron positivas se compararon frente a un grupo control normal, hallándose mayores diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$ – $p<0,0001$) en relación a los pesos al nacer. Estos resultados, a pesar del reducido número de casos analizados, resaltan la importancia de la investigación de drogas de abuso en meconio, lo que permite confirmar el uso de drogas por parte de la madre durante el período gestacional temprano, y de ese modo interpretar las alteraciones (déficit de peso) observadas en el neonato al nacer, atribuibles al consumo de drogas durante la gestación.

Palabras clave: Cocaína; Marihuana; Meconio; Exposición prenatal; Córdoba; Argentina.

Abstract: SCREENING OF COCAINE AND MARIJUANA IN MECONIUM OF NEWBORNS FROM A PUBLIC HOSPITAL OF CITY OF CÓRDOBA, ARGENTINA. Andrés Suárez; Alberto Peirano; Inés González; Edgar Odierna; Nilda Gait; Ruth Llebeilli; Cristian Hansen. *Acta Toxicol. Argent. (2009) 17 (2): 41-47*. We investigated cocaine and marijuana in meconium of newborns attended at the Hospital Materno Provincial of Córdoba City and the results were correlated with birthweight and weeks of pregnancy. The samples were analyzed using immunoassay (FPIA) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for confirmation. Forty eight samples of meconium were collected during one year period (2007-2008). Of the 48 samples screened, 17 correspond to masculine sex and 31 to feminine. Fifteen samples of meconium from normal newborns (newborns not exposed to drugs) selected by maternal self report, pregnancy controls were processed as control group. The results obtained in 48 samples of meconium showed 13 cases tested positive for cocaine and/or marijuana. Birth weight and weeks of gestation of newborn with positive sample results were compared with a control group. A statistically significant difference ($\alpha= 0.05$ - $p<0.0001$) was found in relation to birth weight. Although these results arise from a small number of samples, these data have relevance in public health and show the importance of the screening of drugs of abuse in meconium to confirm use in mothers during pregnancy and to interpret the alterations observed in the newborn after delivery as consequence of drug use in prenatal period.

Keywords: Cocaine; Marijuana; Meconium; Gestational exposure; Córdoba, Argentina.

INTRODUCCIÓN

El problema del abuso de drogas en mujeres embarazadas y sus complicaciones en el feto y neonatos han recibido amplia atención en los últimos 30 años, debido principalmente a que el uso de drogas de abuso, legales y no legales, ha ido en aumento, en especial, en el grupo de mujeres en edad fértil y gestantes. En este segmento poblacional el problema se agrava porque por lo general la gestante consumidora de drogas no utiliza una única sustancia, sino

que con frecuencia asocia varias drogas simultáneamente, consume tabaco/alcohol, está mal nutrida, padece de infecciones y no recibe adecuado control durante el embarazo (1).

Es sabido que la utilización de drogas por la mujer durante el período gestacional conlleva a una situación de riesgo para sí misma y para el organismo en formación. Así, la exposición prenatal a drogas se asocia a un amplio rango de complicaciones obstétricas y alteraciones físicas y neuroconductuales que se tornan eviden-

tes en la primera infancia (1-9). A este respecto, se ha reportado que más del 75% de los niños expuestos gestacionalmente a drogas han tenido problemas de salud en comparación al 27% de los niños nacidos no expuestos (10). Asimismo, las complicaciones obstétricas fueron mayores en madres consumidoras de drogas, por lo que la detección temprana de este problema ayudaría a disminuir o incluso evitar tanto los efectos nocivos sobre la salud de la madre, del feto o del recién nacido, los problemas sociales que esto trae aparejado así como los costos que generan para la salud pública (10). Numerosas evidencias indican que las drogas consumidas por la madre pueden atravesar la barrera placentaria y exponer al feto de forma pasiva a la acción de la droga y/o sus metabolitos, lo cual lo condiciona a padecer síndrome de abstinencia in útero o en el momento del parto, así como a sufrir numerosas complicaciones asociadas (2,4,11-13). Entre los problemas documentados en los recién nacidos se ha observado aborto, muerte intrauterina, malformaciones, bajo peso, prematuridad, sufrimiento fetal, síndrome de abstinencia agudo, subagudo o crónico, infecciones verticales, ruptura prematura de membranas, asfixia, infarto cerebral, patrones de respiración y cardíacos anormales, etc. (5). Los métodos utilizados para conocer la prevalencia del consumo de drogas de la mujer gestante comenzaron con auto reportes maternos o encuestas, que luego eran utilizados como instrumentos de pesquisa para valorar la exposición prenatal a drogas. En la actualidad el laboratorio de toxicología ha tomado un rol protagónico identificando la presencia de drogas y/o metabolitos de drogas de abuso en matrices biológicas alternativas (faneras o meconio). El meconio es la matriz a elegir en la búsqueda de exposición prenatal a drogas. El meconio es la primera deposición del neonato y constituye la matriz donde se acumulan las drogas a las que el recién nacido ha estado expuesto ya sea por deposición directa a través de la bilis o mediante la ingestión de líquido amniótico. Se sabe que el meconio comienza a formarse en el segundo trimestre del embarazo y, además, las drogas acumuladas en esta matriz no sufren procesos importantes de degradación. Por lo tanto, la presencia de drogas en meconio ha sido propuesta como indicador de exposición de los últimos seis meses de gestación, brindando una ventana diagnóstica más amplia que la orina. Además sus ventajas consisten en que es más fácil de

recolectar, las cantidades obtenidas son generalmente suficientes para un análisis completo de identificación y confirmación de drogas y su obtención constituye un muestreo no invasivo (10,14-17). En base a estos antecedentes el propósito del presente trabajo fue identificar cocaína y marihuana en meconio de neonatos cuyas madres habían sido consideradas clínicamente sospechosas de haber consumido algún tipo de drogas, para destacar la importancia del análisis toxicológico como elemento confirmatorio del diagnóstico presuntivo realizado por el médico y para contar con datos epidemiológicos locales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos y equipamiento

El agua destilada grado HPLC, el metanol grado HPLC y el cloroformo p.a. fueron marca Sintorgán. Las columnas de extracción de drogas fueron marca Extrelut de Merck. El buffer fosfato pH=7,2 fue provisto por Abbott para los kits de inmunodiagnóstico. Los reactivos de diagnóstico para inmunofluorescencia polarizada -cocaína y marihuana (THC)- fueron provistos por Abbott de Argentina. Se utilizó un autoanalizador AXSYM para el análisis. Los reactivos derivatizantes fueron BSTFA (N,O-bis(trimetil siliil)trifluoracetamida con 1% de trimetilclorosilano (TMCS) provisto por Sigma-Aldrich de Argentina. Para la confirmación de las drogas derivatizadas (cocaína, benzoilecgonina y delta-9-tetrahidrocannabinol) se utilizaron las bibliotecas espectrales NIST y SATURN incluidas en el software del cromatógrafo gaseoso Varian CP-3800 con detector por espectrometría de masas Ion Trap Varian Saturn 2000. Las columnas capilares Varian FactorFour VF-5ms 30 m x 0,25 mm ID DF=0,25 fueron provistas por Varian Argentina.

Procedencia de las muestras

Se analizaron 48 muestras de meconio remitidas al laboratorio en cadena de frío por el Hospital Materno Provincial de la Ciudad de Córdoba, recolectadas en el período de un año (2007-2008). De los 48 meconios analizados, 17 correspondieron a neonatos de sexo masculino y 31 a neonatos de sexo femenino. En todos los casos las muestras fueron obtenidas por pedido médico en base a la sospecha clínica de exposición a drogas de abuso en la madre y/o el niño por lo cual no fue necesario el consentimiento escrito de la madre además de ser esta matriz un material de des-

carte (*). Las muestras de meconio obtenidas fueron almacenadas a -20°C hasta su análisis para la búsqueda de cocaína y marihuana. Junto a estas muestras fueron procesadas en paralelo 15 muestras de meconio como controles normales (niños no expuestos a drogas, con resultados negativos para las drogas investigadas) seleccionados por historia clínica y controles prenatales. La prueba estadística de T de Student fue realizada con el Software Infostat/Estudiantil Versión 2.0.

Análisis de meconio

Las muestras de meconio fueron analizadas por duplicado usando una fracción de ensayo de 0,5 gramos para cada prueba. Las extracciones se realizaron en 5 ml de metanol y posteriormente fueron agitadas en agitador mecánico por 30 segundos y centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos. El sobrenadante se filtró en papel Whatman N° 40 y se evaporó con nitrógeno para su posterior reconstitución en 1,0 ml de buffer fosfato 0,1 M (pH 7,2). Una alícuota de 0,5 ml se separó para ser procesada por inmunoensayo de fluorescencia polarizada siguiendo el protocolo provisto por el fabricante (FPIA, Abbott AxSYM). Con la otra fracción se procedió a la extracción líquido-líquido en columnas Extrelut (Merck) y se eluyó con 10 ml de cloroformo. El eluato fue evaporado bajo corriente de nitrógeno y derivatizado con 50 μl de BSTFA (conteniendo 1% TMCS) a 70°C por 20 minutos. Un microlitro (1 μl) se inyectó en el cromatógrafo gaseoso con detección por es-

pectrometría de masas (GC-MS, Varian Saturn 2000) bajo el modo SIS (single ion scanning). Los resultados obtenidos por inmunoensayo fueron confirmados por cromatografía gaseosa con espectrometría de masas.

RESULTADOS

En la *Tabla 1* se presentan los datos de las 48 muestras analizadas estratificadas por los pesos (18) del neonato y el número de muestras positivas encontradas.

De las 13 muestras positivas (27% del total de muestras analizadas), el 46% correspondió a cocaína (6 casos), el 46% a marihuana (6 casos) y 1 caso (8%) a la combinación de cocaína y marihuana. Al analizar los porcentajes de casos positivos en relación a los pesos, se observó que los neonatos con pesos menores a 2.500 gramos, presentan una positividad del 57,14% respecto de los neonatos con pesos mayores a 2.500 gramos, lo que sugiere una fuerte correlación entre consumo materno y bajo percentil de peso.

El *Gráfico 1* presenta los resultados positivos y negativos de los 48 meconios analizados distribuidos en función del peso del neonato. Este gráfico ayuda a visualizar la proporción de casos positivos en neonatos cuyos pesos son menores a 2501 gramos lo que podría sugerir una vulnerabilidad para el normal desarrollo del neonato ante la exposición a estas drogas durante el período gestacional y a su vez complementa la interpretación de resultados mostrados en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Clasificación de muestras en función del peso del neonato y resultados de drogas de abuso (cocaína y marihuana).

Peso en gramos (**)	N° de muestras		COC-THC			Peso en gramos (**)	Porcentaje de DAM (+)
	DAM (-)	DAM (+)	COC (+)	THC (+)	(+)		
1500 - 2000	2	2	4	0	2		
2001 - 2500	4	6	10	5	1	< a 2500	57,14%
2501 - 3000	24	3	27	1	2		
> a 3000	5	2	7	0	1	> a 2500	14,71%
Totales	35	13	48	6	6		

DAM: drogas de abuso en meconio; COC: cocaína; THC: marihuana.

(**) En base a Barry M. Lester, 2001 (18).

(*) Es una obligación ético-legal del médico solicitar una prueba diagnóstica para ayudar al estudio de la afección del paciente. En este caso se solicitó como prueba diagnóstica la detección de drogas de abuso en una matriz no invasiva (meconio), y a los efectos de cumplir con los requisitos de formalidad y registro de los pedidos diagnósticos en el Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de la Ciudad de Córdoba adonde fueron derivadas las muestras para su screening inicial. Además, este tipo de muestreo corresponde a un estudio epidemiológico no vinculante, por lo que no hubiera sido necesario que sea evaluado por un comité de ética institucional. No obstante se consultó con los Comités de ética de las Instituciones intervinientes para proceder correctamente en la realización de este estudio.

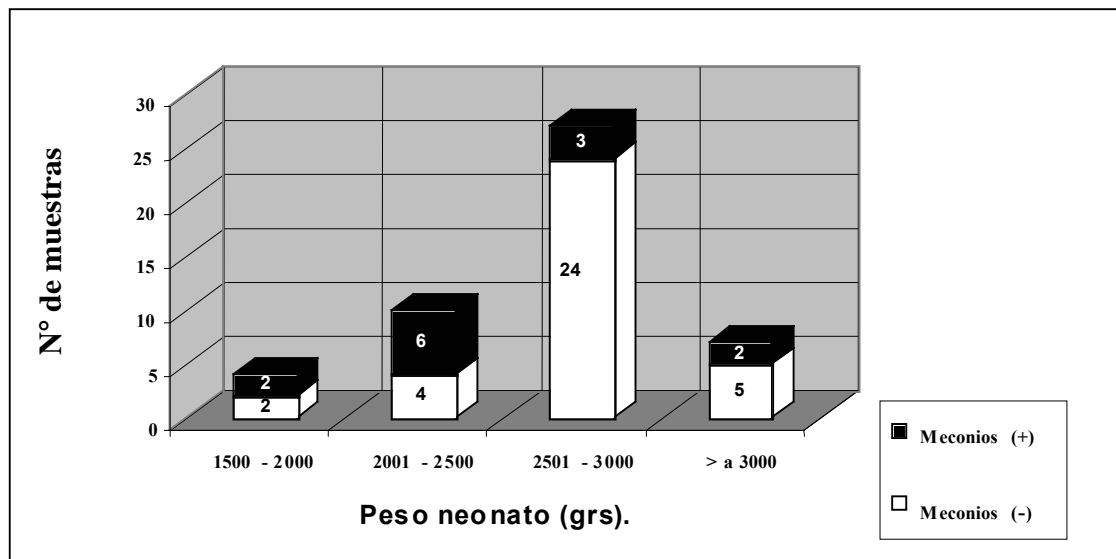


Gráfico 1. Proporción de casos positivos y negativos en función del peso del recién nacido

En la *Tabla 2* se presenta la estadística descriptiva (medias y errores) de los pesos de los recién nacidos y semanas de gestación de las 48 muestras analizadas, a los efectos de discriminar entre grupos de meconios positivos y meconios negativos, puesto que el grupo de

meconios negativos no es válido como grupo control ya que solo se investigaron dos sustancias (cocaína y marihuana) no pudiendo comprobarse el consumo de otras sustancias y/u otros factores de vulnerabilidad que puedan afectar las variables estudiadas.

Tabla 2. Parámetros estadísticos de las variables tiempo gestacional y peso neonato en función de resultados positivos (P) y negativos (N) en meconio.

<u>Resultado de Drogas</u>	<u>Resumen</u>	<u>Tiempo Gestacional (semanas)</u>	<u>Peso neonato (gr)</u>
N	n = 35		
N	Media	38,51	2814,57
N	D.E.	1,38	390,18
N	Mín	34,00	1880,00
N	Máx	40,00	4200,00
N	Mediana	39,00	2870,00
P	n = 13		
P	Media	36,92	2397,69
P	D.E.	1,75	451,74
P	Mín	33,00	1850,00
P	Máx	40,00	3200,00
P	Mediana	37,00	2300,00

En la *Tabla 3* se presentan los parámetros estadísticos de la población con meconios po-

sitivos (13 casos) y las muestras controles (15 casos).

Tabla 3. Estadística descriptiva de las variables peso del neonato y semanas de gestación del grupo cuyas muestras de meconio mostraron resultado positivo a drogas (DAM) y del grupo control (no expuestos a drogas).

<i>n</i>	Grupo control		Grupo DAM positivo	
	15	15	13	13
Resumen	<u>PesosCtrl</u>	<u>SemCtrl</u>	<u>PesosMtra</u>	<u>SemMtra</u>
Media	3201,33	38,73	2397,69	36,92
D.E.	258,84	0,96	451,74	1,75
Mín	2890,00	37,00	1850,00	33,00
Máx	3700,00	40,00	3200,00	40,00
Mediana	3100,00	39,00	2300,00	37,00

PesosCtrl: Pesos de neonatos del grupo control; SemCtrl: semanas de gestación de neonatos del grupo control; PesosMtra: pesos de neonatos con meconio positivo a drogas; SemMtra: semanas de gestación de neonatos con meconio positivo a drogas.

Al comparar estadísticamente estos dos grupos (expuestos y no expuestos a las drogas investigadas) en función de los pesos al nacer, se observaron diferencias significativas ($\alpha=0,05$; $p<0,0001$).

Al comparar las semanas de gestación del grupo de neonatos con meconios positivos a dro-

gas con el grupo control también se observaron diferencias significativas ($\alpha=0,05$; $p=0,0039$).

En el *Gráfico 2* se muestra la distribución de las semanas de gestación y los pesos para los dos grupos analizados (expuestos y no expuestos).

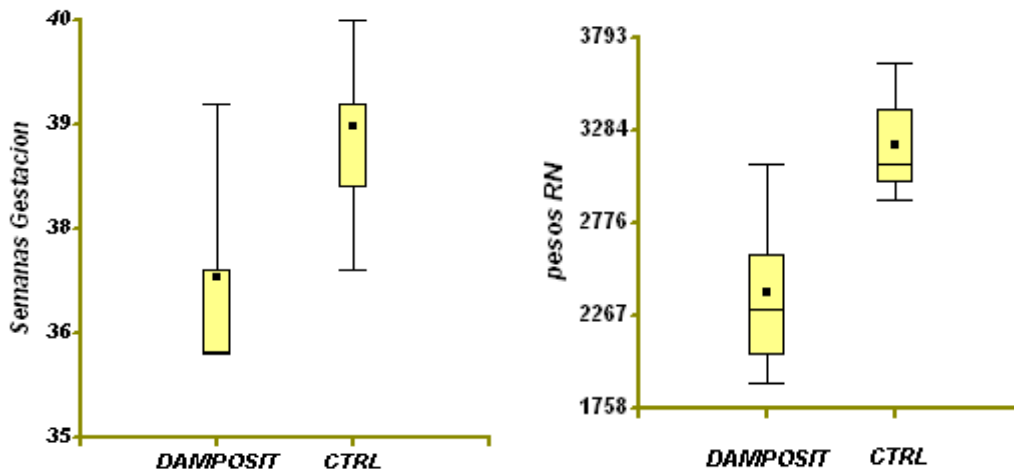


Gráfico 2. Análisis comparativo del grupo de neonatos con resultados positivos para drogas en meconio y un grupo control (no expuesto). Variables analizadas: semanas de gestación y pesos del neonato en gramos (RN: recién nacido).

DISCUSIÓN

Los datos obtenidos muestran la alta prevalencia (27%) de consumo de drogas (cocaína y marihuana) en mujeres en período de gestación que concurren a ese centro asistencial y que podrían ser consideradas clínicamente adictas. Este aspecto debe ser considerado, puesto que las muestras fueron elegidas sesgadamente en base a sospechas de consumo en madres a partir de una evaluación médica

al momento del parto. Dado el pequeño tamaño de la población en estudio y la carencia de datos clínicos obtenidos a partir de controles prenatales periódicos, no se pudieron sacar conclusiones acerca de los posibles efectos prenatales de las drogas estudiadas en este trabajo. No obstante, se encontraron diferencias en aquellos neonatos con meconios positivos a drogas, con respecto al grupo control no expuesto, observando diferencias estadísti-

camente significativas en relación a los pesos y al tiempo de gestación, tal como lo describe la bibliografía (5). En este trabajo, la diferencia fue más significativa en la comparación de los pesos de los neonatos de ambos grupos.

Estos datos constituyen el primer reporte de análisis de drogas de abuso en meconio en Latinoamérica, y por ello poseen relevancia para la Salud Pública constituyendo un aporte importante y original para la toma de conciencia de las agencias gubernamentales encargadas del control y la prevención del consumo de drogas en mujeres en edad de procrear. Es de destacar que este tipo de análisis toxicológico, intenta obtener una evaluación real de la exposición fetal a drogas de abuso para la identificación de niños en riesgo y para proveer tratamiento temprano y seguimiento. Además, con los datos obtenidos por la metodología utilizada en este trabajo, se podrían confeccionar estadísticas más ajustadas a la realidad, que permitan optimizar la tarea de la Salud Pública y alertar sobre la incidencia de la exposición a drogas de abuso en la población, logrando así la detección temprana de los efectos nocivos en esta población vulnerable y su impacto en la salud.

Agradecimiento

Este trabajo fue realizado con aportes provenientes de los autores. Agradecemos al laboratorio LACE por su apoyo permanente a la formación de bioquímicos toxicólogos y a la desinteresada colaboración del Prof. Dr. Otto Orshinger y a la Dra. Miriam Virgolini por su aporte en la discusión y traducción del trabajo.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Hutson, J. (2006). A prenatal perspective on the cost of substance abuse in Canada. *J FAS Int.* 4(9). [en línea]. Disponible en http://www.motherisk.org/JFAS_documents/jfas_6006_e9.pdf. (consulta: noviembre de 2008).
2. Echeverría Lecuona, J. (2003). Drogas en el embarazo y morbilidad neonatal. *An Pediatr.* 58(6), 519-522.
3. Botella Calvo, H. (2004). Maternidad, infancia y drogas: implicaciones clínicas. *Adicciones* 16 (4), 295-314.
4. Chiriboga, C.; Brust, J.; Bateman, D.; Allen Hauser, W. (1999). Dose-response effect of fetal cocaine exposure on newborn neurologic function. *Pediatrics.* 103, 79-85.
5. Solís Sanchez, G.; Solís Sanchez J.; Díaz González, T. (2001). Exposición prenatal a drogas y efectos en el neonato. *Trastornos Adictivos* 3(4); 256-262.
6. Black-Delaney, V.; Covington, Ch.; Templin, T.; Ager, J.; Martier, S.; Sokol, R. (1998). Prenatal cocaine exposure and child behaviour. *Pediatrics.* 102(4), 945-950.
7. Scher, M.; Richardson, G.; Day, N. (2000). Effects of prenatal cocaine/crack and other drug exposure on electroencephalographic sleep studies at birth and one year. *Pediatrics.* 105, 39-48.
8. Law, K.; Stroud, L.; LaGasse, L.; Niaura, R.; Liu, J.; Lester, B. (2003). Smoking during pregnancy and newborn neurobehavior. *Pediatrics.* 111(6), 1318-1324.
9. Ostrea, E.M.; Mantaring, J.; Silvestre, M. (2004). Drugs that affect the fetus and newborn infant via the placenta or breast milk. *Pediatr Clin N Am.* 51, 539- 579.
10. Lozano, J.; García-Algar, O.; Vall, O.; de la Torre, R.; Scaravelli, G.; Pichini, S. (2007). Biological matrices for the evaluation of in utero exposure to drugs of abuse. *Ther Drug Monitoring.* 29(6), 711- 733.
11. Committee on Drugs. (1998). Neonatal Drug Withdrawal. *Pediatrics.* 101(6), 1079-1088.
12. Díez-Delgado Rubio, J.; Belmonte Martín, B.M.; Chamizo Moreno, B.; Ortega, M.A.; Espín Gálvez, J.; Martínez, A. (2001). Análisis descriptivo del síndrome de abstinencia neonatal en nuestro medio. *Rev. Esp. Pediatr.* 57(6), 491-496.
13. Feng, T. (1993). Substance Abuse in Pregnancy. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 5(1), 16-23.
14. Kwong, T.C.; Ryan, R.M. (1997). Detection of intrauterine illicit drug exposure by new born drug testing. *Clin Chem.* 43(1), 225-242.
15. Huestis, M.A.; Choo, R.E. (2002). Drugs abuse's smallest victims: in utero drug exposure. *Forensic Science International* 128, 20-30.

16. Bar-Oz, B.; Klein, J.; Karaskov, T.; Koren, G. (2003). Comparison of meconium and neonatal hair analysis for detection of gestational exposure to drugs of abuse. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.* 88, F98-F100.

17. Alano, M.A.; Ngougma, E.; Ostrea Jr, E.M.; Ganesh Konduri, G. (2001). Analysis of nonsteroidal antiinflammatory drugs in meconium and its

relation to persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 107, 507-523.

18. Lester, B.M.; ElSohly, M.; Wright, L.L.; Smeriglio, V.L.; Verter, J.; Bauer, Ch.R.; Shankaran, S.; Bada, H.S.; Chip Walls, H.; Huestis, M.A.; Finnegan, L.P.; Maza, P.L. (2001). The Maternal Lifestyle Study: Drug Use by Meconium Toxicology and Maternal Self-Report. *Pediatrics*. 107, 309-317.