



Àmbit Administració de justícia

CENTRE D'ESTUDIS JURÍDICS
I FORMACIÓ ESPECIALITZADA

Ausiàs March, 40
08010 Barcelona
TEL. 93 207 31 14
FAX: 93 207 67 47



Generalitat de Catalunya
Departament de Justícia

D O C U M E N T S D E T R E B A L L

INVESTIGACIÓ

(Ajuts a la investigació, 2007)

**Execució penal de sancions a
conductors sota els efectes de
drogues d'abús basat en estudis de
saliva: injerència i repercussió futura
en el Codi**

Autor

Amparo Arroyo
M. Teresa Carboné
Agustí Mora

Any 2007

El Centre d'Estudis Jurídics i Formació Especialitzada ha editat aquesta recerca respectant el text original dels autors, que en són responsables de la correcció lingüística.

Les idees i opinions expressades en la recerca són de responsabilitat exclusiva dels autors, i no s'identifiquen necessàriament amb les del Centre d'Estudis Jurídics i Formació Especialitzada.

Avis legal

Els continguts d'aquesta investigació estan subjectes a una llicència de Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada 2.5 Espanya de Creative Commons, el text complet de la qual es troba disponible a <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/es/legalcode.ca>. Així, doncs, se'n permet còpia, distribució i comunicació pública sempre que se citi l'autor del text i la font (Generalitat de Catalunya. Departament de Justícia. Centre d'Estudis Jurídics i Formació Especialitzada), tal com consta en la citació recomanada inclosa a cada article. No se'n poden fer usos comercials ni obres derivades.

Resum en català:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/es/deed.ca>

Índex

1a Part:

Marc teòric i conceptual

- 1-A Introducció.
- 1-B Glàndules salivals. Localització
- 1-C Glàndules salivals. Estructura.
- 1-D Producció de saliva.
- 1-E Producció i estímul salival: acció del sistema nerviós.
- 1-F Flux salival i pH.
- 1-G Alteracions de la saliva per malalties sistèmiques.
- 1-H Detecció de drogues i hormones en saliva.
- 1-I Saliva i fluid oral:obtenció i factors d'influència.
- 1-J Cinètica de les drogues en saliva: efectes del pH i de la contaminació.
- 1-K Altres consideracions teòriques.

2a PART

- 2-1.1 Hipòtesi.
- 2-1.2 Objectius.
- 2-1.3 Metodologia
- 2-1.4 Resultats.

Tests ràpids i estudis recents en conductors:

- 2-A ESTUDIS RECENTS- Cas 1: 1972
- 2-B ESTUDIS RECENTS. Cas 2: 1983- Conductors
- 2-C ESTUDIS RECENTS. Cas 3: 1994- Austràlia
- 2-D ESTUDIS RECENTS. Cas 4: 1994- Alemanya
- 2-E ESTUDIS RECENTS. Cas 5: 1999- Projecte Rosita

3a PART

Consideracions medico legals i aspectes forenses:

- 3-A Introducció
- 3-B Ciència i llei
- 3-C Legalitat en la recollida de mostra
- 3-D Estabilitat de les mostres
- 3-E Prevenció de riscos en la manipulació de mostres de saliva
- 3-F Cadena de custòdia.
- 3-G Credibilitat científica

4a PART

- 4-A Conclusions i Discussió
- 4-B Aspectes legislatius actuals i repercussió futura
- 4-C Aplicabilitat Pràctica de l'estudi
- 4-D Annex

5a PART

Bibliografia

1- Primera part

1-A Introducció

Es considera adient fer unes consideracions teòriques de la saliva, la seva fisiologia i els factors que influeixen en la seva producció.

La saliva és un fluid del que s'ha dit citant a Mandel "que presenta el drama de la sang, la sinceritat de la suor i la cridada emocional de les llàgrimes" actualment adquireix gran interès per ser una mostra , no invasiva i fàcil i de gran ajuda per al diagnòstic de malaltia sistèmiques, monitoratge de drogues i detecció de drogues d'abús incloent l'alcohol. La saliva presenta una resposta controlada pel sistema secretomotor dels nervis simpàtic i parasimpàtic i pot estar influenciada per nombrosos estímuls.

Els pacients que prenen medicació que afecten al sistema nerviós central o perifèric tindran una saliva amb alteracions en la composició i en el volum. Certes malalties sistèmiques poden incloure les mateixes alteracions en la saliva. El ritme circadià determina el volum de la saliva que se segrega i la concentració de electròlits . Això implica una àmplia variació intern i intra individus. El gran avantatge d'aquest fluid quant es compara amb la sang és la fàcil accessibilitat i recol·lecció de la mateixa. Per això pot ser obtinguda en situacions clínicament difícils com en nens, pacients ansiosos o disminuïts on obtenir una mostra de sang pot ser difícil.

1-B Glàndules salivals. Localització

La saliva s'origina en els tres parells de glàndules salivals majors (paròtida submandibular i sublingual) altres fonts responsables de la seva constitució són l'àrea entre les dents i la geniva lliure, un nombre benvolgut de 450-750 glàndules salivals accessòries menors situades en la llengua , mucosa bucal i paladar i secrecions oro-naso/ faríngies. La saliva conté bacteris i els seus metabòlits, cèl·lules epitelials, eritròcits, leucòcits i restes alimentaris (1) .

Aquestes restes cel·lulars es consideren indicadors potencials de risc en odontologia (2,3). Durant les infeccions les cèl·lules epitelials es degraden i augmenta la permeabilitat capil·lar el que fa que se cedeixin components del plasma com la albúmina. En individus sans aquesta cessió és petita. S'intenta identificar indicadors salivals en pacients de risc per a malalties dentàries, de la mucosa gingival i dentària (4).

El principal constituent de la saliva és l'aigua. Les concentracions d'ions no són constants, però a causa del ritme circadià és hipotònica comparada amb el sèrum. La seva producció es pot estimular o reduir per diferents factors. L'estímul olfatori i gustativa, l'estimulació mecànica (xiclets) , el dolor, els canvis hormonals ,les drogues simpaticomimètiques i parasimpaticomimètiques augmenten el flux salival. per contrast els canvis hormonals menopàusics, l'estrès, les drogues antiadrenèrgiques i anticolinèrgiques disminuiran el flux salival.

En condicions saludables els adults produeixen de 500-1500 ml de saliva per dia o entre 0-6 ml /m. El volum i la composició poden variar segons els moments i segons els individus. Per això quan s'han d'identificar els components de la saliva de qualsevol origen s'ha d'emfatitzar que dependrà de la cooperació del subjecte, de l'estat psicològic (empipat o espantat), influències hereditàries i hàbit higiènic, tractament mèdic, mètode de mostreig i moment del dia. per això la composició varia contínuament tant qualitativa com quantitativa. Això és una de les majors diferències amb el sèrum on les concentracions dels components solament varien entre marges molt estrets.

1-C Glàndules Salivals: Estructura

Els tres parells de les principals glàndules té diferents orificis, el ductus parotídeo, es denomina també ductus de Stenon. El ductus mandibulars i el ductus sublinguals es denominen ductus de van Wharton i Bartholino respectivament. Les altres glàndules salivals no tenen orifici col·lector propi.

Les glàndules salivals es componen d'acinis, on es produeix la saliva primària isotònica amb el plasma . Els distints acinis es connecten amb ductus intercalats i la saliva es drena en la cavitat oral mitjançant conductes secretors estriats. Durant aquest pas la concentració dels electròlits canvia a causa de un transport iònic actiu el que origina una saliva hipotònica comparada amb el plasma . El número d'acinis i l'activitat de biosíntesis disminueix en general amb l'edat encara que pot ser molt diferent entre els individus. Cada tipus de glàndula salival produeix una secreció típica. La paròtida produeix un fluid serós la submandibular una secreció serosa mucosa mentre que la sublingual produeix una secreció sol mucosa. Les glàndules menors situades en la mucosa bucal dels llavis i en el paladar produeixen una secreció viscosa(5).

1-D Producció de saliva

La saliva s'emmagatzema en grànuls en els acinis de les glàndules salivals. Aquests grànuls s'emplen amb aigua on es dissolen els electròlits i les proteïnes. Fins i tot sense estimulació, les glàndules salivals segreguen un fluid. Per a aquest procés la saturació de les glàndules amb sang és de gran importància(6). És un procés que requereix energia pel que es necessita el ATP que es genera metabolitzant el glucogen intracel·lular (7). A més d'aquest procés exocític hi ha una font paral·lela de fluid que procedeix del interstici especialment quan es produeix estimulació de la saliva. També depèn del contingut líquid de l'organisme.

Els electròlits més abundants en la saliva són el sodi, potassi, el clorur i bicarbonat. calci, magnesi i fosfat estan presents en menor concentració. Tots ells procedeixen del sèrum del que són transportats activament fins als acinis i conductes estriats. Els components orgànics de la saliva , proteïnes i glicoproteïnes se sintetitzen en les cèl·lules secretores. dintre de les cèl·lules pot ocórrer una unió covalent amb sucres, fosfats i sulfats. Algunes proteïnes com la lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasi, cistatinas i histatinas, poden tenir en la saliva un paper important com agents antibacterians i antifúngics. les mucines també tenen un paper antiviral mentre que la alfaamilasa, lipasa, proteïnasa, DNasa i RNasa té importància en el procés digestiu.

Aquestes secrecions de proteïnes i electròlits es col·leccionen en vacuoles i són guiades cap a la part apical de la cèl·lula en grànuls. la secreció ocorre quan la salivació s'estimula (8).

1-E Producció i estímul salivar: Acció del Sistema Nerviós

El sistema nerviós autònom té un paper important en la salivació tant en el volum com en la viscositat i concentració de proteïnes i mucina. Tant el sistema nerviós simpàtic com el parasimpàtic poden causar salivació encara que les respectives secrecions seran diferents en constitució i volum.

La secreció de les glàndules seroses i seromucoses són innervades tant pel simpàtic com pel parasimpàtic. El ritme de secreció augmenta de forma sinèrgica quan ambdues innervacions s'estimulen simultàniament (9). Una estimulació alfa-adrenèrgica causa influència en la secreció de calci el que origina una secreció rica en proteïnes. A causa de una concentració baixa de mucina l'aspecte clínic no és espumós ni viscos i també origina un volum baix. L'estimulació beta-adrenèrgica no origina flux de electròlits però dóna lloc a alt contingut proteic en els acinis i com a conseqüència a una secreció viscosa i rica en mucina . Aquesta saliva tindrà un aspecte espumós i un volum més aviat baix (10). Les glàndules mucoses d'altra banda solament s'estimulen colinèrgicament. Aquest tipus d'estímul causa flux d'ions sodi, potassi i calci a la membrana cel·lular i origina una substància aquosa rica en electròlits i major volum (11) .

1-F Flux Salival i ph

El flux salival depèn del moment del dia, ritme circadià i tipus d'estimulació. Pot variar des de 0 ml/min (durant el somni) a 6 ml/min (estimulació mitjançant xiclet i estímul àcid sobre la llengua). L'aportació de les diferents glàndules salivals a la producció total de saliva també depèn del ritme circadià i el tipus d'estimulació. La paròtida i la submandibular contribueixen més al volum total de saliva excepte durant el somni. durant el somni la producció de la paròtida és gairebé nul·la.

La velocitat amb la qual la saliva passa a través dels conductes salivals determinarà la concentració d'electròlits. Com més gran velocitat menys temps per a l'intercanvi d' electròlits. A causa de la major concentració de bicarbonat en condicions de descans hi ha major capacitat tamponadora quan s'estimula la salivació. La concentració de proteïnes i mucina segregades per minut s'incrementa proporcionalment amb el ritme de secreció . La proporció de bicarbonat com component tampó durant el descans és del 50% aproximadament. en aquestes condicions la glàndula paròtida gairebé no produirà saliva encara que la produiran les altres glàndules majors. el resultat serà una secreció viscosa i rica en proteïnes que establitzarà el pH de la saliva al voltant de 7. No obstant això el volum segregat serà baix. en condicions d'estimulació el paper del bicarbonat com component tampó augmentarà i estarà disponible en concentracions altes. Aquesta capacitat de tamponar és important per a protegir les dents contra la desmineralització i lubricar els teixits de la cavitat oral (12).

1-G Alteracions de la saliva per malalties sistèmiques

Fibrosis Cística. Per l'elevada viscositat de la saliva dels pacients amb fibrosis cística, hi ha alteracions en la concentració dels electròlits comparats amb la població sana. La RNasa és quatre vegades més alta en els subjectes amb fibrosis quística homozigòtics que en els controls. a causa del augment de calci i proteïnes en la saliva es formen complexos calci-proteïcs insolubles. La concentració salival de sodi i fosfat també estan augmentades i es creu que juguen un paper important en la protecció contra la caries dental (13).

Esclerosi Múltiple: No obstant això hi ha una reducció important en la producció de IgA durant el descans, mentre que en la saliva estimulada l'absència d'una banda de 140k Dóna és important en el control de la malaltia. No obstant això aquestes troballes no són concloents per a diagnosticar la malaltia (14).

Diabetis mellitus: la insulina pot estimular la salivació i és obvi que els diabètics tenen disminuït el flux salival. les concentracions d'albumina i de IgG de la saliva sense estimulació són menors que en subjectes control sans (15).

Cirrosis alcohòlica. la glàndula paròtida s'augmenta en el 50% dels pacients el que suposa un 50% de reducció en el flux laminar i una reducció de les concentracions de sodi bicarbonat i clorurs així com del total de la concentració de proteïnes.

Síndrome de la Immunodeficiència adquirida. Els anticossos HIV i els factors inhibidors i inactivant també es detecten en la saliva. Es creu que entre altres components la mucina salival es relaciona amb aquest aspecte a l'agregarà les partícules HIV el que les inhibeix d'infiltrar-se en les cèl·lules epitelials. Els pacients HIV tenen un flux salival baix i la presència d' antibacterians, antifúngics i antivirals també és baixa el que suposa augment de la vulnerabilitat a les infeccions. Quan la malaltia és activa la concentració salival de proteïnes s'augmenta degut a la cessió de las proteïnes a través de l'epiteli (16).

Epilèpsia: En pacients epilèptics prenent fenitoïna s'observa hipertròfia gingival per augment de la síntesi de col·lagen i acumulació de proteoglicans. la hipertròfia gingival requereix una higiene oral impecable. altre efecte de la fenitoïna és una deficiència selectiva de IgA que origina disminució de les defenses similars efectes s'observen quan s'usen la ciclosporina A i la nifedipina (17)

Síndrome de la boca ardent: És més prevalent en dones postmenopàusiques. La proporció home dona és de 1:7. Els pacients es queixen de dolor en la cavitat oral i boca seca. la boca seca també pot procedir de l'ús de antidepressius amb freqüència prescrits en aquesta població. No obstant això la salivació pot estimular-se de forma mecànica i química. la concentració de proteïnes de la saliva estimulada és menor que en subjectes control mentre que la concentració de mucina és major. El potassi, clorur i fosfats s'augmenten en aquests pacients (18).

Disfunció renal: la meitat dels pacients en hemodiàlisi de queixen de hiposalivació, alè amoniacal i canvis en el gust així com dolor en la mucosa. les proteïnes salival totals sodi i potassi són similars a les del plasma. El pH salival és major que en subjectes control sans a causa del augment de la concentració d' urea (19).

Medicació i Saliva: degut al fet que la regulació neuronal de la saliva es realitza sistemàticament nerviós simpàtic i parasimpàtic totes les drogues que interfereixen en el sistema nerviós perifèric tindran una influència indirecta en la producció de saliva. Algunes drogues poden interferir amb l'estimulació nerviosa i unes altres poden destruir o canviar les funcions de la glàndula els acinis o els ductus. aquests efectes poden ser hiper o hiposalivació. ambdós fenòmens són font de desconfort. pot ocórrer també una hipertròfia o hiperplàsia del teixit glandular que alteri la composició de la saliva. certs tipus de medicació produeixen canvis en el gust i halitosis. Alguns pacients no tindran aquests efectes col·laterals però uns altres poden patir-los de forma important.

Reducció i augment del flux salival: Les drogues que bloquegen el sistema nerviós sempre redueixen el flux saliva com efecte col·lateral. El tipus d'innervació determinarà el volum i la composició de la secreció (20) Les drogues anticolinèrgiques com els antidepressives tricíclics (amitriptilina, desfibrem-ne, imipramina, maprotilina, lofepramina, maprotilina, nortriptilina) antihistamínics (difenilhidramina, prometazina) antiparkinsonianes (biperideno, benztropina, prociclidina) antipsicòtic (clorpromazina, butirofenona, sals de liti) entre uns altres produeixen disminució del flux salival.

Les drogues que poden produir aquests efectes són la arecolina, metacolina, muscarina, oxotremorina, pilocarpina, carbachol, betanecol, cisapride, neostigmina, nizatidina etc.

Canvis morfològics en la glàndula salival Hi ha drogues terapèutiques que poden causar hipertròfia glandular. Drogues com la dobutamina i el prenalterol causen hipertròfia a causa de l'estimulació betareceptor. El metoprolol, antagonista beta 1 disminuirà el pes de la glàndula (21) .

Gust i halitosis . Algunes drogues són responsables de mal gust el que varia d'un canvi en el sabor, sense diferenciació entre el salat i el cítric, a un gust metàl·lic(ex. el metronidazole) o amarg. Altres drogues especialment les quals duen sofre, causen halitosis com el dimetilsulfòxid, acetilcisteina i dinitrato de isosorbide (22) .

1-H Detecció de drogues i hormones en saliva

La detecció de drogues en saliva és d'interès en el monitoratge de drogues i en la detecció de drogues il·lícites. Pot indicar un ús recent de les drogues. Moltes drogues s'uneixen a les proteïnes del sèrum en un cert grau. Solsament la droga no unida o lliure és activa farmacològicament. generalment la concentració total s'amida per a ús terapèutic perquè hi ha un equilibri entre la droga lliure i la unida.

La concentració de droga lliure es pot predir del total. No obstant això en certes condicions l'equilibri es pot alterar perquè la droga lliure mesura pot ser major que l'esperada del total de droga. això pot ocórrer en el cas de drogues fortament unides a les proteïnes i clínicament duu a toxicitat en el pacient fins i tot si la concentració es troba dintre del rang terapèutic. Les drogues que no són ionitzables dintre del valor del pH salival són adequades per a fer un monitoratge terapèutic en saliva (23). Abans que qualsevol droga circulant en el plasma passada al conducte salival ha de passar la paret capil·lar la membrana basal i la membrana de les cèl·lules glandulars. El pas per a aquest transport és el pas a través de la membrana lipofílica epitelial. diversos mecanismes estan involucrats en el pas de substàncies terapèutiques a través de la membrana epitelial, un procés de difusió passiva , un procés actiu per gradient de concentracions i una ultrafiltració a través dels porus de la membrana . La pinocitosis juga un paper menor que els anteriors (24)

Moltes drogues sembla ser que entren en la saliva per simple difusió passiva que es fa per gradient de concentració sense despesa de energia. El rang de difusió és funció de la concentració de la superfície sobre la qual es realitza , del grossor de la membrana i d'una constant de difusió que depèn de les propietats físic químiques de cada droga (25) . les variables que influeixen en aquest tipus de transport són el pH i el PK, la solubilitat en els greixos, la càrrega, el pes molecular i la configuració espacial el nivell de proteïnes no

l·ligats del plasma , la dosi i l'aclariment de la droga, el flux i pH salival, els enzims salivals i la capacitat de metabolitzaci3 de la droga (26) .

1-1 Saliva i fluid oral: obtenció i factors d'influència

La saliva s'ha de diferenciar dels fluids procedents de diferents fonts: saliva completa, barreja salival, fluid oral o fluids orals. Estrictament parlant la saliva procedeix de la glàndula salival i està lliure d'altres substàncies mentre que el fluid oral és una barreja de saliva de les glàndules i d'altres materials que poden estar presents en la boca tal com les cèl·lules de la mucosa i restes alimentosos (27).

El fluid oral representa una sèrie d'accions relacionades amb la digestió i neteja de la cavitat oral humitejant les membranes mucoses del tracte superior gastrointestinal i facilitant enzims per a la digestió. Conté electròlits del plasma com el poteci sodi clorur i bicarbonat i altres components com enzims, immunoglobulines i ADN (28) .

Diversos factors poden afectar la transferència de drogues a la saliva i el fluid oral i per això afectar a la detecció de drogues i si la concentració d'elles en aquests fluids es correlaciona amb la sang o el plasma . Les drogues originals , no els metabòlits es troben en general en el fluid oral perquè són més lipòfiles i passen més fàcilment a través dels capil·lars i la membrana cel·lular dels acinis. S'ha comentat que la unió a les proteïnes i el pH influeixen , aquesta unió varia de droga a droga , no obstant això solament la droga lliure difon en el fluid oral. El pH afecta la transferència de les drogues àcides i bàsiques des del plasma a la saliva. S'han desenvolupat models matemàtics per poder predir els intervals de concentració de drogues àcides i bàsiques en saliva i plasma i ajudar així a la interpretació (29). Quan les drogues s'ingereixen oralment o fumades (heroïna , metamfetamina, PCP, marihuana i cocaïna) poden ser detectades seguint a un ús recent en altes concentracions en el fluid oral a causa de l'existència de droga residual en la cavitat oral. En aquestes circumstàncies la interpretació estria afectada ja que la concentració trobada no reflectiria la concentració en sang . En suma la composició del fluid oral es pot afectar per molts factors incloent malalties en la cavitat oral (30).

Existeixen una varietat de mètodes disponibles per a recollir saliva i fluid oral. En alguns s'aconsegueix sense estimulació prèvia, pot ser recollida per arrossegament deixant caure la saliva en un recipient. Altres tècniques fan una estimulació on el més senzill són els moviments de la llengua, galtes i llavis sense cap estímul extern (31). La masticació de cera, parafilm, tefló, goma, o xiclet es consideren estímuls mecànics de producció de saliva. La degustació d'unes gotes de llimona o àcid cítric suposa un estímul gustatori en la producció de saliva. Després d'aquests mètodes la saliva es pot escopir, recollir en una turunda d'un material absorbent com el cotó. Una vegada que s'ha recollit en aquests materials la saliva s'obté per pressió i centrifugacions. no obstant això hi ha alguns problemes associats amb l'estimulació en la producció de saliva. S'ha vist que el parafilm pot absorbir alguna droga o metabòlits i per tant afectar a uns resultats. Així mateix la parafina conté components que poden afectar les anàlisis cromatogràfiques o l'exactitud. L'estimulació pot canviar la composició de la saliva i per tant la concentració de les drogues. l'estimulació amb àcid cítric canvia el pH de la saliva i per tant la concentració. S'ha vist que l'àcid cítric i el cotó poden alterar els resultats de les tècniques de Immunoassaig.

1-J Cinètica de les drogues en saliva: efectes del pH i de la contaminació.

Els primers investigadors van centrar els estudis en la detecció en saliva de drogues terapèutiques amb fins clíniques, No obstant això moltes drogues d'interès forense també s'havien investigat, el etanol, amfetamines, metamfetamines i altres amines simpaticomimètiques, barbiturats, benzodiazepines, codeïna, heroïna i les seves metabòlits i cannabinoides i PCP. Una paraula clau per als investigadors clínics i forenses era: la concentració de drogues d'abús en el fluid oral reflectia la concentració en la sang?. Degut al fet que el fluid oral és un filtrat de la sang les concentracions haurien de reflectir aquesta concentració i es van desenvolupar models matemàtics per a predir aquestes correlacions (32). Thompson et al van descriure que la concentració de cocaïna en plasma i saliva correlacionaven de forma significativa ($p < 0.001$) en un estudi on es van administrar tres dosi de cocaïna intravenosa. No obstant això Thompson i Cone van trobar que la concentració de THC en saliva era inicialment més alta que la del plasma suggerint que havia contaminació oral (33). Altres autors han descrit contaminació oral activa i passiva amb THC. La investigació també ha suggerit que la presència de THC en saliva solament es deu a la contaminació oral durant la ingestió de la droga. Cone va demostrar que la concentració en saliva de heroïna i les seves metabòlits, 6-acetilmorfina i morfina eren molt elevades en el plasma en la primera hora després de l'administració intranasal d' heroïna, suggerint de nou contaminació oral. Jenkins va comparar les concentracions d' heroïna en saliva i sang després d'administrar la droga via intravenosa i fumada. Després de fumar la concentració màxima d' heroïna en saliva va anar de 3534 a 20580 ng/ml mentre que el màxim d' heroïna va anar 30*ng/ml seguint a la via intravenosa. La relació de concentracions saliva sang va ser >5 en tots els punts en la via fumada mentre que va ser > 2 en la via injectada. Els autors atribueixen la diferència a la contaminació de la saliva i de la cavitat oral en la via fumada.

En estudis clínics controlats dissenyats per a determinar si la relació sang plasma de codeïna era previsible es va donar als subjectes una sola dosi de 30 mg de fosfat de codeïna líquid (34). El plasma i les mostres de saliva es van recollir i es va determinar la relació sang plasma. Després de l'administració oral les concentracions de codeïna del plasma van pujar entre 30 m i dues hores a nivells de 19 a 74 ng/ml. La contaminació de la cavitat oral amb codeïna procedent de l'administració realitzada era evident en les mostres recollides en les primeres 1-2 hores després de l'administració. Les concentracions de codeïna en la saliva als 15 minuts va anar de 690 a 15000 ng/ml. A conseqüència de la contaminació oral es va trobar una pobra relació entre la codeïna del plasma i la saliva quan les mostres es van recollir en la primera hora després de l'administració i es va incloure aquesta variable en l'avaluació ($r= 0.036$)

El pH de la saliva en individus sans normalment és de 6.2 fins a 7.4. Quan les drogues són bàsiques al disminuir el pH s'ionitza una major part de la droga i conceptualment la concentració de droga augmentarà en la saliva : La relació teòrica entre sang i plasma per a cada droga pot estimar-ne segons models matemàtics que relacionen el pH pK i les concentracions. En les equacions s'assumeix que el pH és de 7.4 i que la unió de les drogues a les proteïnes és menyspreable en la saliva . Aquests models permeten predir que petits canvis en el pH de la saliva poden produir grans canvis en la relació sang plasma. En l'estudi clínic portat a terme amb la codeïna es va recollir la saliva sense estimulació i escopint en recipients de polietilè inerts i es va determinar el pH de cada mostra de saliva. La relació sang plasma a pH 6 no era tan alta com predeïa l'equació aplicada (excepte en la primera hora d'administració de la droga quan encara no havia contaminació oral). A més havia una gran variabilitat inter i intra subjectes observada per a la relació sang plasma. No obstant això la disminució no era tan alta com predeïa el model. Kato i cols van descriure uns resultats similars per a la distribució de la cocaïna i les seves metabòlits en saliva (35). La conclusió va anar que la relació sang plasma

depenien del PH però també es afectable segons la forma que s'havia pres la mostra.

En l'estudi de Kato els autors indiquen que la concentració de cocaïna, benzoilecgonina i ecgonina metilester eren majors en la saliva no estimulada que en la estimulada. En el seu estudi la saliva es va estimular amb sucre i la relació de cocaïna entre no estimulada i estimulada va anar de 5.2:1. La relació per a benzoilecgonina i ecgonina metilester va anar almenys 5.5:1. basat en els resultats del primer estudi clínic, el de Kato, la aparent afectació del pH i els diferents mètodes de recollida de la saliva, es va dissenyar un segon estudi clínic per a determinar els efectes de la recollida en saliva en la concentració de codeïna. (36). En el grup control sense estimulació la recollida de saliva es va fer escopint en tubs inerts de polietilè (n=22). L'estimulació es va produir posant una gota de llimona en la boca als subjectes (n=5) abans de recollir la saliva o mitjançant *masticació de xiclet (n=5). Es van utilitzar dos col·lectors diferents en la recollida de saliva. La concentració de codeïna en les mostres recol·lectades escopint van ser majors que les detectades en les mostres recollides pels altres dos mètodes. La concentració mitja control va ser 3.6 vegades major que la concentració recollida per estimulació àcida i 1.3-2.0 major que en la recollida pels altres dos mètodes. L'àrea mitja sota la corba va ser també major en els subjectes control que en els quals es va recollir la saliva per estimulació àcida i en els restants. D'aquestes dades es dedueix que hi ha diferències en el temps de detecció de la codeïna i que està relacionat amb el mètode de recollida. En el grup control la codeïna es va detectar en totes s mostres de 12 hores i en 2/3 de les mostres de 24 hores.

Els estudis de recuperació de drogues suggereixen diferències en l' absorció o recuperació dels dispositius comercials. D'un dels avaluats la recuperació de codeïna i morfina va anar 46.7% i 39.1% menys que el control respectivament. També s'ha descrit que la quantitat recuperada dels dispositius utilitzats varia entre el 50%-90%. Es va dissenyar un estudi per a avaluar la recollida i recuperació de drogues en una sèrie de dispositius comercials (37).

Els dispositius avaluats van ser *Salivetrte *Intercept, *Finger *Colection, *Oralscreen i *Hooded *Colllceptor. Per a determinar el volum col·leccionat per cada dispositiu els tubs es van situar en una balança de laboratori i es va posar 2 g de saliva en cadascun i es van deixar el temps recomanat per cada fabricant. Es va treure el tub i es va pesar la saliva residual en cadascun.. La diferència entre els pesos inicial i final es va utilitzar per a calcular la quantitat de saliva absorbida per cada dispositiu

Kits de detecció de drogues d'abús en saliva

Des dels anys 80 s'han començat a fabricar kits d'immunoassaig per a la detecció de drogues d'abús.

En el mercat existeixen diversos dispositius per a recollir la saliva com l'Oral *Diffusion *Sink, *Proflow *Sialometer, *Orasure, *Salivette, *Intercept, *Oralscreen , *Finger col·lector, *Cozart etc. Aquests dispositius s'han utilitzat per a detectar etanol, esteroides, drogues d'abús i productes terapèutics. no obstant això presenten avantatges i limitacions que s'han estat objecte d'estudi en la literatura científica .

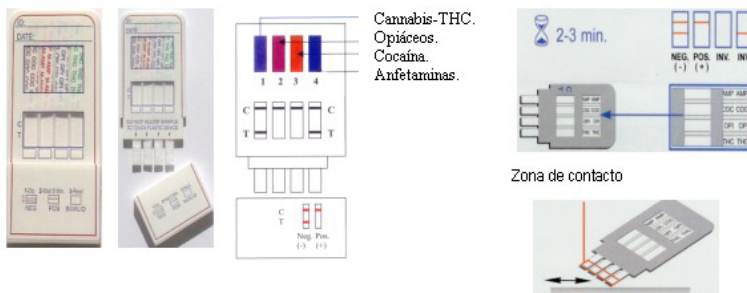


Fig. 1. Kits de lectura ràpida



Fig.2. Models de kits d'obtenció

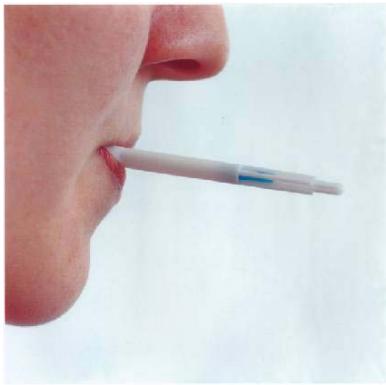


Fig.3.Recollida de Mostra



Fig.4. Kit de mesura

1-L Altres consideracions teòriques.

La recollida de mostra limitada o no coneguda ,una recuperació de volum desconeguda i una desconeguda recuperació de les drogues del aparell o mètode pot suposar un repte per al laboratori. Es necessiten mètodes de screening i confirmació més complexos per a arribar a la sensibilitat desitjada. Un volum limitat pot dificultar el screening o confirmació de diverses drogues; també un petit volum pot dificultar nous anàlisis. La recollida variable i el volum de recuperació entre els diferents aparells pot originar diferències quantitatives si s'assumeixen unes condicions en els dispositius que no es compleixen. Això pot confondre la interpretació i l'estimació de la concentració de droga en sang segons una *concentració en saliva.

Estabilitat de les drogues recollides i validesa de les mostres

Els dispositius indicats es van designar per a la recollida de la saliva i posterior anàlisis en el laboratori. Després de la recollida la mostra pot estar subjecta a manipulació , transport i magatzematge i l'estabilitat de les drogues en aquestes condicions serà un factor en la detecció i quantificació..

La literatura forense ha demostrat la necessitat de recollir mostres representatives per a assegurar l'exactitud i la interpretació de les anàlisis (38). De forma similar perquè la saliva sigui aseptica com una mostra adequada hem d'assegurar que s'ha pres una mostra vàlida i representativa. Això implica que ha d'haver mètodes per a assegurar la integritat de la mostra igual que es fa per a mostres d'orina. S'ha suggerit que la saliva era vàlida si contenia > 0.5, 0.1 o 1.0 ng/ml de IgG

Segona part

2-1.1-Hipòtesi:

La hipòtesi plantejada en aquest estudi es que la saliva es un bon medi per les determinacions toxicològiques.

2-1.2-Objectius

Els objectius del present treball són:

Objectius Concrets

- 1- Obtenir dades de la prevalença del consum recent de drogues d'abús en una població de conductors de vehicles a motor

- 2- Obtenir dades dels tòxics més freqüents trobats en les mostres analitzades

- 3- Relacionar el consum de tòxics amb alteracions en la conducta o temeràries en la població que es sotmet a l'estudi.

Objectius Específics

- 1- Determinar de manera qualitativa i quantitativa, si és possible, la presència de drogues d'abús en una mostra de la saliva dels conductors que formen part de l'estudi.

- 2- Comparar els resultats analítics amb la situació física dels subjectes derivada de l'apreciació i dades que es facin constar en la documentació informativa que acompanya al procediment administratiu.

- 3- Facilitar els resultats al Servei Català de Trànsit i als serveis interessats en el tema donada la transcendència social i legal dels mateixos en els procediments legals derivats.

- 4- Facilitar les dades obtingudes als serveis d'epidemiologia i salut pública així com l'Observatori Espanyol de Drogues com marcadors indirectes de l'evolució actual del consum de drogues.

5- Determinar mitjançant estudi estadístic del nombre de sancions administratives i penals que es podrien dur a terme amb les dades obtingudes.

6- Valorar les repercussions econòmiques i socials dins els diferents departaments de l'administració de justícia basades amb el resultat final i un possible canvi legislatiu.

2-1.3 Metodologia

Aquest estudi és un treball que s'ha desenvolupat en l'Institut de Medicina Legal de Catalunya amb la col·laboració del Servei Català de Trànsit para la detecció de drogues d'abús en saliva de conductors

Disseny de la recerca:

Estudi transversal analític.

Lloc de Treball.:

Servei de laboratori forense de l'Institut de Medicina Legal de Catalunya

Tamany de la Mostra:

mostres de saliva obtingudes per la Guàrdia Urbana de Barcelona, Girona ,Tarragona i policia local de el Prat de Llobregat a conductors de vehicles a motor.

Mètodes.

- 1- Obtenció de la mostra de saliva mitjançant un hisop incorporat al kit de Immunoassaig de la casa Cozart. Aquest hisop s'introdueix a la boca del individu fins que una marca indica que està del tot impregnat de saliva.
- 2- El hisop impregnat es posa en una dissolució tampó que porta el kit per ajudar a extraure els analits desitjats i treure viscositat a la mostra.
- 3- D'aquesta solució es tira una gota a cada línia del analit a analitzar. En el nostre cas 5 gotes , una a cada carril (que analitzen amfetamines, metamfetamines, cànnabis) i dues en el darrer carril que analitza conjuntament cocaïna i opiacis.
- 4- L'absència de color en el kit permet visualitzar la presència de cocaïna opiacis, amfetamines , cànnabis i metamfetamines d'acord a les especificacions del fabricant.

5- El fet de aparèixer una línia horitzontal al final indica que la solució ha corregut correctament per el tamís.

6- En cas de resultat positiu a alguna de les drogues d'abús que indicava el lector, es recollia una mostra addicional de saliva en uns tubs de plàstic (que contenia el kit) d'aproximadament 1 ml. de saliva per realitzar la confirmació per GC-MS

7- La interpretació de la lectura visual dels kits va ser realitzada per els agents de la Guàrdia Urbana de Barcelona, Girona ,Tarragona i policia local de el Prat de Llobregat que portaven la prova.

8- Les proves que van ser positives a drogues se'n van precintar i es van omplir els formularis amb el resultat corresponent

9- Els kits van ser traslladats al Servei de laboratori de l'Institut de Medicina de Legal a Collserola

10-El trasllat es va realitzar per agents de la Guàrdia Urbana de Barcelona, i policia local de el Prat de Llobregat i la cadena de custòdia es va garantir en tot moment.

Confirmació dels assaigs.

Les mostres es van a analitzar per cromatografia de gasos i espectrometria de masses de la següent manera.

En el cas de resultar una saliva positiva al immunoassaig , es procedeix a agafar la mateixa quantitat de saliva que de tampó fosfat a pH 6.5 i es vortejava durant 5 minuts. S'intenta que siguin 1 ml. de cada però molts cops l'escassetat de la mostra impedeix aquestes quantitats.

Un cop barrejat s'aboca el contingut en un toxitube A (casa comercial Varian) per realitzar una extracció líquid-líquid dels analits.

S'agita i centrifuga i després es recull la fase orgànica per portar-la a sequedat.

Es reconstitueix o derivatitza segons l'analit que s'està buscant:

Cocaïna - es reconstitueix directament amb 50 microlitres d'acetat d'etil.

Opiacis- es derivatitza amb 20 microlitres de BSTFA-TMS 1%

Cànnabis- es reconstitueix directament amb 50 microlitres d'acetat d'etil.

Amfetamines- es derivatitza amb 20 microlitres de PFPA i 20 microlitres de hexafluoro-2 propanol.

Metaamfetamines- es reconstitueix directament amb 50 microlitres d'acetat d'etil.

Un cop reconstituïdes o derivatitzades segons el cas, les mostres s'analitzen per cromatografia de gasos amb detector d'espectrometria de masses.

El cromatògraf de gasos es de la marca Varian i l' espectròmetre de masses també.

Els resultats obtinguts es qualifiquen amb tres ions i en casos de baixes concentracions s'usen tècniques de ms-ms.

Resultats

Abans de comentar els nostres resultats volem exposar l'experiència de les proves realitzades en distintes països

Tests ràpids i estudis recents en conductors:

Tan investigadors, com oficials de policia i jutges ja fa temps que sovint expressen la necessitat de tenir la possibilitat de realitzar tests ràpids per la detecció de drogues d'abús a peu de carretera.

A començament dels anys 90 es comença a obrir la possibilitat de que aquests tests es realitzin en la saliva. Aquesta matriu com veurem que la seva gran virtut es que es poc invasiva ajudarà a aquestes proves i obrirà un camp d'estudi que es tractarà en aquest treball.

Els tests ràpids podran determinar amb gran fiabilitat la presència d'unes drogues d'abús determinades (segons el test) i per tant la conducció sota la influència d'aquestes drogues.

Aquest test preliminar haurà de ser confirmat mitjançant tècniques més específiques que ja determinarem fins que no es doni una validesa legal directa ala mateixos.

2-A. Estudis recents- Cas 1: 1972

Ja des de fa uns anys, les proves en aquest fluid oral han estat considerades molt interessants i una de les primeres publicacions trobades en aquest camp parla sobre la detecció per Immunoassaig de drogues d'abús en saliva.(39).

En aquest estudi del any 72 es realitza una comparativa saliva-orina de drogues provinents del opi, amb els anys s'ha anat ampliant el camp d'estudi de diferents drogues i també la comparativa amb altres matrius com poden ser sang, cabell, suor...

Aquest estudi però va posar de manifest problemes que encara es mantenen avui en dia.

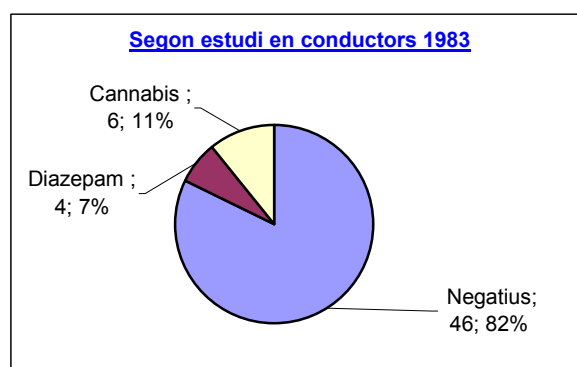
2-B. Estudis recents. Cas 2: 1983- Conductors

un altre estudi al 1983 on es mesura la concentració de drogues d'abús en saliva (anàlisi quantitativ) en conductors.(40).

En aquest estudi es partia de la recollida de 3 ml. de saliva dels conductors mitjançant una estimulació amb uns xiclets determinats i es dipositava en uns tubs d'assaig que quedaven segellats i tancats . El problema era la obtenció de la quantitat determinada en el protocol que era costosa en temps i moles cops les mostres eren d'un volum inferior.

L'anàlisi confirmatori es realitzava amb dos protocols diferents un per drogues cannabinoides i l'altre per la resta. En el primer cas s'havia de fer una modificació del mètode. Es detectaven per cromatografia de gasos amb detector de nitrogen-fosfor i detector de masses pels confirmatoris. L'estudi va ser realitzat en 56 conductors, però les obtencions de mostra es trobaven entre 1 ml i 1.5 ml cosa que no complia el protocol però va ajudar a establir noves evolucions en els mètodes al trobar aquest punt feble. Els resultats van ser de 6 conductors que van donar positiu a cannabinoides i 4 conductors positius a diazepam.

Fig. 1. N= 56



2-C. Estudis recents. Cas 3: 1994- Austràlia

Ja en el tercer estudi molt més ampli es va analitzar una mostra molt més amplia i seleccionada. Aquest estudi realitzat i publicat al 1994 :(41)

Es un estudi realitzat a Austràlia ja mes de du anys després però molt més definit i de on es van treure més conclusions que el anterior.

En aquest estudi es varen recollir 318 mostres de conductors de camions, 90 de conductors d'autobús i 210 de conductors genèrics. La confirmació dels anàlisis també es va dur a terme per cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses. Aquest estudi però mirava només drogues estimulants i no les separava en dues categories com el anterior. Aquestes drogues estimulants eren l'amfetamina, la efedrina, la fenflueramina, la metamfetamina, la metoxiamfetamina, la fentermina, li la fenilpropanolamina.

Els resultats s'exposa com curiositat la diferència trobada entre el tipus de vehicle que es conduïa i per tant el treball desenvolupat pels subjectes.

Fig.2. Conductors de camions. N= 318

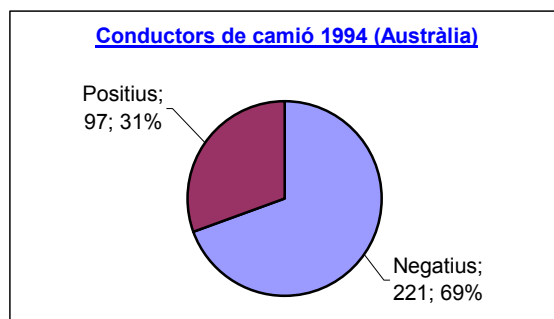


Fig.3: Conductors d'autobusos. N= 90

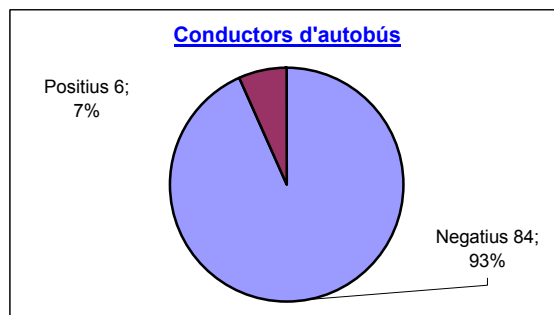
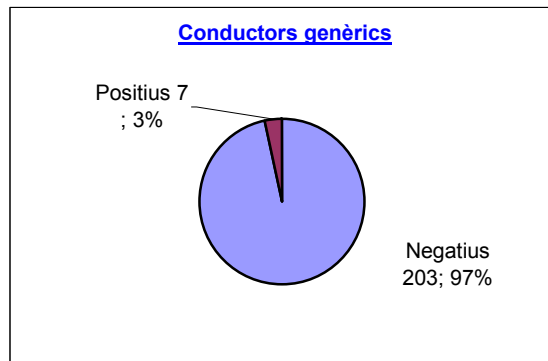
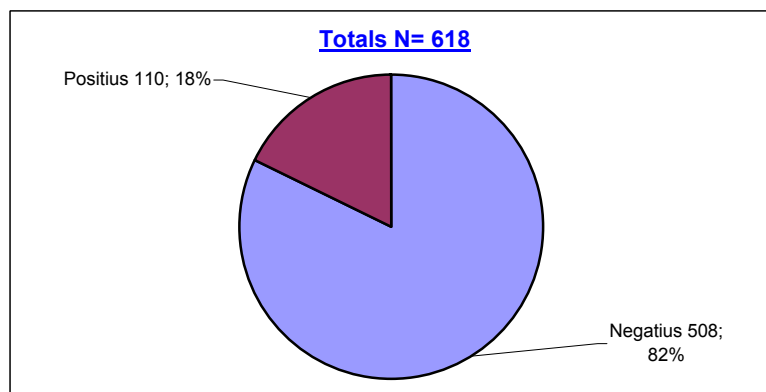


Fig.4: Conductors genèrics. N=210



Veiem ara les sumes dels totals per treure algunes conclusions més sobre aquest extensiu estudi.

Fig.5.Suma de conductors d'autobusos, camions i turismes. N=618



Les conclusions en aquest estudi es basaven en les professions i les pressions seguides pel cobrament de sous degut a que els camioners necessitaven estar més desperts ja que cobraven segons rendiment en canvi els altres conductors no es trobaven sota aquest tipus de pressió. Va ajudar a legislar en aquest sentit i a prendre mesures per evitar accidents.

2-D. Estudis recents. Cas 4: 1994- Alemanya

Un quart estudi interessant es va realitzar a Alemanya entre l'any 1992 i 1994.(42).

En aquest cas l'estudi va ser extensíssim i la mostra parla de 13122 conductors on la mostra va estar recollida amb uns kits comercials de la casa Salivette. Cal dir que el 93 % aproximadament dels conductors no van posar impediment i varen estar d'acord amb la presa de mostra. Durant el primer any es varen recollir 3027 mostres per analitzar posteriorment. Com en els dos casos anteriors el gran problema era l'escassetat de mostra recollida per fer les confirmacions. En mes del 32% només es va recollir 0.1 ml o menys . La mitja de volum recupera era de 0.42 ml. , cal dir que es necessitava segons aquest protocol un mínim de 0.1 ml de salva per realitzar les primeres proves de Immunoassaig.

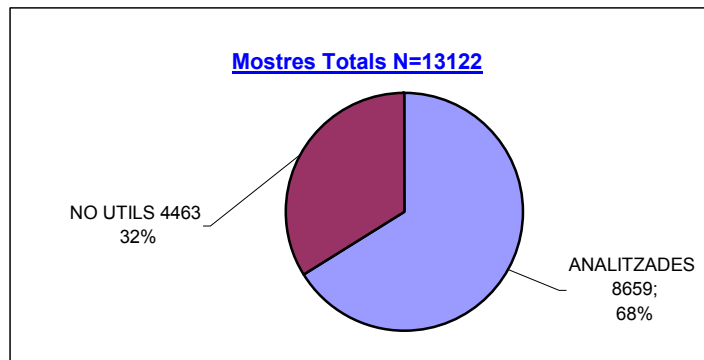
Al ser un estudi voluntari i no selectiu per Immunoassaig va haver problemes al mirar les sis drogues que es va intentar mirar.

Hem de descartar els que es neguen, els que no es pot determinar la droga degut a la manca de mostra i la no confirmació per cromatografia i espectrometria que donen un feblesa a les conclusions del estudi. La seva gran força estar en la mostra tan alta realitzada.

Es va voler determinar un total de 6 drogues però només es va poder fer aquest screening al 45% de les mostres, es varen poder determinar 5 drogues al 6% , quatre drogues al 5.5%, tres drogues al 4%, dues drogues al 7% i una droga al 1%.

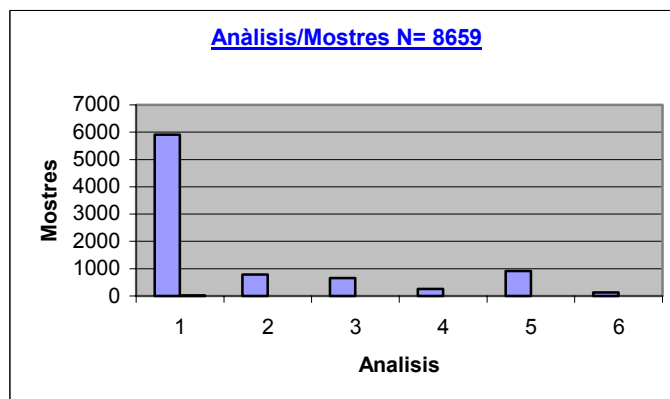
Només van ser aprofitables un 68% del total de les mostres recollides.

Fig.1.Gràfiques dels resultats:



De les mostres analitzades el número de determinacions o anàlisis que es van poder realitzar van ser. sis anàlisis possibles són benzodiazepines, cannabinoids, amfetamines, barbiturats, opiacis i cocaïna.

Fig.2 Gràfic:



El número total d'anàlisis realitzats va ser un total de **44742** anàlisis.. Tenint en conte que si hem realitzat 8659 conductors i fem uns 44742 anàlisis traiem una mitjana de 5.2 anàlisis per mostra obtinguda que es pot analitzar.

Positius trobats:

L'estudi no dona resultats al voltant de cocaïna ni amfetamines cosa que indica que els nivells trobats son 0% i per tant es pot pensar d'un error d'immunoassaig o d'un consum zero per la zona estudiada. O que siguin els

conductors que s'han negat a realitzar l'estudi degut a que son drogues il·lícites.

Veiem els resultats trobats força desvirtuats degut a tot el que hem dit.

Fig.3 Gràfiques contrastant amb el número d'anàlisis i una altre amb el número de mostres (conductors).

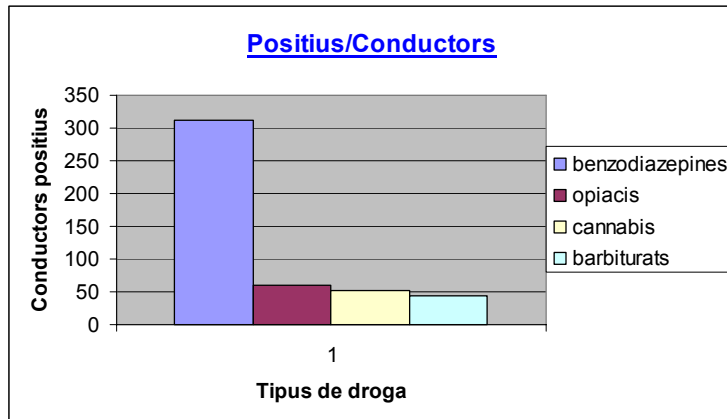
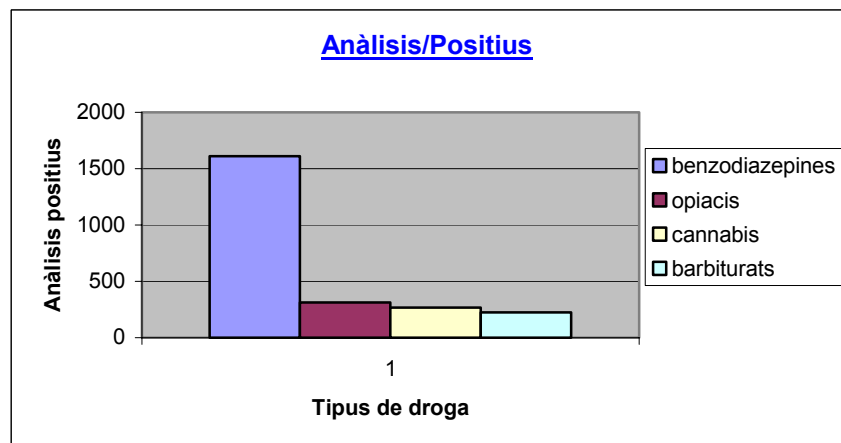


Fig.4 Segons anàlisis els percentatges obtinguts són els següents:



Estudi realitzat a Bèlgica , és un estudi realitzat amb un altre test ràpid de la marca Omni-Sal, i es realitza a conductors sancionats prèviament. La diferència es que aquesta població d'estudi no és al atzar com abans. Es fa un previ estudi mitjançant tècniques d'immunoassaig i ELISA segons la droga i totes es confirmen per cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses. Els límits de detecció estan al voltant de 5 a 30 ng/ml. Hi ha problemes amb el cànnabis i els seus límits de detecció També apareixen problemes en aquest

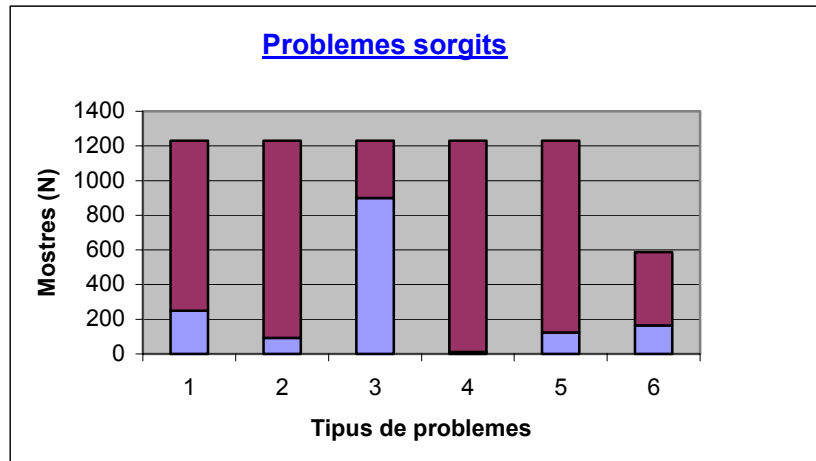
estudi del tipus de contaminació: les mostres algunes venen contaminades amb sang de les genives i a grans quantitats. De 1231 mostres , més de 249 estan contaminades.

Un altre problema que apareix és que més del 27% dels casos no s'arriba a recollir el mil·lilitre necessari per dur a terme les confirmacions. La mitjana de recollida és de 0.66 ml i molts cops no es va recollir gens de saliva (93 mostres). Quan la mostra era superior a 0.7 ml s'analitza per GC-MS i quan es menor per Immunoassaig.

Altres problemes que sorgiren varen ser la ruptura del col·lector de saliva que va ser al voltant del 1%. Problemes de saturació i de no saturació per manca de producció de saliva. Problemes amb la no coloració del indicador després de 15 minuts . I sobretot i problemàtic els falsos positius en amfetamines i cocaïna (cas de les amfetamines 165 de 587 són falsos positius.

Aquest estudi va servir per valorar en conjunt els problemes que poden anar sorgint i veure realment si un test es prou bo.

Fig. 5. N= 1231. Veiem una gràfica amb problemes originats de la mostra total.



- 1- Contaminació de sang
- 2- Sense saliva en el col·lector
- 3- Mostra insuficient
- 4- Col·lector trencat

5- No coloració

6- Falsos positius d'amfetamina

Aquest estudi es pot consultar íntegrament en (43)

2-E. Estudis recents. Cas 5: 1999- Projecte Rosita

Després de tots aquest estudis i moles d'altres d'inferior numero però no comentats a finals del segle XX on s'inicia al 1999 un gran projecte on s'ajunten diferents tests ràpids de peu de carretera. La iniciativa parteix de la comissió Europea i es tracta del projecte Rosita que es l'acrònim de Roadside Testing Assessment.

El projecte es per avaluar aquests tests a peu de carretera, es fa en conjunt amb un total de 16 països que hi participen. Com sempre s'argumenta l'ús de la saliva amb el factor de poca invasivitat en les persones i bones correlacions amb el temps que roman en el cos molt semblant al de la sang.

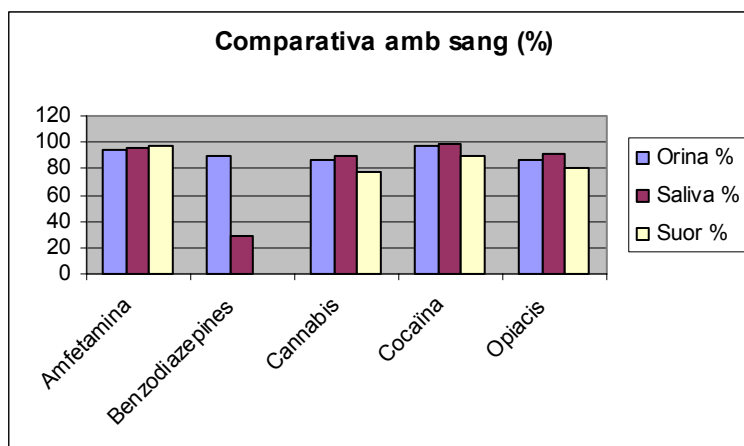
Es pensa que el millor es el test multidrogues on es miren entre 4 i 5 drogues a la vegada. La mitjana de les cases comercials que hi participen està al voltant de 3.9 euros un paràmetre i 14 euros el grup de 4 paràmetres.

Aquest test es realitzen a peu de carretera i es confirmen amb anàlisis de sang i orina els positius. Degut a la diferent legislació dels països participants uns poden fer unes confirmacions i d'altres no.

Les comprovacions es realitzen mitjançant cromatografia acoblada a espectrometria de masses i es comparen amb els resultats en els diferents fluids i en les taules següents veurem els resultats però avancem que les confirmacions en cannabinoids no son bones (78%) però molt bones en cocaïna (99%) i com a problema hi ha la poca o baixa sensibilitat en les benzodiazepines.

Cal dir també que les correlacions amb orina no tenen que ser –hi sempre degut a que es una excreció i no coincideix el temps que roman la droga en l'individu.

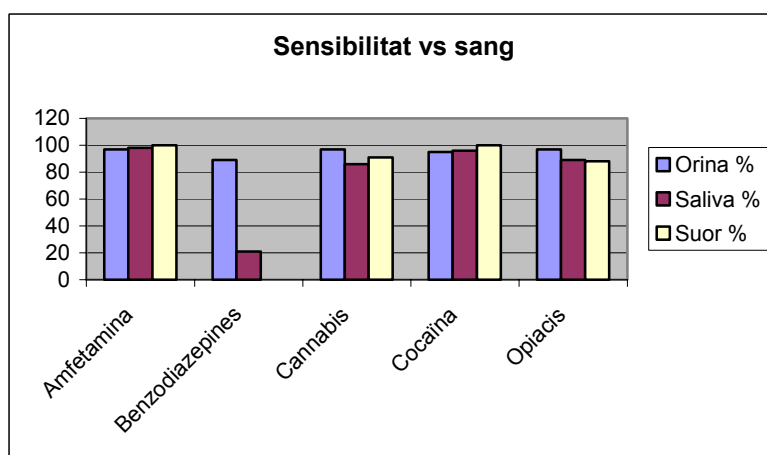
Fig.1.Taules:



NT- No testat

Menys en el cas de les benzodiazepines que havíem comentat la saliva es troba com la millor matriu alhora de correlacionar-ne amb els resultats trobats en sang.

Fig.2 També es va comparar la sensibilitat d'aquestes matrius amb la sang.

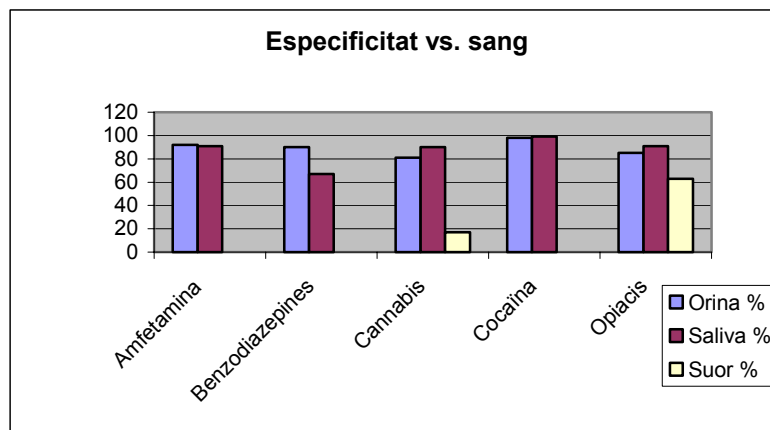


Sensibilitat comparada sang de les diferents matrius
Orina (%) Saliva (%) Suor (%)

Amfetamina	97	98	100
Benzodiazepines	89	21	NT
Cànnabis	97	86	91
Cocaïna	95	96	100
Opiacis	97	89	88

Pel que fa a la sensibilitat que no ens trobem davant de la millor matriu.
Ara com a darrer tema que es va observar amb aquestes dades va ser la especificitat comparada amb les altres matrius.

Fig.3 Resultats:



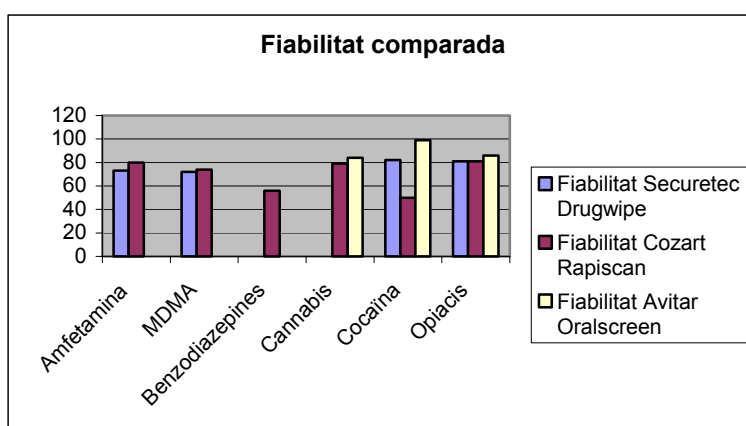
Especificitat vs. sang de les diferents matrius

	Orina (%)	Saliva (%)	Suor (%)
Amfetamina	92	91	0
Benzodiazepines	90	67	NT
Cànnabis	81	90	17
Cocaïna	98	99	0
Opiacis	85	91	63

Els resultats indiquen que la especificitat només es comparable a la orina.

Les altres conclusions que analitzarem ara són els resultats dels tests ràpids segons les marques usades. La major part van donar problemes amb la sensibilitat de les benzodiazepines, i també la diferència de concentracions en el THC obtingudes de la saliva directament o de la saliva impregnada al cotó que es amb la que es realitzen els tests.

Fig.4.Fiabilitat dels diferents tests segons la droga analitzada i comparat amb els resultats confirmatoris analitzats per GC-MS_

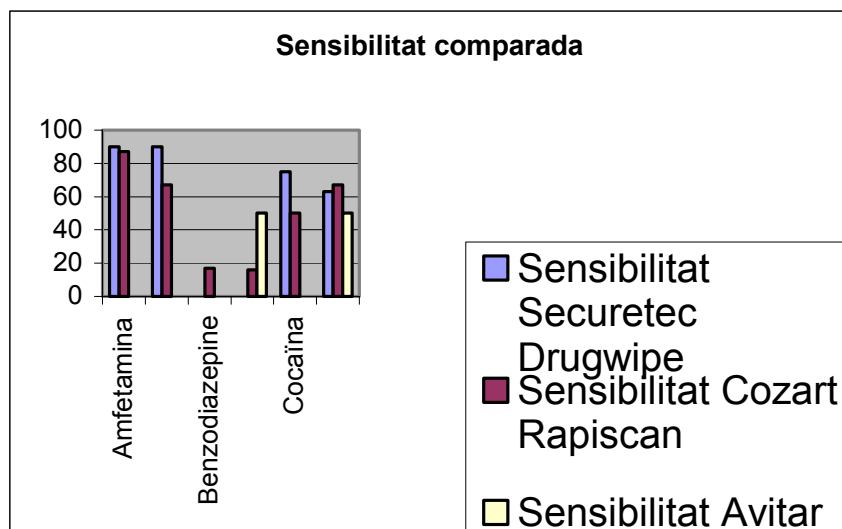


Fiabilitat

	Securetec Drugwipe	Cozart Rapiscan	Avitar Oralscreen
Amfetamina	73	80	
MDMA	72	74	
Benzodiazepines		56	
Cànnabis		79	84
Cocaïna	82	50	99
Opiacis	81	81	86

Encara que veiem que la marca Cozart es la que té un ventall més ampli d'anàlisis, els resultats de fiabilitat que dona la marca Avitar en les poques drogues que analitza és molt més bona. Les decisions hauran d'arribar a un compríms.

Fig.5 Comparativa de la sensibilitat de les marques comparada en percentatges.

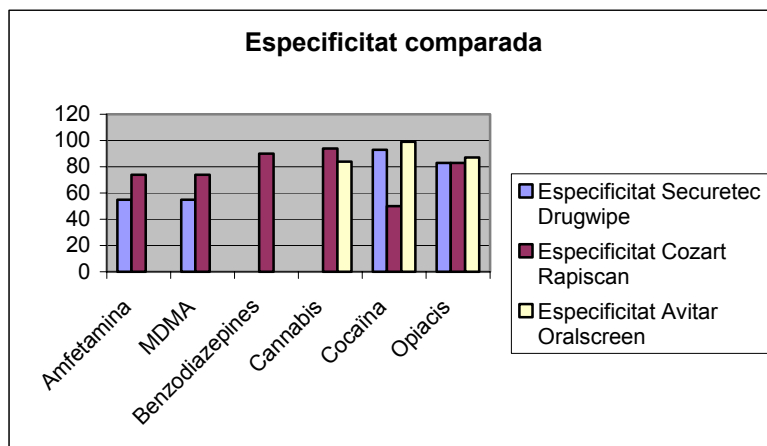


Sensibilitat

	Securetec Drugwipe	Cozart Rapiscan	Avitar Oralscreen
Amfetamina	90	87	
MDMA	90	67	
Benzodiazepines		17	
Cannabis		16	50
Cocaina	75	50	0
Opiacis	63	67	50

Pel que fa a la sensibilitat el Securetec Drugwipe és el que millor es comporta en les drogues que estudia

Fig.6 Comparativa de la especificitat entre les diferents marques comercials.

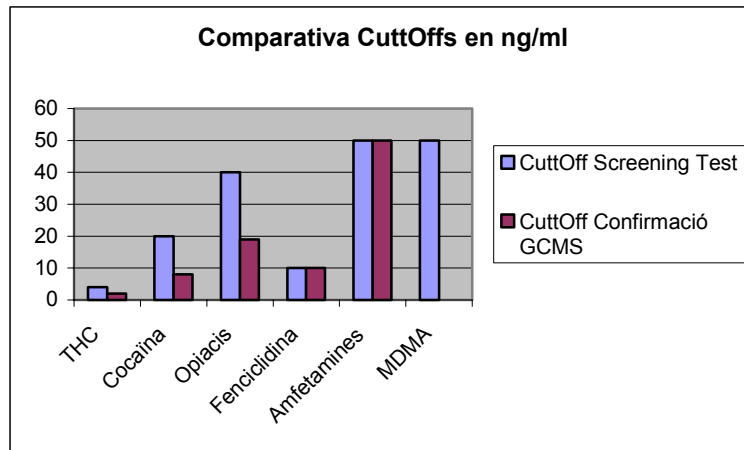


Especificitat

	Securetec Drugwipe	Cozart Rapiscan	Avitar Oralscreen
Amfetamina	55	74	74
MDMA	55	74	74
Benzodiazepines	90	90	90
Cànnabis	94	94	84
Cocaïna	93	50	99
Opiacis	83	83	87

Torna a tenir uns molt bons resultats el Avitar Oralscreen
 Amb aquestes proves també es van determinar els cutt-offs òptims que es varen donar entre 70 i 90 ng/ml en amfetamines i entre 2 i 10 ng/ml per opiacis i cannabinoids
 observacions també en la taula següent ja que varen ser altres conclusions importants del projecte Rosita

Fig.7. En la taula comparem el cutt-off mitj trobat en l'screening inicial a peu de carretera amb els tests ràpids i les confirmacions per cromatografia



Cutt Off

	Screening Test	Confirmació GCMS
THC	4	2
Cocaïna	20	8
Opiacis	40	19
Fenciclidina	10	10
Amfetamines	50	50
MDMA	50	50

La major sensibilitat la trobem en el THC. Encara que podríem introduir temes de contaminació passiva per no voler acceptar límits tant baixos.

Després d'aquests estudis entrem ja al segle XXI plenament on s'estan validant nous mètodes i traient amples conclusions al voltant de le matriu saliva i les decisions a prendre.

Resultats del Estudi:

Els resultats del estudi s'exposen en les següents diagrames, gràfiques i taules.

Diagrama 1:

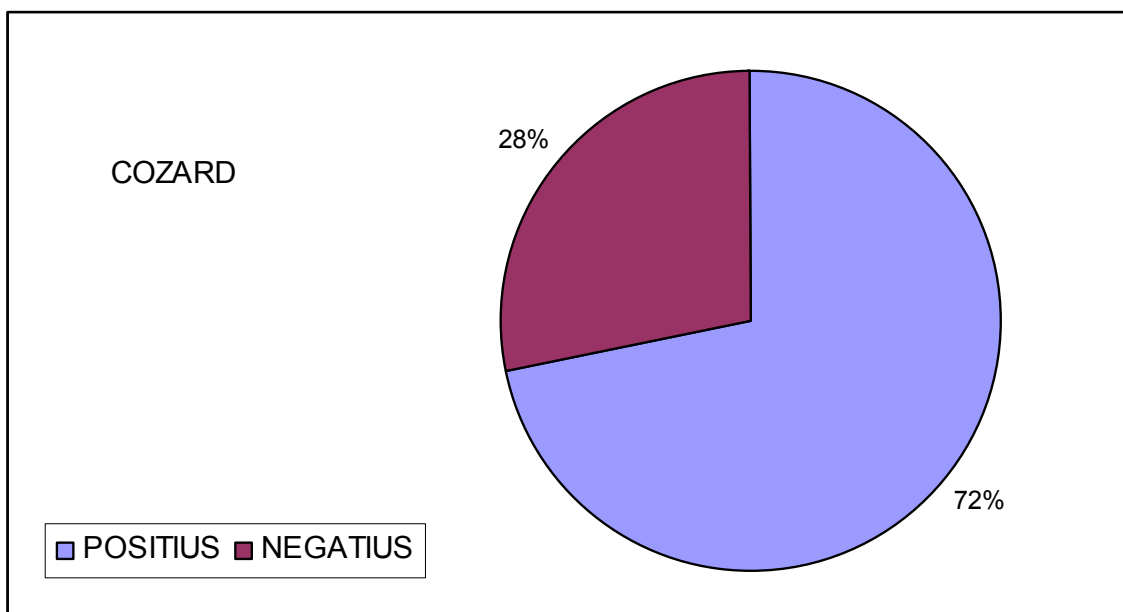


Diagrama 2

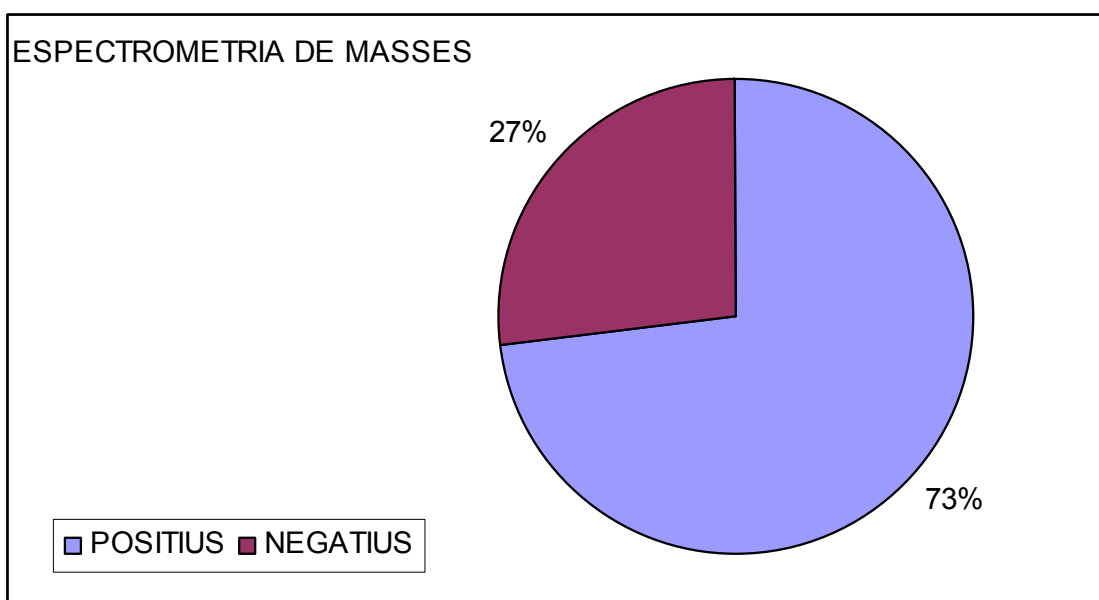


Diagrama 3

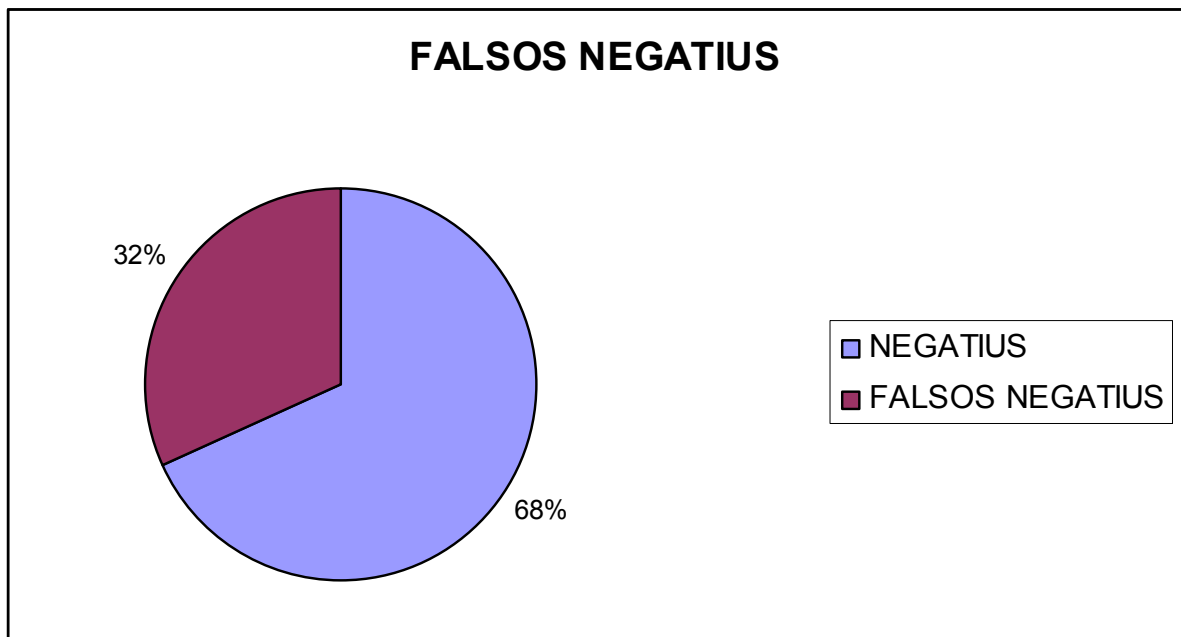
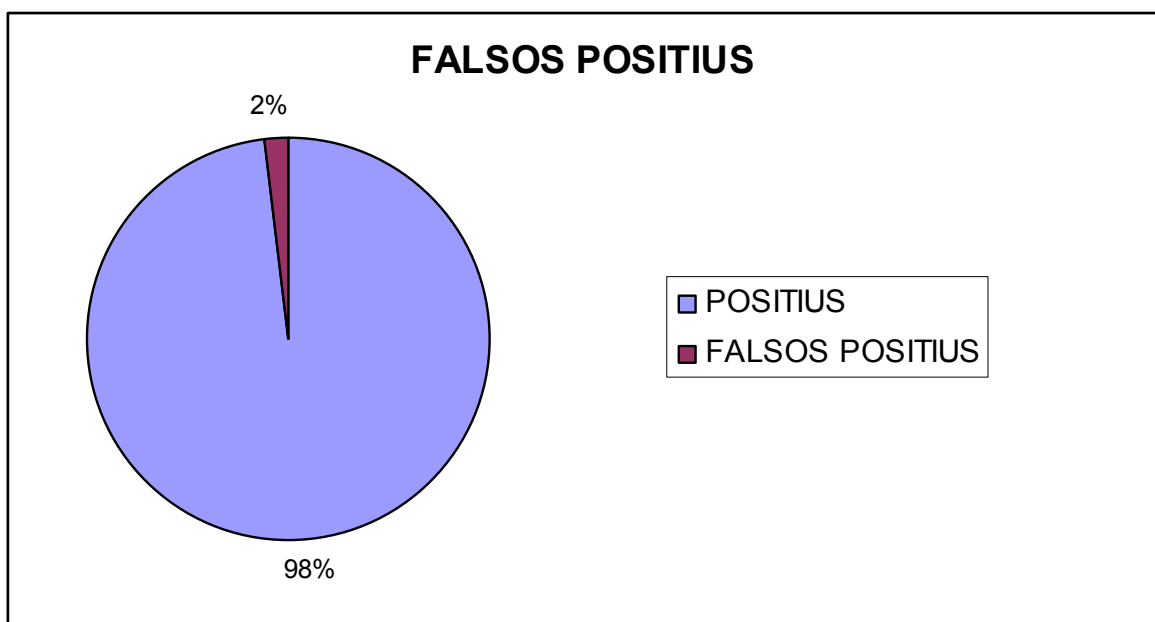
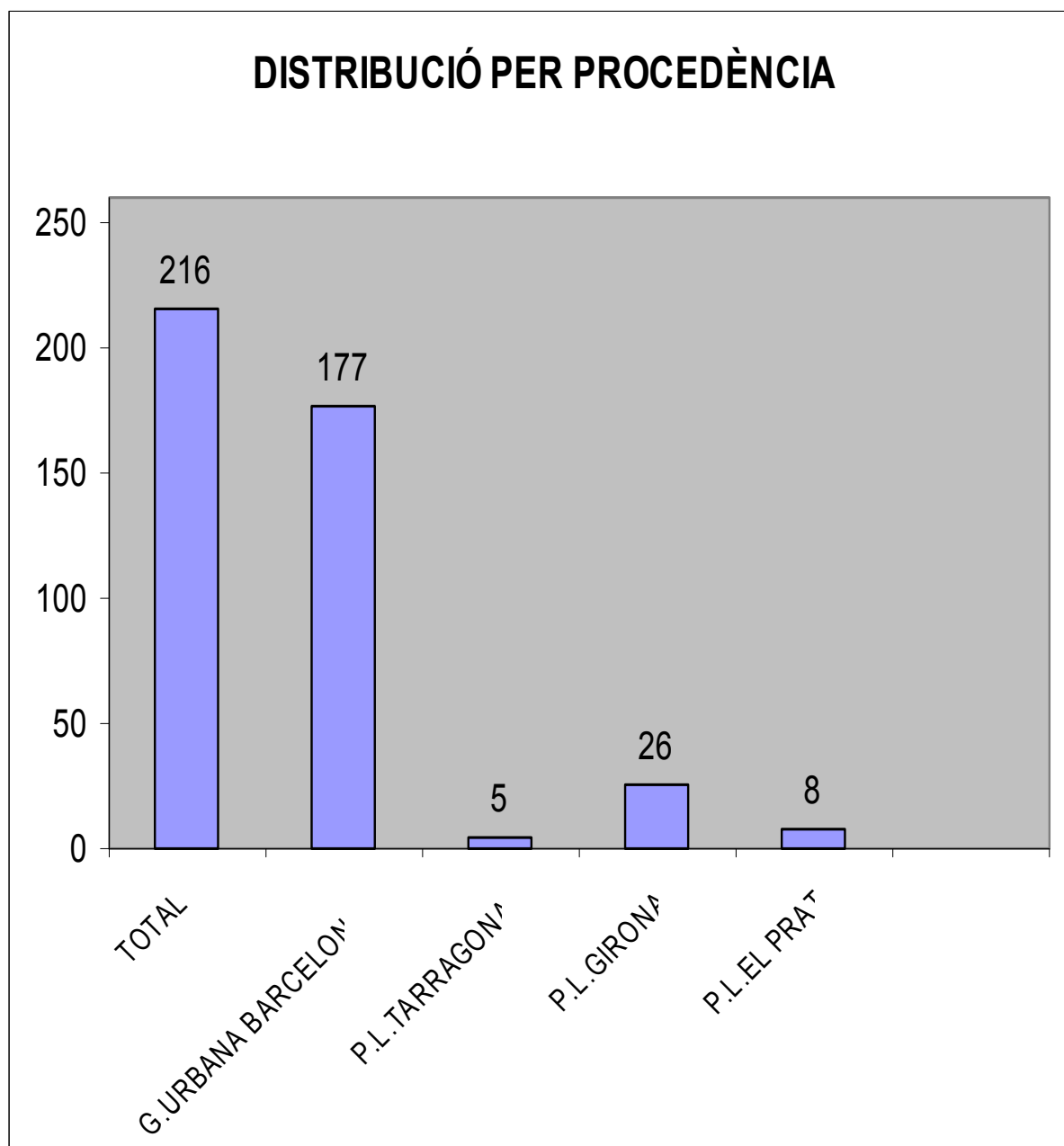


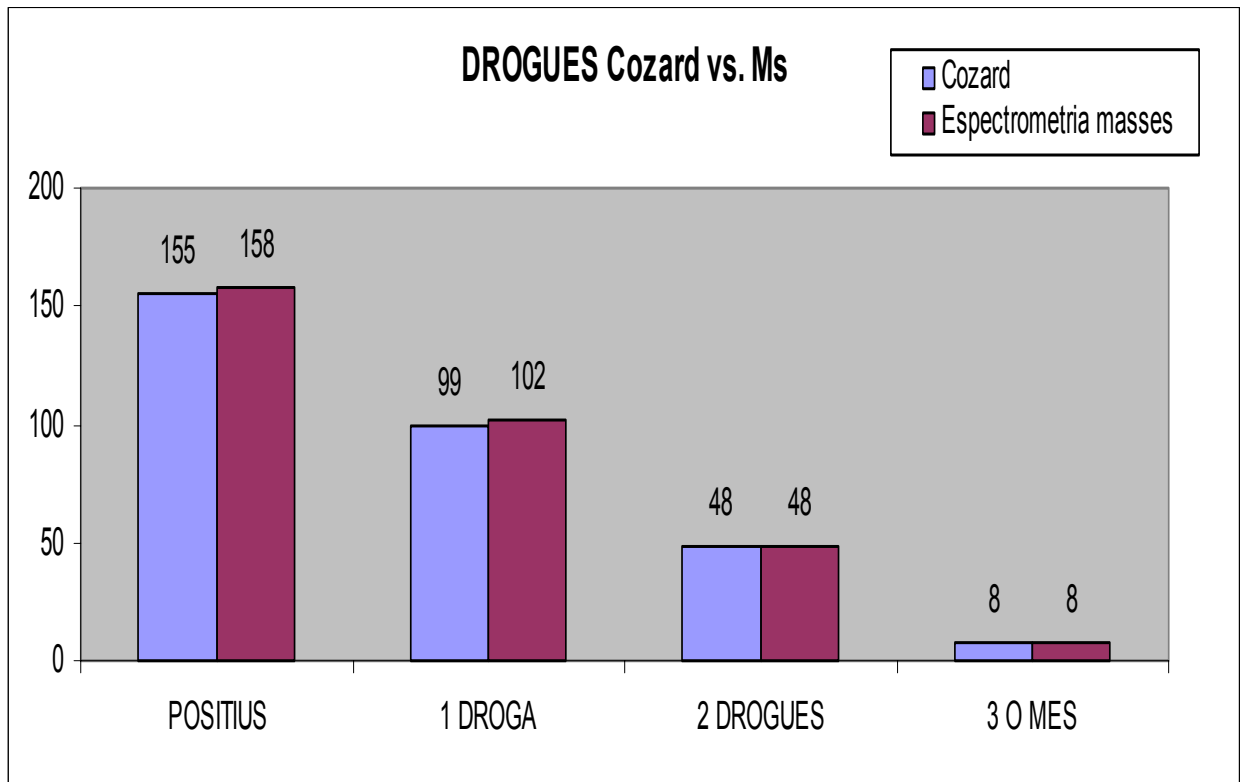
Diagrama 4



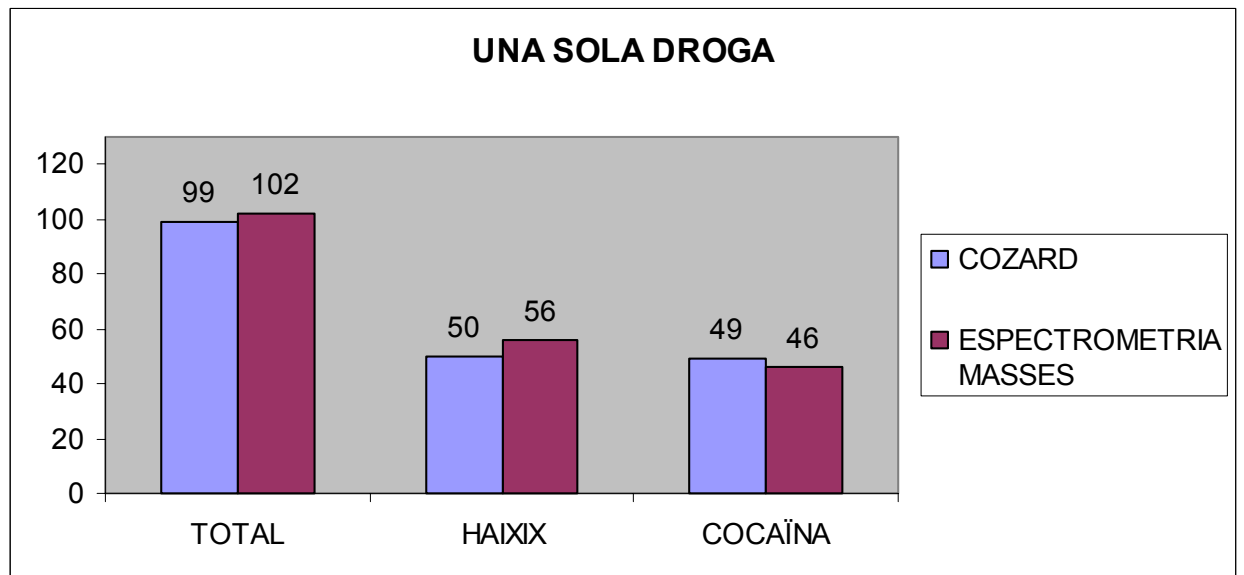
Gràfica 1:



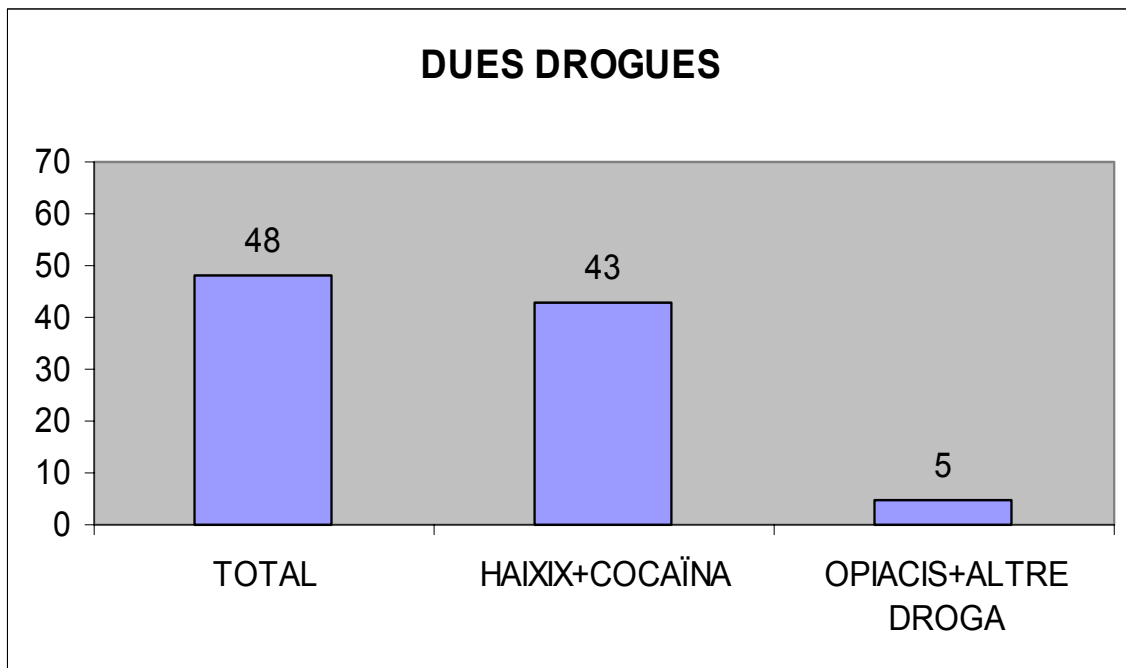
Gràfica 2:



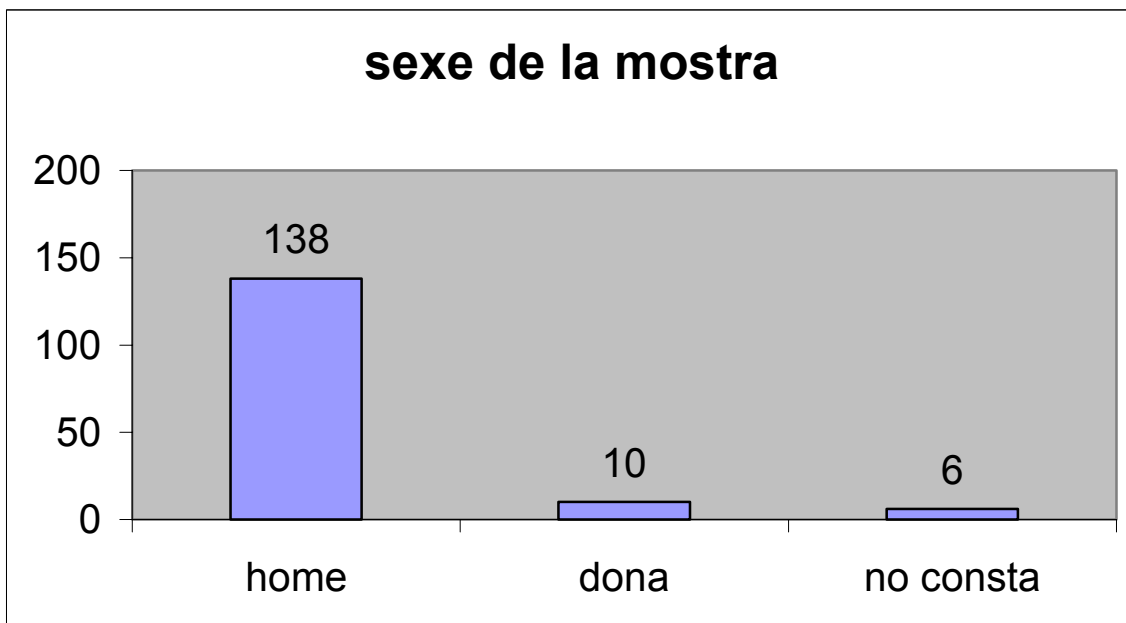
Gràfica 3:



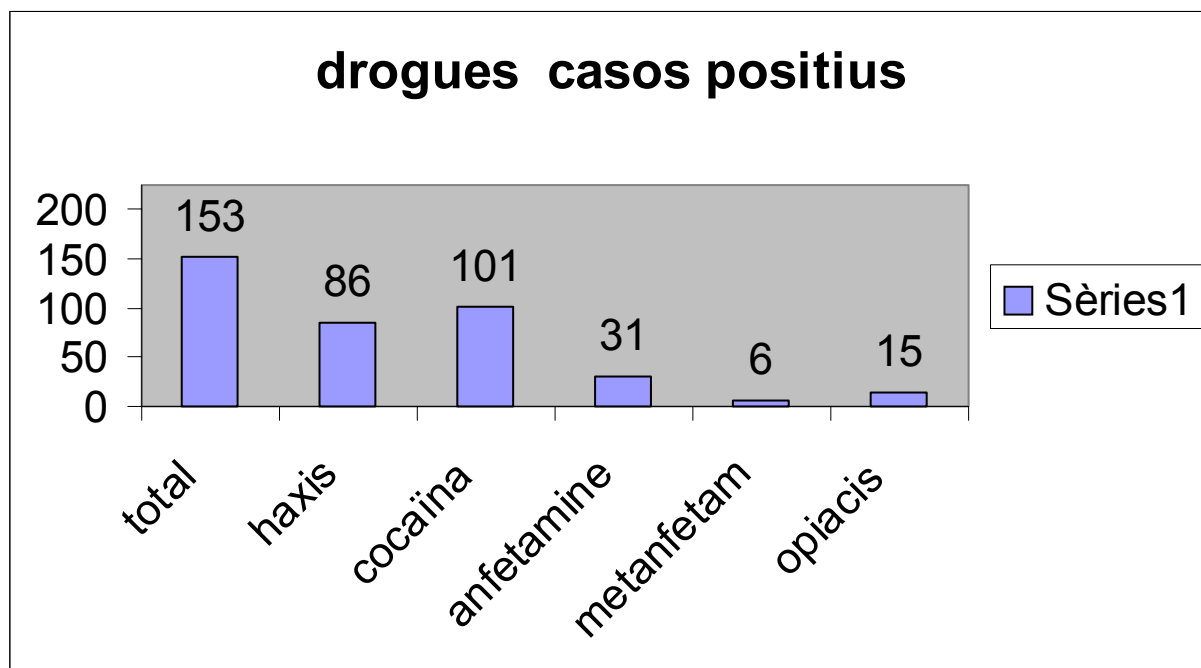
Gràfica 4:



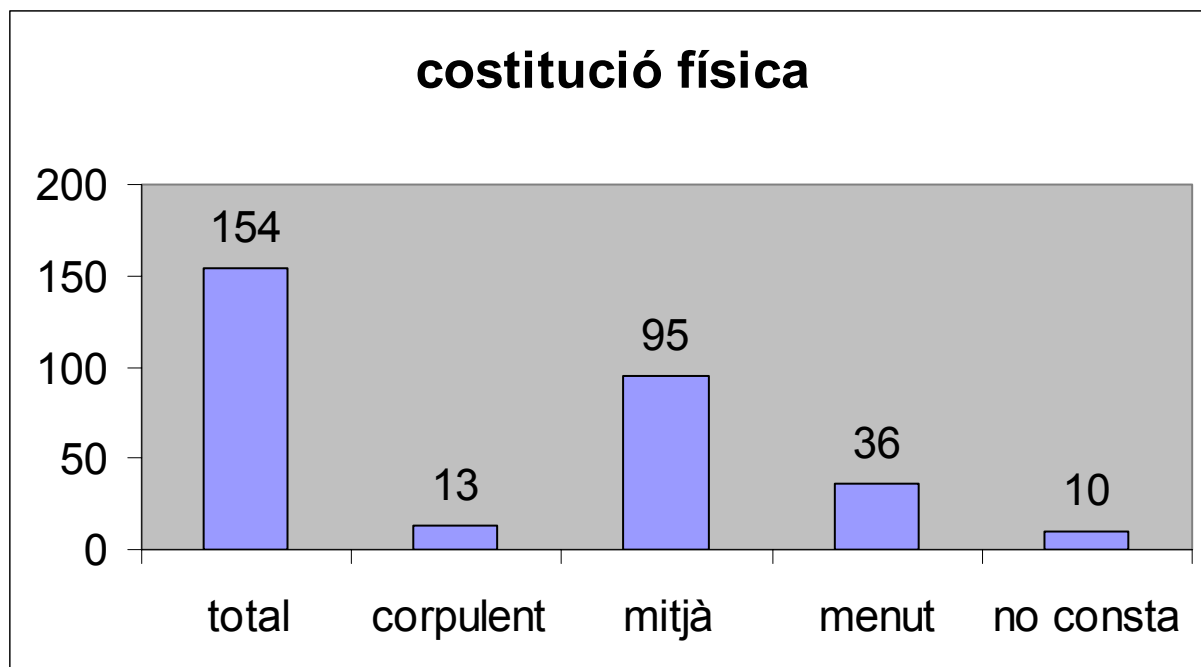
Gràfica 5:



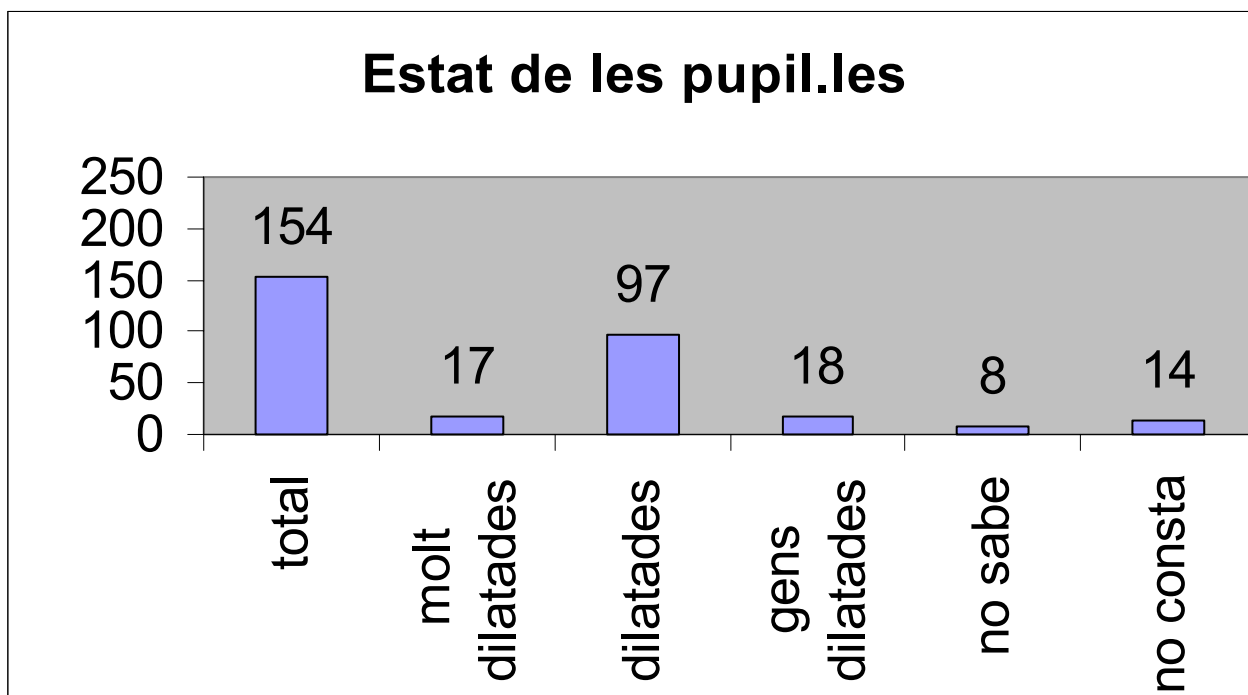
Gràfica 6:



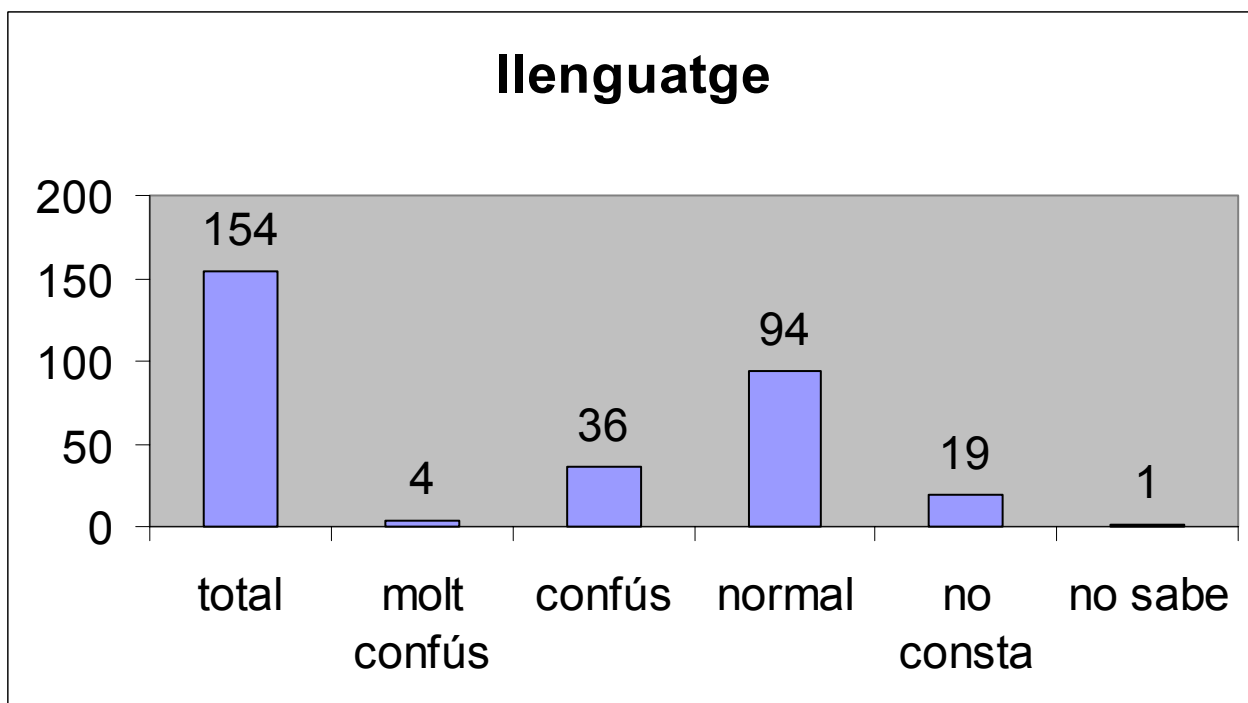
Gràfica 7:



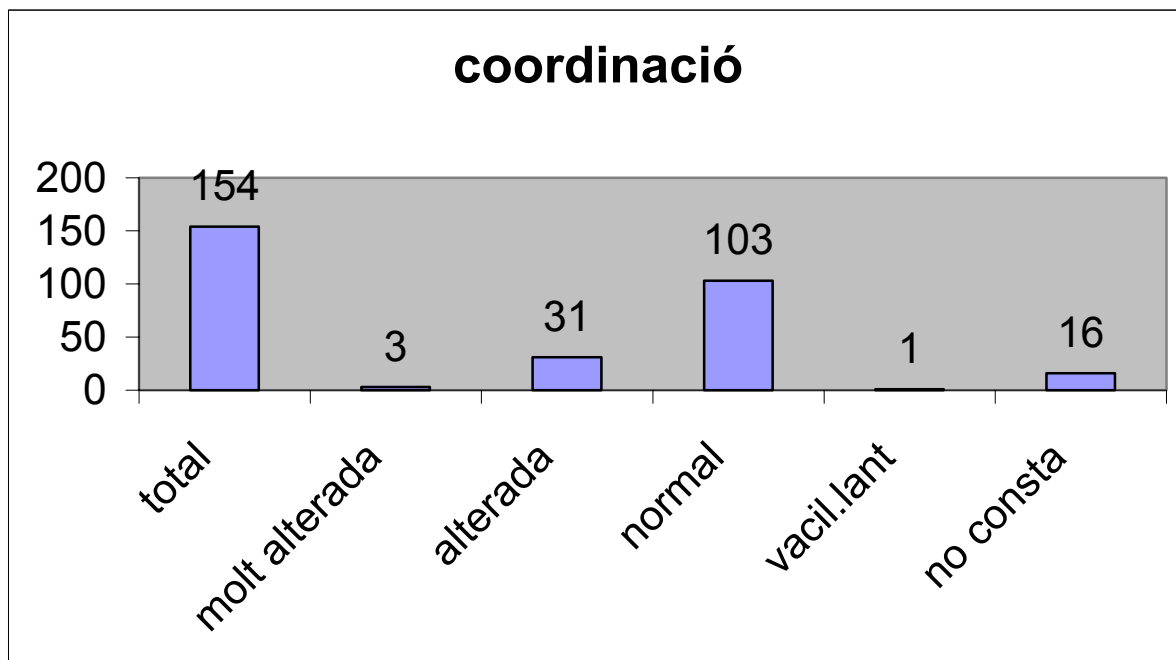
Gràfica 8:



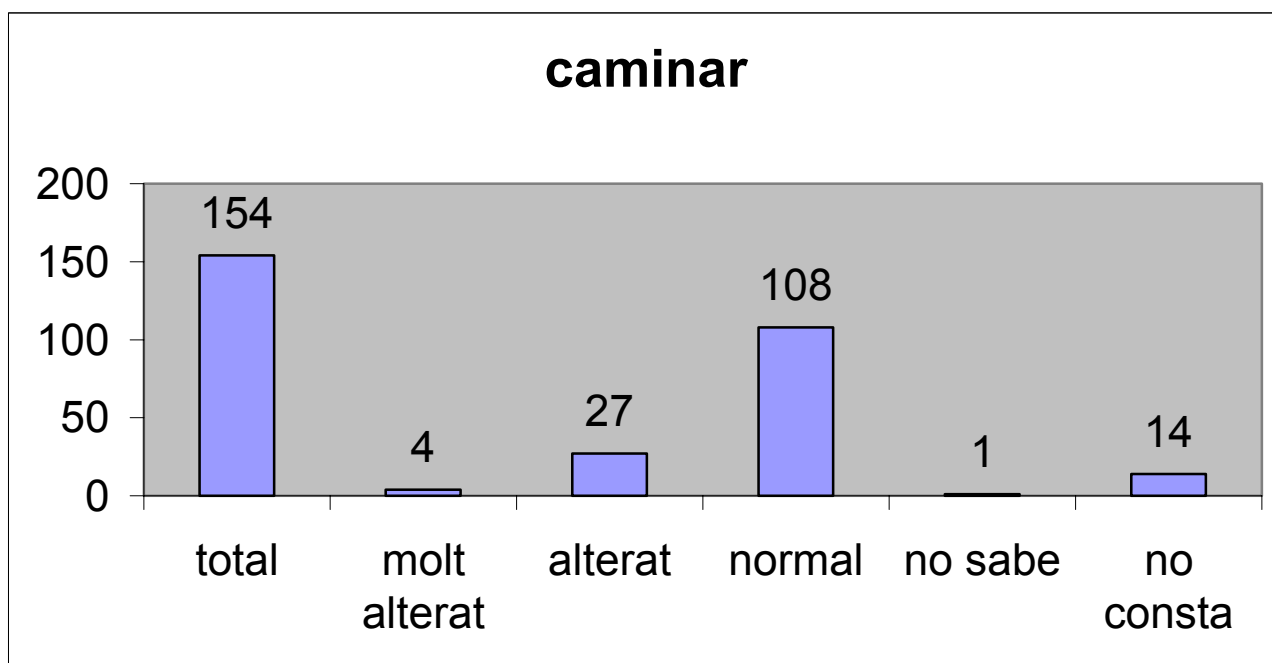
Gràfica 9:



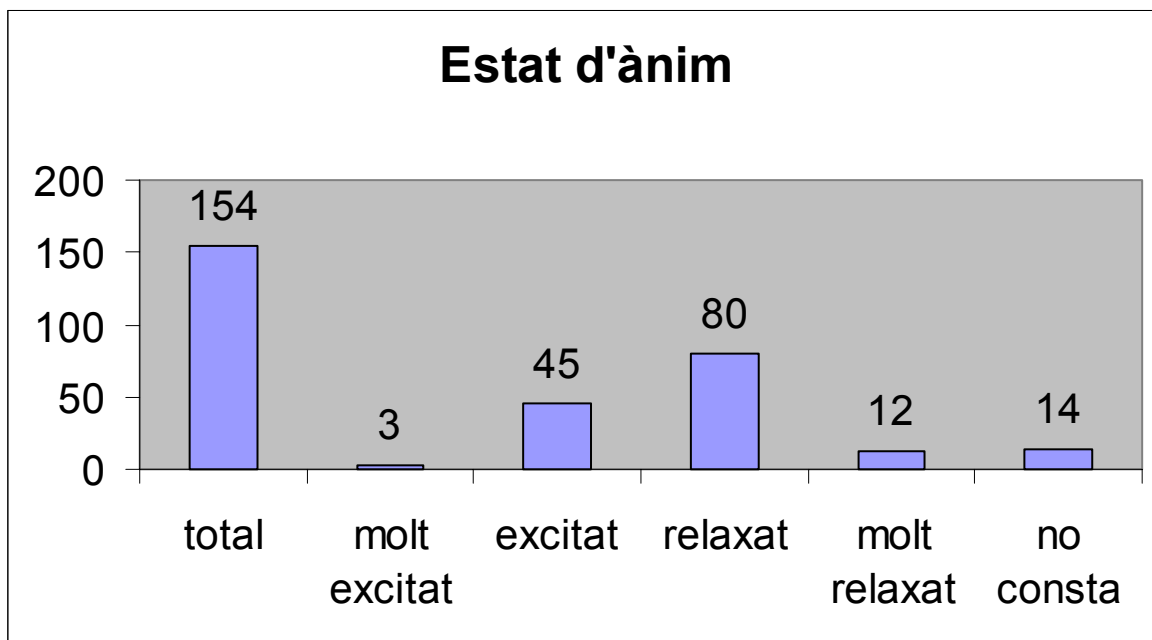
Gràfica 10:



Gràfica 11:



Gràfica 12:



Taula 1:

Associació de variables i grau de significació:

	Pupil·les	Llenguatge	Coordinació	Caminar	Estat anímic
Haixix	P=0,012	NS	NS	NS	NS
Cocaïna	NS	NS	NS	NS	P=0,04
Opiacis	P=0,032	NS	NS	NS	NS
Haixix/Cocaïna	NS	NS	NS	NS	NS

Tercera part

Consideracions medico legals i aspectes forenses

3-A Introducció

L'ús de la saliva com mostra per a la detecció de drogues d'abús ha pres increment a l'entendre els mecanismes de la excreció de drogues en la saliva així com amb els avanços en l'exactitud i millora en els mètodes de recollida de la saliva . Ja hi ha una important utilització de la saliva per a la detecció d'alcohol dintre de la indústria del transport i ha augmentat la demanda en altres sectors com llocs de treball, conductors, proves en estudiants , actuacions en carretera i dintre del món legal. Com la saliva entra en aquestes àrees on poden imposar-se sancions es dedueix que s'originin. reptes i problemàtica legals. Les qüestions legals poden procedir de diferents punts , com la recollida de la mostra, l'exactitud i credibilitat de la prova , el transport de les mostres i la interpretació dels resultats, àrees que s'han d'examinar en conjunt.

Hi ha hagut un increment enorme d'investigacions i publicacions referents a l'ús de la saliva com mostra per a detecció de drogues. L'ús d'aquesta mostra en el mitjà legal es va originar fa temps. En els Proceedings de 1992 on es tractava “ la saliva com fluid de diagnòstic (publicat com article en els Anales de l'Acadèmia de Ciències de Nova York, (44).

Un treball en la introducció del text ja indicava l'antic ús de la saliva per a provar la culpabilitat o innocència cridat”Rice Test”. A l'acusat se li donava arròs sec a mastegar i si l'ansietat i culpabilitat eren probables la sequedat de la boca li impedia formar una massa i empassar-la el que presumia la seva culpabilitat. Un article mes recent indicava que la saliva procedent de la paròtida semblava més dependent de l'ansietat on tenien un paper els factors de personalitat (45).

En el marc legal l'ús de la saliva com mostra d'anàlisi no està bé establert. El resultat d'una supervisió en 20 països que valoren les matrius alternatives per a anàlisis solament alguns tenen indicades les matrius per a aquests usos com Estats Units, Alemanya, Irlanda, Polònia, La República Checa. Per contra pocs països han prohibit la presa de mostres biològiques alternatives o els dispositius que utilitzen aquestes mostres (46).

3-B Ciència i llei

L'evidència científica s'està utilitzant en gran nombre de casos legals i els científics han d'assegurar-se que els resultats compleixen amb aquesta evidència. Encara així l'evidència està subjecta a posteriors escritinis i fins a quant pot influir en una decisió final. S'ha de recordar que els procediments legals consideren diferents nivells d'evidència des de "més enllà d'un dubte raonable" en casos criminals a una preponderància de l'evidència en casos civils o recusacions i fins i tot a nivells de causa "probable" o "sospita raonable". Per tant els resultats estan subjectes a totes aquestes interpretacions on els percentatges poden variar des del 0 al 100%.

Per als jutjats d'Estats Units l'evidència de les proves es governa pel 1975 Federal Rules of Evidence, elaborat pel US Supreme Court in *Daubert v. Merrell Dow Pharmaceutical INC* 509 US 1993. La decisió *Daubert* va ser la primera que va establir els criteris que s'havien de seguir per a l'admissió de les proves en els jutjats, encara que cap d'ells anés una condició sense la qual no es poguessin admetre altres criteris. Específicament es van descriure els següents factors: anàlisi, revisions per parells o publicació, potencial rang d'error o error conegut, estàndards utilitzats i acceptació generalitzada. La saliva per a la detecció de drogues d'abús presentava algunes dificultats per a complir aquests requeriments. Dos terços dels estats havien adoptat aquests estàndards per a la presa de decisions dels seus jutjats. No obstant això altres estats havien triat continuar usant altres antics criteris d'admissibilitat d'evidència científica coneguts menjo "Frye Rule". Aquesta norma va ser establerta en 1923 per la cort d'apel·lació en Wasington DC (47)

3-C Legalitat en la recollida de mostres

Amb independència dels problemes i reptes de les anàlisis de drogues en general i de les mostres utilitzades la detecció de drogues en saliva pot presentar problemes si es considera que és invasiva o vulnera els drets privats. Atès que s'accepta la legalitat de les proves en orina fins i tot quan hi ha una observació directa en alguns casos, la saliva no hauria de suposar cap problema quant a invasió de la privadesa ja que es considera menys invasiva que la recollida d'una mostra d'orina. No obstant això el mètode específic de la recollida si pot presentar problemes referents a la credibilitat científica . La saliva es pot recollir per tècniques diferents encara que la més usual és la simple expectoració en un tub de plàstic, amb o sense estimulació o absorbit la saliva directament de la cavitat oral en un material absorbent (escuma., cotó o fibra) (48)

La US Substance Abuse and Mental Health Services Administration *SAMHSA, responsable dels programes d'anàlisis de drogues ha proposat recentment utilitzar saliva procedent de la expectoració en un tub (49)

Alguns indiquen que la expectoració en el tub és objectiva. D'altra banda els dispositius que recullen la mostra utilitzant turundes que es mantenen en la boca uns minuts es consideren menys objectius. També ha de demostrar-ne que la recollida no afecti a la integritat de la mostra. Per exemple les sals com el citrat ha de demostrar-ne que no afecten a la mostra i posterior anàlisi ni que suposin qualsevol risc per al donador. Algun treball ha considerat els possibles efectes de el citrat en la saliva en les anàlisis de enzimoimmunoassaig (50). Els autors indiquen que uns cristalls d'àcid cítric de 5-10 mg eren suficients per a la producció de saliva 1-2 ml amb resultats de concentració de citrat de l'ordre de 0.05 mol/L i sense presentar interferències amb el subsegüent enzimoimmunoassaig.

S'ha de ressaltar que el mètode de recollida pot afectar el valor de droga obtingut a causa del conegut efecte del pH i la distribució de la droga entre plasma i saliva (51).

Els dispositius de recollida necessitessin ser aprovat per la FDA abans de posar-se en el mercat i els fabricants han de demostrar la falta d'influència en la recol·lecció i posterior anàlisi. D'altra banda algunes mostres de saliva utilitzen un buffer on es transporta el fluid. Aquestes manipulacions han de demostrar que la mostra original no s'afectarà ni l'anàlisi. Altre punt en la recollida de mostra és la possibilitat de l'adulteració o substitució de la mostra : La SAMSHA proposa normes que indiquen que les mostres de saliva puguin ser fàcilment observades i així l'espècimen sigui menys susceptible d'adulteració o substitució . Això assegura que els resultats de les proves són vàlids.

Hi ha hagut alguns problemes relatius al limitat volum de saliva que es recull el que duu a dificultats i limitacions per a les proves de confirmació, quan són diverses drogues. Una apel·lació en US va al·legar aquestes limitacions en un cas d'agressió sexual ja que totes les mostres s'havien usat en les proves serològiques i no havia suficient mostra per a la detecció d'ADN. El defensor al·legava que s'hagués aconseguit l'absolució de el afectat (52).

Finalment pot haver qüestions com la impossibilitat de donar la mostra en un procés on pot haver sancions. En les seves propostes i regles la SAMSHA indica que s'han d'apreciar els comentaris sobre si s'hauria d'adoptar un procediment específic parell la "boca seca" o la "Bufeta buida" en el cas de recollida d'orina.

3-D Estabilitat de les mostres

Si les mostres no es manegen adequadament o no s'emmagatzemen en condicions això pot originar una falta de validesa científica. No obstant això pocs estudis han demostrat l'estabilitat de les drogues i l' etanol en saliva sota condicions adequades de magatzematge. Un treball va indicar que la cocaïna en saliva és estable (>90% de recuperació) durant 4 dies a 4° en diferents recipients i fins a 7 dies en alguns recipients fins i tot sense addició de conservant. Mas allà si s'afegeix citrat com de vegades es fa en la recollida de saliva, les mostres poden romandre estables a temperatura ambient durant 7 dies (53).

L' etanol es manté estable en la saliva al menys 21 dies quan s'emmagatzema a 4° (54).

3-E Prevenció de riscos en la manipulació de mostres de saliva

La saliva pot ser una font d'infecció per microorganismes i han de prendre's precaucions en el seu maneig. Hi ha casos judicials on es qüestiona la mossegada d'una persona per una altra. Els laboratoris i llocs on es recull la mostra han de tenir coneixement i entrenar i informar al personal d'aquests riscos. La investigació ha demostrat l'aïllament del virus HTLV-III de la saliva de persones infectades encara que alguns estudis indiquen una baixa freqüència en l'aïllament del virus en les persones infectades (55) . Hi ha hagut algun estudi que indica que la saliva en si mateixa podria inhibir la infectivitat (M)

En relació amb la saliva les indicacions del US Centers for Disease Control and Prevention (*CDC) parlen de "precaucions universals no són aplicables a la saliva...no són necessaris guants quan s'alimenta a pacients o quan es neteja saliva de la pell... les precaucions especials no obstant això es recomanen per als dentistes...". En 1997 el *CDC va publicar en el Registre federal unes notes per al control de la infecció en el personal sanitari on s'esmenten alguns virus . En la cort de Califòrnia es va apel·lar sobre el cas d'un agressor que va mossegar a un oficial encara que el procediment incloïa molta literatura sobre el remot risc de transmissió de HIV per saliva. Encara que els experts estan d'acord que el risc de transmissió del HIV per saliva és molt baix no es pot concloure que el risc sigui zero: El tribunal va concloure que la transmissió potencial del HIV per saliva era remota.

En conclusió es deduiria que l'exposició o maneig negligent de les mostres de saliva no seria un problema donat el reconegut sota risc d'infecció tret que les mostres estiguin clarament contaminades. Per descomptat això no exclou que les mostres es tractin com potencialment infeccioses

3-F Cadena de custòdia

La cadena de custòdia garanteix que la mostra que s'ha presentat no ha estat alterada. La cadena de custòdia ha d'establir-se per a assegurar l'admissibilitat dels resultats . En les mostres biològiques s'ha de demostrar que la cadena de custòdia no s'ha alterat, el transport al laboratori, les proves realitzades, el magatzematge i el report dels resultats. Quan es detectin mínimes alteracions de la cadena de custòdia el jutge pot determinar l'admissibilitat de la prova. Donada la extensa experiència en relació amb les mostres biològiques la cadena de custòdia en el cas de la saliva no suposa problemes addicionals

3-G Credibilitat científica

Una vegada que la mostra de saliva s'ha recollit i enviat per a anàlisi la següent àrea de consideració són els mètodes d'anàlisis. Per a complir amb la legalitat les proves han de ser exactes i precises. No solament els mètodes usats han de ser acceptats generalment sinó que han de demostrar que en el cas particular s'han desenvolupat adequadament.

La saliva com mostra per a la detecció de drogues és vàlida i ha estat acceptada com mostra per a la detecció de diversos analits incloent les drogues amb una àmplia literatura publicada referent a això. Aquestes anàlisis inclouen esteroides, hormones, enzims, anticossos, tipatge d' ADN, drogues terapèutiques i drogues d'abús especialment alcohol. A més l'ús de saliva per a anàlisis biològiques no és nou, es va iniciar 150 anys enrere.

Els primers experiments es van fer al 1930 i van demostrar el paper de la solubilitat en lípids i la ionització en la distribució de soluts en la saliva. En els anys 70 va haver un gran interès en la utilització de la saliva per al monitoratge de drogues terapèutiques amb la idea de ser una mostra menys invasiva que la sang i potser tenir millor correlació amb els efectes fisiològics ja que les concentracions en saliva representen la fracció lliure no la unida a les proteïnes en el plasma i activa en els receptors. Això indica que hi ha una història bé establerta de l'acceptabilitat de la saliva com mostra per a anàlisi.

El interès en la saliva per a detecció de drogues d'abús no és nou tampoc i ha estat reconegut com una mostra valuosa. Des dels començaments del desenvolupament del Immunoassaig en la detecció de drogues es va considerar una mostra apropiada.

Un dels principals treballs publicats indicava la detecció de morfina en saliva i orina (56). Una anterior referència de la detecció de dopatge (metamfetamina) es va publicar en 1968 (57). Hi ha hagut moltes publicacions sobre la mesura de drogues en saliva.

Molts estudis han examinat els potencials riscos d'errors (sensibilitat, especificitat, valors predictius positius i negatius, exactitud. Està clar que els

laboratoris han de tenir mètodes robusts i bé desenvolupats. hi ha una captació general sobre l' exactitud i credibilitat de les proves en saliva dintre de la comunitat científica i hi ha estudis sobre correlació i efectes fisiològics. S'aporten en els congressos noves mecanismes de la presència de les drogues en saliva i es refereixen així mateix als dispositius que s'utilitzen amb aquestes fins i que són més recents. En el 2003 es va iniciar un estudi pilot per a la recollida de mostres en carreteres amb aquests dispositius

Els assajos comercialitzats per a proves en saliva han d'estar específicament aprovats per a aquest ús en la saliva. Un punt important és que demostrada la seva exactitud i credibilitat hagi estat aprovat per la FDA o organisme similar, el que indica que la revisió realitzada per l'organisme ha estat trobada acceptable. En un cas en que la FDA va revisar un dispositiu comercialitzat per a la detecció de HIV-1, aquest no s'havia utilitzat específicament per a saliva. La FDA va advertir a altres laboratoris que van utilitzar el Immunoassaig per el cabell quan no s'havia provat concretament amb aquesta matriu. També és important demostrar que hi ha estàndards acceptats per als mètodes de detecció de drogues en saliva i que compleixen amb les certificacions corresponents. Poden admetre'ns la fiabilitat dels mètodes sense l'existència dels estàndards però és més fàcil demostrar-la quan aquells existeixen. Per desgràcia no existeixen programes de certificació específics per a detecció de drogues en saliva encara que si existeixen per l'alcohol.

Recentment la SAHMSA ha publicat una proposta para per a incorporar la saliva en els programes federals d' anàlisis. També és útil indicar que en el 2001 les Nacions Unides han publicat guies per a les proves en suor, saliva i pèl referents a les anàlisis i el control internacional de les mateixes (58). El Departament de Transport permet utilitzar la saliva per a la detecció d'alcohol (59)

Així encara que hi ha una falta de procediments bé establerts de programes sobre eficàcia i de programes de certificació de proves per a la detecció de drogues en saliva la llarga història, la literatura científica revisada i els

procediments reguladors en curs tot això permetria que aquests mètodes puguin presentar-se en l'àmbit judicial.

Quarta part

4-A Conclusions i discussió

Els nostres resultats evidencien els consums de drogues d'abús en la conducció de vehicles a motor. S'han fet un total de 216 proves per els agents de la guàrdia urbana i policia local d'acord un pla prèviament establert. Les mostres es van recollir a Barcelona, Girona, Tarragona i el Prat de Llobregat amb la distribució que s'ha indicat en la **gràfica 1**. No coneixem els motius de la diferencia de mostres que existeix entre els distintes llocs d'origen. La informació que tenim és que les mostres s'han recollit en ambients lúdics i en caps de setmana, en horari nocturn.

Les proves que s'han rebut són **216** entre positives i negatives. D'aquestes **155** són positives al test de camp amb el kit Cozart i **61** són negatives al test Cozart. Es a dir un **71.8%** de **positius** i un **28.2%** de **negatius** segons el mètode Cozart. Trobem sis falsos negatius i tres falsos positius. Es a dir **158** positius i **58** negatius un cop realitzada la confirmació per espectrometria de masses. En percentatge **73,1%** de **positius** i **26,9%** de **negatius**.

Així mateix es van remetre per la guàrdia urbana un total de 58 mostres negatives a la detecció de drogues en el kit, però que van ser enviades al laboratori atès que els subjectes semblava que presentaven signes extern o simptomatologia alterada.

Algunes d'aquestes proves negatives es van analitzar per espectrometria de masses per a validar el mètode analític i descartar falsos negatius. Es van confirmar per espectrometria de masses 19 kits que donaven negatiu al test de camp i es va trobar que sis d'ells eren positius. Tots ells positius a cànnabis. Un **31.6% de falsos negatius** en el cas del cànnabis.

Considerem alt el número de falsos negatius a aquest tipus de droga.

Tanmateix alguns positius detectats en el test de camp no es confirmen amb la espectrometria de masses i es consideren falsos positius. Dels 155 positius

analitzats 3 d'ells no es confirmen per espectrometria de masses. Tots ells en el cas de la cocaïna. Un **1.9% de falsos positius**.

Destaca el perfil d'usuari d'un home amb una edat mitja de **28,3 anys** (rang de 35 ,màxim 52 i mínim 17).Només hi havia 10 dones en el total de positius de la mostra.

No s'han pogut obtenir més dades sociodemogràfics atès les circumstàncies en que es fan les proves al carrer i la sensibilitat dels subjectes que es van sotmetre a la realització de la mateixa .

Del total de proves el **64,5% %** ha estat positiu a la presència d'una droga,el **30,4%** positiu a dues drogues i tres o més drogues es troben en el **5,1%** dels positius (fixant-nos en els resultats un cop confirmats). tal com s'ha exposat en els resultats en les gràfiques. La barreja de haixix i cocaïna és la associació més freqüent. De forma independent el haixix i la cocaïna són les més representades, en uns percentatges semblants (**50.5% haixix vs. 49.5% cocaïna**) segons el kit Cozart però un cop observat els falsos positius i falsos negatius fa que el percentatge com a droga única i predominant sigui el **haixix** amb un percentatge del **55%** respecte un **45 %** de la **cocaïna**. Observar també que quan es detecta només una droga ens trobem sempre davant haixix o cocaïna (102 casos). Això coincideix amb les tendències actuals on es veu que ambdues substàncies són avui les més prevalents mentre que el consum d'opiacis ha disminuït. La presència de amfetamines i metamfetamines també ha estat minoritària en relació amb les altres drogues esmentades.

La confirmació de les proves de screening del test Cozart ha estat avaluada en un 92,9%. L'estudi confirmatori mitjançant la CG-MS ha permès detectar la presència de 6 casos positius a metadona i un de positiu a benzodiazepines encara que aquest analits no estan presents en el kit de detecció utilitzat.

Hem trobat alguna discrepància entre la visualització òptica dels encarregats de fer el test als conductors i la visualització realitzada per els membres de l'equip investigador. La confirmació d'aquestes anàlisis per CG-MS va indicar que la segona apreciació feta a l'arribada de la mostra al nostre laboratori era la correcta.

Hem tractat d'establir una relació i associació entre les drogues d'abús i la simptomatologia descrita en els dossiers omplerts en el moment de fer la prova als subjectes. Les proves d'associació d'aquestes variables han estat no significatives tal com hem exposat en la **taula 1**. Només hem trobat una relació significativa entre el consumidors de cocaïna i el estat anímic excitat ($p= 0,04$) i entre el haixix i l'estat de les pupil·les ($p= 0,012$). Es troba una associació estadísticament significativa entre els opiacis i l'estat de les pupil·les ($0,032$). Les dades sense estudi estadístic ja indiquen que la majoria de les subjectes que van donar resultats positius no presentaven signes massa destacats, amb excepció d'alguns. Es a dir, en general, en la població estudiada no hem trobat la relació significativa entre el consum de drogues i l'estat anímic, la coordinació motora, l'estat de les pupil·les, la marxa i el llenguatge, el quals es veuen alterats en alguns casos però no en la majoria. D'altra banda aquestes interpretacions poden no ser gaire objectives, atès que els subjectes poden haver pres altres substàncies com les benzodiazepines i l'alcohol que no han estat avaluades per el dispositiu de screening i poden influenciar en els símptomes que hem recollit. Tot això fa que els resultats d'associació de variables hagin de ser considerats de manera relativa

Aquest treball implica de forma indirecta fer una valoració de la utilitat dels dispositius comercials de detecció de drogues en saliva ,en aquest cas del Cozart. Amb independència dels estudis recents que hem presentat anteriorment sobre aquest dispositiu i les proves en conductors, la importància del tema es ressalta en la continuïtat de publicacions que fan referència als kits comercials i a les analítiques aplicades per a aconseguir el millors resultats en la detecció de drogues d'abús en saliva.

Diverses publicacions han seguit aquesta línia i, actualment, s'estudien mètodes per a aconseguir més exactitud en la recuperació de les drogues. Quintela i cols (60) descriuen la recuperació de varies drogues amb valors per l'oxazepam que superava el 97%, per amfetamines i metamfetamines el 93% i per les opiacis el 91% mitjançant el dispositiu Quantisal. La comparació d'aquest kit amb altres indica un rendiment superior.

En nostre estudi no teníem com objectiu quantificar ni valorar la recuperació dels resultats sinó confirmar els obtinguts per screening previ.

Una altra qüestió en relació al tema i d'interès és el límit de detecció que s'ha d'aconseguir en les anàlisis de les drogues d'abús en saliva. Actualment la SAMHSA fixa un punts de tall en els programes federals d'àmbit local on es fan aquestes proves. La detecció de cocaïna i cannabis els instruments Orater i, Uplink i Drugwipe han estat avaluats per a fixar punts de tall en aquests programes. Es van complir els límits fixats per la SAMHSA per a amfetamines, metamfetamines i opiàcis i el derivat àcid del cannabis. No obstant això els tres dispositius van aportar pobres resultats per el cannabinol als límits indicats per la SAMHSA (61). Els resultats tenen variabilitat amb les diverses drogues i les diverses matrius. La comparació amb saliva suor en alguns dispositius com el Salivette i amb relació a les xifres de la SAMHSA així ho indiquen (62).

Al nostre estudi amb el kit Cozart hem detectat i confirmat el cànnabis i hem trobat 6 falsos negatius. Alguns autors han estudiat les respostes de diversos kits i troben majors dificultats en la seva detecció que per altres drogues com metamfetamines i opiàcis. (63).

El cànnabis és una de les drogues més consumides en l'ambient lúdic. Hem constatat l'alta prevalença del mateix en la mostra. Els estudis es focalitzen en trobar-lo encara les dificultats que es presenten. Estudis confirmatoris sobre les mostres d'orina, saliva i suor en persones conductores ferides en accident de trànsit que van ingressar a l'hospital, en una mostra de conductors detectaven alguns dels metabòlits del cànnabis però no tots. La conclusió va ser que els dispositius havien de millorar-se a la fi de detectar la droga a concentracions baixes (64, 65).

Altres estudis quantitatives estudien les concentracions del cannabinol amb relació al plasma de conductors amb el Drager Drug Test però en aquest cas la exactitud va ser menys del 66% el que suposa que el dispositiu no va ser adequat (66).

El Kit Cozart també ha donat bona resposta en relació amb la detecció de cocaïna, encara que en la mostra hem trobat un total de 3 falsos positius tots ells de cocaïna.

No ens havíem plantejat veure la correlació de les drogues amb els valors en plasma atès que només hem rebut mostra de saliva i no d'ambdós fluids. Aquest objectiu era difícil d'aconseguir per les circumstàncies de recollida de les mostres tal com hem indicat referent a l'obtenció de dades sociodemogràfiques.

Les limitacions del estudi són diversos. Des d'un punt de vista analític van ser la poca quantitat de la mostra i la qualitat el que dificulta el seu tractament . No obstant això només hem desestimat 1 mostra on no va ser possible fer les analítiques. El procés d'extracció es va modificar i va suposar més temps de mesura a la fi d'aprofitar millor la escassa quantitat de saliva .

Una altre limitació va ser no tenir la grandària de la mostra que en principi havien indicat en el plantejament de l'estudi però aquest punt no va ser controlat per les investigadors, atès que la mostra s'havia de rebre de les policies i corresponien als seus plans d'actuació dins dels quals no podien intervenir. No obstant això considerem que els casos tractats ens donen una informació útil a tots els efectes.

Altre factor a considerar és la interpretació feta per les agents que van recollir les mostres. Pot haver una falta d'objectivitat o d'un error intraobservador no només en la lectura dels kits utilitzats sinó en la apreciació de la simptomatologia descrita en els models a omplir. No hi ha dubte que els resultats poden estar esbiaixats d' interpretació fent que disminueixi la seva credibilitat

Finalment els nostres resultats han permès confirmar els resultats del Kit utilitzat en la detecció de les drogues a peu de carretera. Les diferències obtingudes avaluen la consistència del kitt Cozart que de forma global ha donat uns resultats acceptables.

Línies futures d'investigació seran la continuïtat dels anàlisis a la fi de veure la prevalença dels consum en una mostra més amplia i posteriorment tractar de quantificar els valors de les drogues.

Al nostre criteri un nou disseny de l'estudi amb la possibilitat de comparar la presència i els valors de les drogues d'abús en sang i saliva seria aproximar-se

a tenir dades de drogues a la fi de crear bases on es pugui elaborar més conclusions.

Encara estem allunyats de tenir una legislació que permeti sancionar el consum de drogues d'abús en la conducció de vehicles a motor de la mateixa manera com es fa amb l'alcohol però s'ha d'anar avançant en el tema.

El nostre estudi aporta dades estadístiques de valor als efectes de prevalences de consums en una mostra d'interès social. S'ha de considerar que encara que la mostra no és aleatòria ja que es va fer en un col·lectiu determinat uns dies determinats i a unes hores fixades és una mostra molt representativa d'una població que preocupa a la societat i per aquesta raó el seu valor és estimable, ja que es tracta d'una part activa en la conducció de vehicles a motor.

Al nostre criteri l'estudi va aconseguir els objectius assenyalats. S'han obtingut dades que no eren conegudes i la mostra sembla d'importància per a la valoració dels resultats.

Hem indicat els resultats de les associacions del consums de drogues d'abús amb les alteracions del subjectes, un dels objectius del estudi. L'apreciació de les possibles alteracions en els subjectes de la mostra permet indicar que la majoria de les vegades l'individu es troba en condicions que no es veu clarament que alteri molt les seves capacitats de reacció i conducció.

Encara que es conegut que els efectes negatius estan presents en tot acte de les persones sota la influència de tòxics i en conseqüència el seu sentit de la realitat estarà distorsionat les dades no mostren d'una manera important ni significatives aquestes apreciacions. Allò és una de les principals conclusions de l'estudi que volen remarcar de manera especial amb les consideracions que hem fet en relació a l'estudi estadístic d'associació de variables.

4-B Aspectes legislatius actuals i repercussió futura.

Finalment hem revisat i avaluat alguna normativa que tracta el consum de drogues d'abús en saliva com prova legal.

En la legislació dels països hi ha hagut alguns canvis en relació amb el consum de drogues en població conductora.

Al regne Unit el UK Railways and Transport Safety Act of 2003 permet administrar tests preliminars en conductors si hi ha sospites raonables que s'enumeren en les seves actes.

A Austràlia, a l'estat de Victòria, la legislació va introduir en el 2003 l'autorització per realitzar aquestes determinacions a peu de carretera per a cànnabis i metamfetamines i accepta la saliva com una prova evident (67,68)

S'espera que aquesta tendència continuarà i molts governs permetran els tests en saliva sobretot quan aquests siguin fiables. D'altra banda la mostra per a l'evidència de la prova probablement continuarà sent la sang.

Al nostre país l'article 379 del Codi Penal recull penes per al que condueixi vehicles de motor o ciclomotors sota la influència de drogues tòxiques, estupefaents, substàncies psicòtropes o de begudes alcohòliques. La punició del consum d'aquest tipus de substàncies constitueix una protecció indirecta de la salut pública, en la mesura que tal consum influeix en la conducció de vehicles de motor, posant en perill la seguretat del trànsit.

Amb relació als efectes de medicaments i substàncies tòxiques que menyscaben l'aptitud per conduir, la legislació espanyola contempla, en els Art. 27 i 28 del R.D. 13/1992, les normes sobre estupefaents i substàncies psicòtropes. Així, estableix la prohibició de circular per les vies de trànsit a tot

conductor que hagi consumit drogues tòxiques o estupefaents o es trobi sota els efectes de medicaments o altres substàncies que alterin l'estat físic o mental que li facin conduir amb perill. L'obligació de sotmetre's a les proves s'estén a totes aquelles persones que es trobin en situacions anàlogues respecte a la investigació de l'alcoholèmia. Les esmentades proves consistiran en la realització d'un reconeixement mèdic i d'anàlisis clínics. Aquests últims podran ser sol·licitats pel metge forense, un altre titular experimentat o facultatiu del centre sanitari o mèdic al qual sigui traslladat el conductor. També es preveu la possibilitat que aquestes proves siguin contrastades en idèntica forma a com es va fer en el cas de l'alcohol.

La participació d'Espanya en el projecte ROSITA -2 (Servei de Toxicologia Forense de l'Institut de Medicina Legal de la Universitat de Santiago de Compostela) ha tingut conseqüències positives amb impacte en la legislació. similar al que ha passat en països com Finlàndia i Noruega. És la primera vegada que s'intenta canviar la llei per permetre en alguns casos fer una presa de sang als conductors per demostrar la presència de drogues. Un instrument dels utilitzats per l'autoritat en el screening de saliva aportaria una prova presumptiva de consum de drogues. En l'actualitat la policia espanyola no es troba equipada amb aquests kits de detecció

4-C APLICABILITAT PRÀCTICA DE L'ESTUDI

Els resultats obtinguts així com els altres procedents de diferents treballs obren la possibilitat d'arribar a proposar canvis legislatius en relació a la conducció de vehicles sota la influència de les drogues.

Pot ser que encara hagi de passar temps per aquest fi però la obtenció de dades de prevalença, consums de població i dades sociodemogràfics són indicadors d'interès sanitari i social en salut pública.

Considerem que aquest estudi contribueix a aquests fi encara que s'hagi d'ampliar la mostra i continuar els estudis per a comparar els resultats con altres fluids com la sang.

4-D.ANNEX: Fulls autocopiats de denúncia

Generalitat de Catalunya
Institut de Medicina Legal de Catalunya
Servei de Patologia Forense
Laboratori

servei català de **Trànsit**

Data: 28/05/07
Núm. d'entrada: 013107
Núm. de sortida: _____

Guàrdia Urbana / Policia Local de _____

Núm. diligències / expedient	Agents actuants
<u>51003534</u>	<u>1107/1283</u>
Lloc	Data Hora
<u>Plaça Antic Forum 24/05/07 12:00</u>	

Mostra per a analítica de drogues tòxiques, estupefaents o substàncies psicotròpiques

Dades de la persona

Cognoms	Nom	Edat	Tipus de doc. identificatiu	Número
			<u>DNI</u>	

Dades del vehicle conduït i lloc dels fets

Tipus	Color	Marca	Model	Matricula	País
Via/Carrer	PK/Núm.	Municipi	Pàrtil judicial		

Causa que ha motivat l'actuació

Control preventiu Accident de trànsit Infracció del reglament _____

Test de camp

S'ha realitzat alcoholèmia sí no Resultat de l'alcoholèmia: _____

Constitució física	<input type="checkbox"/> Corpulent	<input checked="" type="checkbox"/> Mitjà	<input type="checkbox"/> Menut	<input type="checkbox"/> NS/NC
Estat de les pupil·les:	<input type="checkbox"/> Molt dilatades	<input type="checkbox"/> Dilatades	<input checked="" type="checkbox"/> Gens dilatades	<input type="checkbox"/> NS/NC
Parla o llenguatge:	<input type="checkbox"/> Molt confús	<input type="checkbox"/> Confús	<input checked="" type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> NS/NC
Coordinació motora	<input type="checkbox"/> Molt alterada	<input type="checkbox"/> Alterada	<input checked="" type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> NS/NC
Caminar:	<input type="checkbox"/> Molt alterat	<input type="checkbox"/> Alterat	<input checked="" type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> NS/NC
Estat anímic:	<input type="checkbox"/> Molt excitat	<input checked="" type="checkbox"/> Excitat	<input type="checkbox"/> Relaxat	<input type="checkbox"/> Molt relaxat <input type="checkbox"/> NS/NC

OBSERVACIONS:

Els agents actuants sol·liciten a la persona les dades de la qual s'especificuen una mostra de saliva per realitzar una anàlisi automàtica mitjançant test reactiu amb caràcter de prova de detecció de substàncies estupefaents, psicotròpiques o similars. El resultat del control previ ha estat de:

Indicis de haixix amfetamines cocaïna opiàcis derivats de l'heroïna metamfetamines

Signatura dels agents actuants _____

Dades de l'obtenció de la mostra

Data de l'obtenció	Hora de l'obtenció	Tipus de mostra	Bossa precintada núm.
<u>24/5/07</u>	<u>17:05</u>	<input checked="" type="checkbox"/> Saliva <input type="checkbox"/> Altres: _____	<u>PJG-05</u>

Dades entrega de la mostra

Data: _____ Hora: _____
 Institut de Medicina Legal de Catalunya. Ctra. Nacional 150, km 1,5. 08110 Montcada i Reixac (Barcelona)
 Tel.: 93 575 42 24 Fax: 93 575 05 65
 Fer l'entrega al laboratori dilluns no festiu, de 8.30 a 14 hores.

Signatura dels agents actuants _____ Signatura del / de la facultatiu/iva de l'IMELEC _____

L'Institut de Medicina Legal de Catalunya ha d'informar dels resultats: Segell i rebuda

Ajuntament de _____
 Guàrdia Urbana / Policia Local de SURDAS (en relació amb el núm. d'expedient, _____)

Signatura del / de la facultatiu/iva de l'IMELEC _____

Cadena de custòdia

Lloc	Data	Hora	Lliura	Rep	Signatures

Núm. d'assumpte Institut Nacional de Toxicologia / Institut de Medicina Legal de Catalunya

Original per a la Guàrdia Urbana / Policia Local - Copia blava per al G. Copia verda per a l'Institut de Medicina Legal de Catalunya



servei català de

Trànsit

POLICIA MUNICIPAL

Guàrdia Urbana / Policia Local de

GIRONA

Núm. diligències / expedient

51007934

Agents actuants

11162 / 10143

Lloc

CTM ARAÚG FORADU

Data

25/10/19

Hora

17:00

Acta de drogues tòxiques, estupefaents o substàncies psicotròpiques

Dades de la persona requerida

Cognoms i nom

Núm. de permís de conduir

Informació dels drets

(D'acord amb l'article 12 de la Llei de seguretat viària i els articles 27 i 28 del Reglament general de circulació)

Droques tòxiques, estupefaents, psicotròpiques

- Les proves per a la detecció de substàncies estupefaents, psicotròpiques, estimulants o unes altres de semblants consisteixen normalment en el reconeixement mèdic de la persona i en les anàlisis que el metge forense, un altre titular experimentat o personal facultatiu del centre sanitari, unitat mòbil sanitària o institut mèdic al qual s'igüeu traslladat/ada considerin adients.
- La prova de control de detecció de drogues tòxiques, estupefaents o substàncies psicotròpiques que realitzaran els agents de l'autoritat consisteix en un sistema d'anàlisi salivar mitjançant un test reactiu de detecció. Per aquest motiu, aquesta prova únicament ho és a efectes indiciaris.
- En el supòsit que el resultat de la prova realitzada pels agents fos positiu, aquests han de sol·licitar una mostra salivar vostra per fer una anàlisi posterior. Així mateix, podreu sol·licitar ser traslladat/ada a un centre sanitari als efectes de practicar els reconeixements mèdics i/o les anàlisis clíniques que el facultatiu del centre sanitari consideri més convenients, que poden consistir en l'obtenció de mostres per a anàlisis de sang o altres. L'obtenció d'aquestes mostres o reconeixements també podrien realitzar-se al mateix punt de control en una unitat mòbil sanitària.
- Les mostres obtingudes pels agents de l'autoritat així com pel personal facultatiu que hi intervingui, en el seu cas, es traslladaran per a la seva anàlisi a l'Institut de Medicina Legal de Catalunya (IMELEC).
- En el cas que l'anàlisi realitzada per l'IMELEC sigui positiva, s'iniciarà el corresponent expedient sancionador per infracció de l'article 27 del Reglament general de circulació. Així mateix i, si escau, es posarà en coneixement de l'ordre jurisdiccional penal als efectes oportuns.
- Teniu dret a formular les al·legacions o observacions que considereu oportunes vós mateix/a, la persona que us acompanya o defensor, si en teniu.

La negativa de la persona conductora a sotmetre's a les proves legalment establertes pot comportar la comissió d'una infracció molt greu, que preveu l'article 65.5 b de la Llei esmentada, sancionada fins a 600 € Us informem, així mateix, que la negativa a realitzar aquestes proves pot també comportar, si el procediment s'estableix dins de l'àmbit penal, un presumpte delicte de desobediència greu (art. 380 en relació amb l'art. 556 del Codi penal), castigat amb pena de presó de 6 mesos a 1 any.

D'acord amb el que disposa l'article 70 de la Llei de seguretat viària, els agents de l'autoritat poden immobilitzar el vehicle.

Al·legacions que vol fer

La persona ha manifestat expressament que sí / no vol acompanyar de forma voluntària els agents a un centre hospitalari o institut mèdic per a la realització de la prova que el personal sanitari consideri adient en relació amb la detecció de drogues tòxiques, estupefaents o psicotròpiques.

sí / no vol formular al·legacions.

Signatures

Signo aquest imprès lliurement, com a prova de conformitat, juntament amb les persones que hi han intervingut.

Agent que fa la lectura dels drets

Persona requerida

Testimoni (si n'hi ha)

no desitja signar

Substitució de la persona conductora

Dades de la persona que es responsabilitza de la conducció del vehicle

Núm. de permís de conduir

Classe

Cognoms i nom

La persona designada per conduir el vehicle ha estat sotmesa voluntàriament a la prova de detecció de drogues tòxiques, estupefaents o substàncies psicotròpiques i el resultat és NEGATIU.

Signatura de l'agent actuant

Signatura de la persona requerida

Signatura de la persona substituïda

5 Referències Bibliogràfiques

- 1- Mandel ID. *The diagnosis use of saliva. J Oral pathol med* 1990 (19): 119-125
- 2- Larmas M. *A new deepslide thecnique for countingof saliva lactobacilli. Proc Finn Dent Soc* 1975 (71).31-5.
- 3- Kneist S, heinrich-Weltzien R. *Mikrobiologische chair-side test. Entsorgung in der zanzhart praxis, Philip* 1997 (14).357-70
- 4- JKM Aps K. van den maagdenberg, Delange JR, Martens LC. *Flow citometry as a new method to quantify the cellular content of human saliva and its relation to gingivitis. Clin Chem Acta* 2002 (321) :35-41
- 5- Veerman E, van den Keijbus A, van Nieuw Amerongen. *Human glandular salivas: their separate collection and analysis. Eur J Oral Sci* 1996(104):346-352
- 6- Rourke K, Edwards A. *Submandibulary secretory and vascular responses to stimulation of the para sympathetic innervation in anesthetized cats. J Appl physiol* 2000 (89):1964-1970
- 7- Thomopulos G, Garret J, Proctor G. *Ultrastructural histochemical studies of secretory processe in rat submandibular tubules during intermitent sympathetic nerve stimulation. Eur J morphol* 2000 (38):69-70
- 8- van Nieuw Amerongen. *Vorming en secretive van speeksel. In: van Nieuw Amerongen Ed, Speeksel speekselklieren en mondgezondheid, Bohn stafleu Van Loghum, Houten* 2004 (3): 23-26
- 9- Mazariegos M, Tice L, hand A. *Alteration of tight junctional permeability in the rat parotid gland after isoproterenol stimulation. J Cell Biol* 1984 (98): 1865-1867
- 10- Matsuo R, Ggarret J, Proctor G, Carpenter G. *Reflex secretion of proteins into submandibular saliva in conscious , before and after preganglionic sympathectomy. J Physiol* 2000 (527):175-184
- 11- Luo W, Latchney D, Culp D, G *protein coupling to M1 and M3 muscarinic receptors in sublingual glands. Am J Physiol Cell Pysiol* 2001 (280): C884-C889

- 12- Sreebny L. *saliva in health and disease. an appraisal and update. Int dent j* 2000 (50):140-161
- 13- Haeckel R, Hanecke P. *The application of saliva, sweat and tear fluid for diagnostic purposes. Ann Biol Clin* 1995,Paris 1993 (51): 903-910
- 14- H.J.G.H.Oosterhuis *Klinische neurologie. Both Stafleu Van Loghum. Houten* 1999
- 15- Moore P, Guggenheimer j, Etzel k, Weynant R, Orchard T. *Type I diabetes mellitus, xerostomia and salivary flow rates. Oral Surg Oral med.Oral Pathol. Oral radiol Endodontol* 2001 (92):281-291
- 16- Lin A, Jonhson D, Patterson T, Wu Y, Lu D, Shi Q y cols. *Salivary anticandidal activity and saliva composition in an HIV-infected cohort. Oral Microbiol Inmunol* 2001 (16):270-278
- 17- Das S, Newman H, Olsen I. *keratocyte growth factor receptor is upregulated in cyclosporin A-induced gyngival hiperplasia. J Dent Res* 2002 (81) 683-687
- 18- Lamey P. *Burning mouth syndrome. Dermatol Clin* 1996 (14):339-354
- 19- Epstein S, Mandel I, Scopp I. *salivary content in hemodialysis patients. J periodontol* 1980 (51):336-338
- 20- Vissing A, van Nieuw amerongen, E Th. H.G.J. Oremus. *De invloed van geneesmiddelen op het orofaciale gebied. ned Tijdschr tandheelk* 1999 (106):254-263
- 21- Abdollahi M, Minaiee A, Yaaghoubi A. *structural and functional changes by ciprofloxacin of rat submandibular gland. Hum Exp Toxicol* 2003 (22):177-181
- 22- Mott A, Leopold D. *Disorders in taste and smell. Med Clin North Am* 1991 (75)1321-1353
- 23- Miller S. *Saliva testing- a non tradicional diagnostic tool. Cli Lab Sci* 1994 (7) 39-44
- 24- Kidwell D, Holland S, Athanaselis S. *Testing for drugs of abuse in saliva and sweat. J Chromatograf B* 1998 (713):111-135
-

- 25- Paxton J. *measurements of drugs in saliva: a review. methods finding Exp Clin Pharmacol* 1979 (1):11-21
- 26- Vining R, McGinley R. *Hormones in saliva . Critt. Rev Clin Lab Sci* 1985 (23):95-146
- 27- Scharmann W, Smith R, Craig P. *Methods of simplified saliva collection for the measurement of drugs of abuse, therapeutic drugs and other molecules. Ann NY Acad Sci* 1993 (694):311-313
- 28- Mandel I. *Salivary diagnosis:promises, promises: J Oral Pathol Med Ann NY Acad Sci* 1993 (1):xi-xii
- 29- Mucklow J, Bending M, Kahn G, Dolery C. *Drug concentration in saliva . CLin Pharmacol Ther* 1978:573-570
- 30- Dawes . *onsiderations in the development of diagnostic test on saliva. Ann NY Acad Sci* 1993.265-269
- 31- Jones A. *Measuring etanol in saliva with the QDE enzymatic test device. comparison of results with blood and breath alcohol concentration. J Anal Toxicol* 19 (1995): 169-174
- 32- S. Matin, S Wan, J karam,. *Pharmacokinetics of tolbutamide in man: prediction by tolbutamine concentration in saliva. Clin Pharmacol Ther* 24 (1978):563-570
- 33- L Thompson, E Cone. *Determination of delta-9-tetrahydrocannabinol in human blood and saliva by high –performance liquid chromatography with amperometric detection. J Chroimatograf* 421(1) 1987 91-97
- 34- © O’neal, D Crouch, D Rollins , A Fatah, M chever. *Correlation of saliva codeine concentrations with plasma concentrations after oral codeine administration. J Anal toxicol* 23 (6) (1999) 452-459
- 35- K Kato, M Hillsgrove, L Weinhold, D Gorelick, D Darwin, E Cone. *Cocaine and metabolite excretion in saliva under stimulated and not stimulated conditions. J Anal Toxicol* 17 1993 338-341
- 36- C O’Neal, D Crouch, D Rollins, A Fatah. *The effects of collection methods on oral fluid codeina concentrations. J Anal Toxicol* 23 (6) 2000:536-542.

- 37- D Crouch, J day, J baudys. *Evaluation of saliva//oral fluid as an alternative drug testing specimen- Final report national Institute of Standars and Technology (NISTR7139 Gaitherburg MD)2004: 1-70*
- 38- G Jones, D Pounder. *Site dependence of drugs concentrations in postmortem blood-a case study. J Anal Toxicol 11 1987 186-190*
- 39-)R. Leute, E.F. Ullman, A. Goldstein, *Spin immunoassay of opiate narcotics in urine and saliva, J.Am.Med.Assoc.221 (1972) 1231-1234*
- 40- H.W.Peel,B.J.Perrigo,N.Z.Mikhael, *Detection of drugs in saliva of impaired drivers, J.Foren.Sci. 29 (1984) 185-189*
- 41- G.Starner, D. Mascord, B. Tattam, R. Zeleny, *Analysis for drugs in saliva, CR 141 Australian government publishing service, Canberra 1994 pp 1-76.*
- 42- H.P. Krugger, E. Shcultz, H. Magerl, *The german roadside survey 1992-1994. Saliva analyses from an unselected driver population : licit and illicit drugs, in: C.N. Kloeden, A.J. Wada, A. McLean (Eds), Alcohol, Drugs and safety- T 95NHMRC Road accident research unit, University of Adelaide, Adelaide , 1995 , pp. 55-62*
- 43- L.Leyssens, H. Penxten, D. Nijst, V. Haesen, E. Royackers, J. Raus, C. van Hieren, N. Bouvier, S. Xaborov, I. Verdonk, V eckelmans, *Usefulness of saliva for the detection of substances in proceedings of the Simposium on alcohol drugs and trfic safety, Belgian Road Safety Institute , Brusells May, 26 1997.*
- 44- D malamud, L Tabak. *Saliva as a diagnostic fluid. Ann NY Acad Sci 694 1993*
- 45- P Costa, H Cahauncey, C Rose, K Kapur. *Relationship of parotid saliva flow rate and composition with personality traits in healhy men. Oral SUrg 50 1980 416-421*
- 46- E Cone. *legal workplace and treatment drug testing with alternative biological matrice on a global scale. Forensic Sci Int 121 2001 7-15*
- 47- *Frye v US 293 Fed 1013 DC Cir 1923*
- 48- M Navazesh. *methods for collection of saliva. Ann NY Acad Sci 694 1993 73-77*

- 49- Department of health and Human Services Subsatnce Abuse and mental Heath Services Administration. *Proposed revisions to Mandatory Guidelines for federal Workplace Drug Testing Programs* 69 FR 19673 2004
- 50- C Knott, F Reynolds. *Citrate and salivary drug measurement* Lancety 1 1987 97
- 51- L Thompson, D Yousefnejad, K Kumor, M Sherer, E Cone. *Copnfirmation of cocaine in human saliva after intravenous use* J Anal Toxicol 11 1987 36-38
- 52- US v Stevens 935 F 2d 1380 (3rd Cir 1991).
- 53- E Cone, S Menchen. *Stability of cocaine in salive.* Clin Chem 34 1988 1508
- 54- A Jones. *assesssment of an automated enzymatic method for ethanol determination in microsamples of salicva.* Scand J Clin Lab Invest 39 1979 199-203
- 55- D Ho, R Bynngton, R Schooley, T Flynn, T Rota, M Hirsh. *Infrequency of isolation of HTLV-III virus from saliva in AIDS* N Engl J Med 313 1985 1606
- 56- R leute, E Ullman, A golstein. *Spin inmunoessay of opiate narcotics in urine and saliva.* JAMA 221 1972 1231-1234
- 57- D Clasing, H Alfes, H Mollmann, J Reisch. *On the demonstration of metamphetamine (Pervitin) in human saliva. On the problem of doping.* Z Klin Chem Klin Biochem 6 1968 108-109
- 58- *Guidelines for Testing Drugs Under International Control in Hair, Sweat and Saliva.* United Nations Office for Drugs Control and Crime Prevention New York 2001
- 59- Department of Transportation. *Procedures for Transportation Workplace Drug and Alcohol Testing Programs. Procedures for Non- Evidencial Alcohol Screening Devices. Final Rule* 69 FR 79461 19 December 2000
- 60- Quintela O, crouch D, andrenyak D. *Recivery of drugs of abuse from the Immunalysis quantisal oral fluid collection device.* L Anal Toxicol 2006;30(8):614-6

61- Crouch D, Walsh J, flegel R, cangianelli L, Baudys J, Atkins R. An evaluation of selected oral fluid point of collection drug-testing devices. *J Anal Toxicol* 2005;29 (4):244-8.

62- Samyn N, De Boeck G, Verstraete A. The use of oral fluid and sweat wipes for the detection of drugs of abuse in drivers. *J Forensic Sci* 2002;47(6):1380-7

63- Walsh J, Flegel R, Crouch D, cangianelli L, Baudys J. An evaluation of rapid point of collection oral fluid drug testing devices. *J Anal Toxicol* 2003;27(7):429-39

64- Kintz P, Cirimele V, Iudes B. Detection of cannabis in oral fluid (saliva) and forehead wipes (Sweat) from impaired drivers. *J Anal Toxicol* 2000;24(7):557-61

65- Kintz P, Bernhard W, villain m, Gasser M, Aebi B, Cirimele V. Detection of cannabis use in drivers with the drugwipe device and by GC-MS after intercept device collection. *J Anal Toxicol* 2005;29(7):724-7

66- Ialoup M, Del mar ramirez M, wood M, De boeck G, Maes V, samyn N. Correlation of d- tetrahydrocannabinol concentrations determined by LC-MS-MS in oral fluid and plasma from impaired drivers and evaluation of the on-site Druger Drug Test. *Forensic Sci Int* 2006;161 (2-3):175-9

67-Parlament of Vicyoria. road safety (drug Driving)Act 2003.111/2003,

68- Walsh J, Gier J, christopherson A, verstraete A. Drugs and driving. *Traffic Inj prev* 2004;5:241-253