

# Evaluación de dos métodos de cuantificación de fentanilo en el lugar de atención mediante espectroscopía de infrarrojos con transformada de Fourier

Samuel Tobias, MSc, y Lianping Ti, PhD.

## Resumen

En Columbia Británica, el testeo de sustancias mediante espectroscopía de infrarrojos con transformación de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés), permite dos métodos semi-cuantitativos diferentes para determinar la concentración de fentanilo: el análisis de mezclas y el análisis cuantitativo de Bruker 2 (QUANT 2). Ninguno de estos métodos cuenta con una evaluación y validación formal para este fin específico. Con el objetivo de evaluar la capacidad de estos dos métodos para calcular la concentración de fentanilo en las muestras de comprobación de sustancias, se compararon los resultados con una norma de referencia de laboratorio: la resonancia magnética nuclear cuantitativa (qNMR, por sus siglas en inglés). Los hallazgos indican que las diferencias absolutas promedio de la concentración en la comparación de qNMR con el análisis de mezclas y QUANT 2 fue del 5.2 % y del 1.1 % respectivamente, donde ambos métodos muestran una tendencia a subestimar las concentraciones de fentanilo en concentraciones más altas y a sobrestimarlo en concentraciones más bajas. Ambos métodos requieren de mayor desarrollo, ya que existen riesgos potenciales asociados con una falta de precisión en la información de cuantificación que se proporciona a las personas. Para cuantificar mejor el fentanilo en el lugar de atención, es posible que el uso de métodos alternativos al software Bruker o al análisis de mezclas permitan más ajustes y valoración.

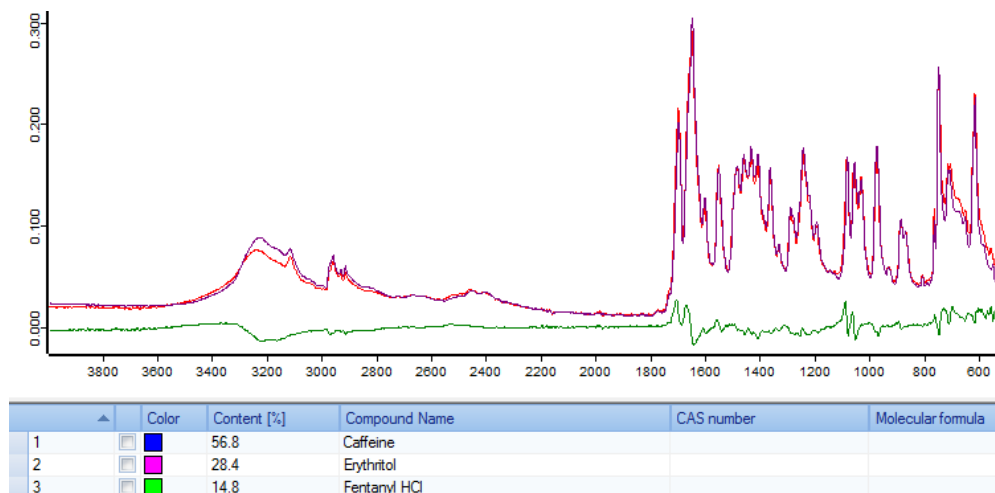
---

## Antecedentes

En respuesta al incremento sin precedentes en las muertes por sobredosis de los últimos años, las organizaciones a cargo de minimizar los riesgos que ofrecen comprobación de sustancias, recurrieron a la espectroscopía de infrarrojos con transformada de Fourier (FTIR) como el método preferido, puesto que ofrece muchos beneficios en comparación con otros métodos más costosos, prolongados o destructivos.<sup>1-4</sup> En síntesis, para realizar el testeo de sustancias mediante la FTIR, se escanea la muestra de droga en un espectrómetro para producir un espectro, una representación visual de la absorbancia de la luz infrarroja por parte de la muestra.<sup>5</sup> Luego, el espectro se coteja con un conjunto de bibliotecas de referencia para determinar las coincidencias e identificar los componentes, ya que los compuestos cuentan con espectros únicos y diferenciables. Si bien no se trata de un método inherentemente cuantitativo (es decir, permite una cuantificación absoluta de un compuesto por peso), la FTIR ofrece métodos que facilitan la cuasi cuantificación de los componentes en cuestión respecto de otros. En Columbia Británica (BC, por sus siglas en inglés), una gran cantidad de servicios de comprobación de sustancias utilizan los espectrómetros FTIR ALPHA o ALPHA II de Bruker y el software OPUS correspondiente (Billerica, Massachusetts, EE. UU.), lo que brinda dos modos de registro de los resultados de la cuantificación: 1) el análisis de mezclas y 2) el análisis cuantitativo de Bruker 2 (QUANT 2).

El primero, el análisis de mezclas, es un algoritmo que busca recrear el espectro de consulta (la muestra de la sustancia) mediante entradas en la biblioteca que mejor lo representen y, por consiguiente, puede registrar el índice de componentes como un porcentaje (Figura 1).<sup>6</sup> El

segundo, QUANT 2, es un modelo de predicción validado que permite un análisis de calibración multivariable y, de manera similar, está diseñado para analizar cuantitativamente los espectros a fin de determinar las concentraciones de componentes.<sup>7</sup> Para eso, QUANT 2 utiliza un método de ajuste parcial con una cantidad mínima de cuadrados que correlaciona la intensidad espectral en regiones de longitud de onda específicas con valores generados a partir de entradas de referencia (es decir, escaneos de FTIR en el lugar de atención que posteriormente se cuantifican por métodos confirmatorios).



**Figura 1.** Ejemplo de un resultado satisfactorio de una muestra con el análisis de mezclas. La línea roja es la muestra medida y la línea púrpura es una combinación de los porcentajes estimados. La línea verde es el remanente (la diferencia entre las dos).

Hasta ahora, la comprobación de sustancias en BC dependió principalmente del análisis de mezclas para determinar la concentración de fentanilo en muestras de drogas por dos razones fundamentales: accesibilidad y costo. QUANT 2 requiere información de cuantificación confirmada para desarrollar y validar un modelo, y existen costos asociados con la adquisición de QUANT 2, dado que no se trata de una funcionalidad básica de OPUS. Ninguno de estos métodos fue sometido a una evaluación y validación formal con muestras de comprobación de sustancias en el lugar de atención. Asimismo, el informe detalla ambos métodos, sus ventajas y desventajas, y considera desarrollos a futuro para la cuantificación del fentanilo en el lugar de atención en BC.

## Métodos

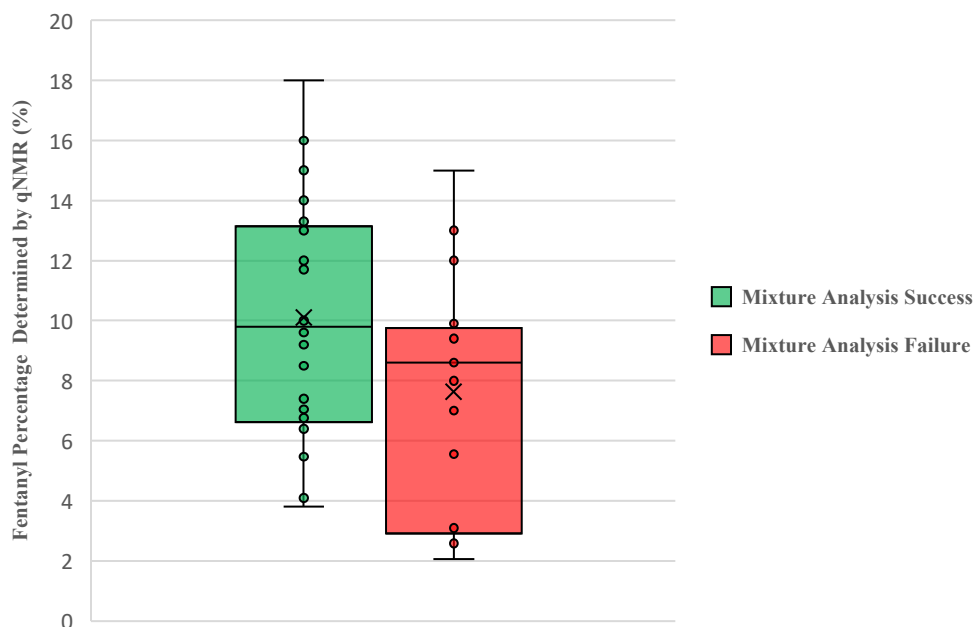
Los datos se obtuvieron de un conjunto de más de 1000 muestras de comprobación de sustancias confirmadas en BC entre abril de 2018 y mayo de 2020. En total, se seleccionaron 55 muestras para ser analizadas mediante los dos métodos de cuantificación en el lugar de atención. El criterio para la selección de estas muestras específicas fue la confirmación de que contengan clorhidrato de fentanilo (en lugar de otros análogos del fentanilo), que se asemejen lo mejor posible a los opioides típicos ilegales (comúnmente llamados “bajoneros” en BC) y, por consiguiente, que sea probable que comprendan muestras representativas como las que pueden encontrarse en cualquier turno de comprobación. Las muestras se analizaron con el modelo QUANT 2 desarrollado y, luego, con el análisis de mezclas. Los análisis de mezclas se realizaron con una sola biblioteca de referencia (BCCSU FTIR-ATR Library of Drugs and Common Adulterants [Biblioteca de drogas

y sustancias adulterantes comunes para FTIR-reflexión total atenuada {ATR, por sus siglas en inglés} del Centro de lucha contra toxicomanías de Columbia Británica {BCCSU, por sus siglas en inglés}} y se repitieron con cada vez más parámetros de componentes, hasta que se obtuvo el valor del fentanilo.

En primer lugar, se describieron los distintos componentes hallados en las muestras de drogas que incluían fentanilo. En segundo lugar, se evaluó la diferencia en las concentraciones de fentanilo entre las muestras en las que no se obtuvieron resultados de cuantificación para fentanilo mediante el análisis de mezclas, y aquellas que sí dieron resultados. En este caso, la falla se definió como la falta de resultados con un valor de cuantificación para fentanilo mediante el análisis de mezclas en los casos donde sí se detectó este componente durante el análisis sustractivo primario. Por último, los resultados de ambos métodos en el lugar de atención se trazaron en comparación con su respectivo resultado de qNMR (es decir, el valor real), y se calcularon las diferencias y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para cada método.

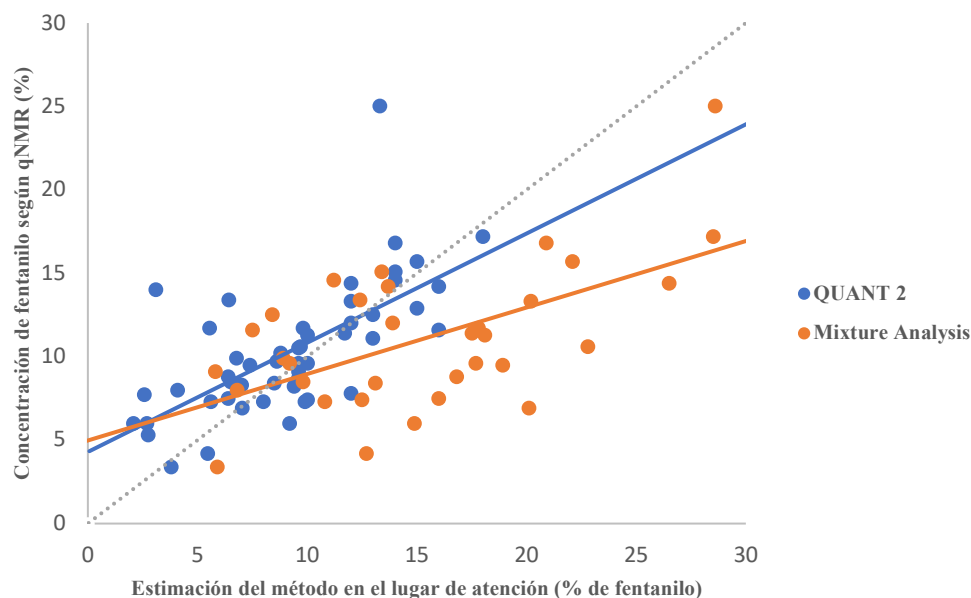
## Resultados

Aparte de fentanilo, el análisis mediante FTIR indicó que las 55 muestras de sustancias contenían otros componentes diversos: cafeína, alcoholes de azúcar (manitol, inositol, eritritol, xilitol), heroína, polietilenglicol y vitamina C. Cinco muestras donde los resultados de qNMR superaron el 20 % se consideraron atípicas y se retiraron, ya que su inclusión hubiera sesgado drásticamente los resultados. En general, las concentraciones de fentanilo (según se determinó con qNMR) para las 50 muestras restantes osciló entre un 2.1 y un 18.0 %. De las 50 muestras analizadas, el análisis de mezclas no indicó resultados de cuantificación de fentanilo en 17 (el 34.0 %) muestras. El análisis de mezclas no proporcionó resultados en muestras donde se confirmó que contenían fentanilo en un porcentaje entre el 2.1 % y el 15.0 % (un promedio del 7.6 %) (Figura 2).



**Figura 2.** Diagrama de distribución de datos que indica estadísticas descriptivas de las muestras de fentanilo donde se obtuvieron resultados mediante el análisis de mezclas (verde) y aquellas donde no se obtuvieron resultados (rojo).

Las estadísticas descriptivas de las diferencias con respecto al valor real (concentración de fentanilo según qNMR) para el análisis de mezclas indicaron un promedio de -5.2, una mediana de -5.8 y un rango de -15.3 a 8.5. Para QUANT 2, las diferencias con respecto a qNMR tuvieron un promedio de -1.1, una mediana de -0.9 y un rango de -11.7 a 4.4. La correlación positiva de valores fue más marcada para QUANT 2 y qNMR ( $R^2 = 0.45$ ) en comparación con el análisis de mezclas y qNMR ( $R^2 = 0.34$ ) (Figura 3). En concentraciones bajas, tanto QUANT 2 como el análisis de mezclas tienden a sobrestimar las concentraciones de fentanilo, y, en altas concentraciones, tienden a subestimarlos.



**Figura 3.** Diagrama de dispersión de la estimación de fentanilo en el lugar de atención según QUANT 2 (azul;  $n = 50$ ) y el análisis de mezclas (naranja;  $n = 33$ ) con líneas de regresión. La línea punteada de color gris indica una correlación perfecta.

### Resumen de los hallazgos

El análisis de mezclas es una función algorítmica patentada de OPUS, que busca recrear el espectro de consulta (muestra medida) usando las entradas de la biblioteca. El resultado (ejemplo en la Figura 1) indica concentraciones estimadas de componentes en formato de porcentaje. Cuando se utiliza el análisis de mezclas, hay dos factores que se deben seleccionar: 1) la cantidad máxima de componentes que se desea obtener y 2) qué bibliotecas usar. Si se ejecuta el mismo espectro mediante el análisis de mezclas, pero se ajustan estos factores, los resultados obtenidos serán diferentes. Para la comprobación de sustancias, a los técnicos se les instruye determinar primero qué componentes se encuentran presentes mediante un método llamado análisis sustractivo. Cuando se identifican los componentes, la cantidad total se puede usar como parámetro para el análisis de mezclas. Sin embargo, un problema importante que plantea el análisis de mezclas es que, si el algoritmo “omite” un compuesto identificado, no se indicará como parte de los resultados, y, como los resultados siempre suman el 100 %, el porcentaje de los demás compuestos resultará

sobrestimado. Por el contrario, si se ingresa un número muy alto de componentes, el análisis de mezclas puede arrojar falsos resultados (es decir, el algoritmo identifica incorrectamente a los componentes y les asigna un porcentaje). Para abordar este problema, a los técnicos de comprobación de sustancias se les instruye que rechacen la presencia de componentes detectados por el análisis de mezclas si no se identificaron durante el análisis sustractivo primario.

En este análisis, el 34 % de las muestras analizadas no indicó resultados con el análisis de mezclas. Es decir, incluso mediante la alteración subjetiva de los parámetros del análisis de mezclas, no hubo combinación que arrojara un valor de concentración de fentanilo. Los técnicos de comprobación de sustancias en BC suponen que esta incapacidad de obtener resultados de fentanilo con el análisis de mezclas se produce cuando los niveles de fentanilo son bajos y, por ende, “se omiten”. Sin embargo, la Figura 2 indica que puede ser una de diversas razones posibles, ya que el análisis de mezclas proporcionó resultados satisfactorios de fentanilo en muestras con un margen similar. Puede deberse a que se interfiere la señal de otros componentes o a que las muestras tienen demasiadas bandas infrarrojas superpuestas.

Es importante brindar información de cuantificación precisa y coherente a las personas que acceden a la comprobación de sustancias, en especial cuando la droga en cuestión es potente como el fentanilo. En el caso del análisis de mezclas, los resultados se presentan con un compuesto y un espectro residual que permite sacar conclusiones acerca de los resultados (es decir, si están sobrestimados o subestimados). Si bien los resultados de QUANT 2 se presentan sin datos contextuales, el análisis de las diferencias entre QUANT 2 y el análisis de mezclas con respecto a la cuantificación qNMR confirmatoria correspondiente revela diferencias del promedio absoluto del 1.1 % y el 5.2 %, respectivamente, con una tendencia a subestimar las concentraciones de fentanilo en concentraciones más altas y a sobrestimarlo en concentraciones más bajas. Estos hallazgos sugieren que existen limitaciones en ambos métodos de cuantificación, y los dos se deben usar con prudencia; sin embargo, QUANT 2 puede ser un modelo más preciso para implementar en la práctica. Vale la pena mencionar que estos hallazgos no deben extrapolarse a muestras donde las concentraciones de fentanilo sean altas (es decir, por encima del 20 %).

## **Conclusión**

Los métodos existentes para cuantificar el fentanilo en el lugar de atención se deben evaluar con mayor profundidad en virtud de los hallazgos de este estudio. Existen riesgos potenciales asociados con brindar información de cuantificación imprecisa. Además, el hecho de indicar rangos amplios para contemplar imprecisiones genera información de uso limitado para las personas que consumen drogas (PWUD, por sus siglas en inglés) y acceden a la comprobación de sustancias. Para cuantificar mejor el fentanilo en el lugar de atención, el uso de alternativas al software Bruker o al análisis de mezclas pueden permitir un mayor refinamiento y una mejor evaluación.

## **Financiamiento**

Este informe se realizó con el respaldo de una subvención del Health Canada Substance Use and Addictions Program (Programa de uso de sustancias y adicciones del Ministerio de Salud de Canadá) al BC Centre on Substance Use (Centro de lucha contra toxicomanías de Columbia Británica) con el fin de implementar y evaluar un estudio piloto de comprobación de sustancias en Columbia Británica (Convenio n.º: 1718-HQ-000024). Los organismos de financiamiento no

tuvieron ninguna participación en la investigación, el diseño o la redacción del informe, ni en la decisión de publicarlo. Los hallazgos que se informan en el presente no deben tomarse como garantía de las tecnologías específicas en el lugar de atención que se utilizaron para este estudio, y los autores expresan que no tienen conflicto de intereses.

## **Reconocimientos**

Los autores agradecen al personal del Drug Analysis Service de Health Canada (Servicio de análisis de sustancias de Health Canada) por prestar los servicios de pruebas de confirmación, en especial a Richard Laing, Francine Chartier y a Lilly Luu. También se agradece a Hadley Pearce por su asistencia con el diseño editorial.

## **Referencias**

1. Laing MK, Tupper KW, Fairbairn N. Drug checking as a potential strategic overdose response in the fentanyl era. *Int J Drug Policy*. 2018;62:59-66. doi:10.1016/j.drugpo.2018.10.001
2. Tupper KW, McCrae K, Garber I, Lysyshyn M, Wood E. Initial results of a drug checking pilot program to detect fentanyl adulteration in a Canadian setting. *Drug Alcohol Depend*. 2018;190:242-245. doi:10.1016/j.drugalcdep.2018.06.020
3. McCrae K, Tobias S, Grant C, et al. Assessing the limit of detection of Fourier-transform infrared spectroscopy and immunoassay strips for fentanyl in a real-world setting. *Drug Alcohol Rev*. 2020;39(1):98-102. doi:10.1111/dar.13004
4. Green TC, Park JN, Gilbert M, et al. An assessment of the limits of detection, sensitivity and specificity of three devices for public health-based drug checking of fentanyl in street-acquired samples. *Int J Drug Policy*. 2020;77:102661. doi:10.1016/j.drugpo.2020.102661
5. Tobias S, Shapiro AM, Grant CJ, Patel P, Lysyshyn M, Ti L. Drug checking identifies counterfeit alprazolam tablets. *Drug Alcohol Depend*. 2021;218:108300. doi:10.1016/j.drugalcdep.2020.108300
6. Bruker Corporation. OPUS/SEARCH User Manual. Version 7. March 10, 2017.
7. Bruker Corporation. OPUS Spectroscopy Software User Manual: QUANT. 2006.