



Tesis Doctoral

Doctorat en Medicina i Cirurgia
Departament de Pediatria, Obstetricia i Ginecologia i Medicina Preventiva
Facultat de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona

EXPOSICIÓN FETAL A DROGAS DE ABUSO DURANTE EL EMBARAZO EN LA ISLA DE EIVISSA

JOAN GARCÍA SERRA
Barcelona, 2013





Tesis Doctoral

Doctorat en Medicina i Cirurgia

Departament de Pediatria, Obstetricia i Ginecologia i Medicina Preventiva

Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

**EXPOSICIÓN FETAL A DROGAS DE ABUSO DURANTE EL EMBARAZO EN LA ISLA DE
EIVISSA**

Memoria presentada por Joan García Serra para optar al grado de Doctor por la Universitat Autònoma de Barcelona. Trabajo realizado bajo la codirección del Prof. Oriol Vall Combelles, el Dr. Óscar García-Algar y la Dra. Bibiana Fríguls Francitorra, de la Unitat de Recerca Infància i Entorn del Institut Mard'Investigació Mèdica de Barcelona (IMIM), Programa de Doctorat de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Firma del Director de Tesis

(Prof. Oriol Vall Combelles)

Firma del Director de Tesis

(Dr. Óscar García-Algar)

Firma del Director de Tesis

(Dra. Bibiana Fríguls)

Firma del Doctorando

(Joan García Serra)

Agradecimientos

A Norberta que me aceptó desde el primer momento

A mis hijos, Norberta y Toni, que recibiendo amor incondicional, tuvieron que adaptarse a las ausencias profesionales

A mis padres, María y Antonio, que me facilitaron la vida, desde el primer instante

Al Profesor Oriol Vall Combelles, que dirigió mis primeros pasos como Médico Interno Residente en el Hospital Son Dureta de Palma de Mallorca y ha seguido supervisando mis trabajos durante el doctorado con alto nivel profesional y sincera amistad.

A Óscar García-Algar eficiente y paciente codirector de tesis.

A Bibiana Fríguls y Javier Joya, colaboradores indispensables en el trabajo, desde su tarea habitual en el IMIM de Barcelona.

Agradecimiento especial a las 107 madres que participaron desinteresadamente en este estudio, pacientes del Hospital Can Misses, sin cuya colaboración hubiese sido obviamente imposible el mismo.

Agradecimiento infinito a las matronas del Hospital Can Misses de Eivissa que convencieron a las madres de la idoneidad del estudio y efectuaron personalmente las obtenciones de pelo, sangre de cordón y placenta:

Margarita Boned Palau

Carmen Vidal Murugo

Pilar Martínez Tur

Zoila Manso Sanz

A Dolors Balsells Roselló, Jefe de Servicio de Laboratorio Hospital Can Misses de Eivissa; Norberta Sánchez Rodríguez, Supervisora de Área de Laboratorio; Vicenta Palomino Gallardo, Supervisora de Laboratorio; y José Cortiguera Gil, Técnico de Laboratorio.

Al personal médico, de enfermería y auxiliar del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Can Misses de Eivissa, que obtuvo las muestras de meconio y leche materna.

Al Servicio de Pediatría del Hospital Can Misses de Eivissa.

Al personal de Archivos del Hospital Can Misses de Eivissa.

Abreviaturas

6-MAM: 6-monoacetilmorfina

AP: anfetamina

BE: benzoilecgonina

COC: cocaína

COT: cotinina

EtG: etilglucurónido

ETS: humo de tabaco ambiental

FAEE: etilésteres de ácidos grasos

FASD: *fetal alcohol spectrum disorder*

GC/MS: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

HER: heroína

LC/MS: cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

LOD: límite de detección

LOQ: límite de cuantificación

MDA: metanfetamina

MDMA: 3, 4-metiledioximetamfetamina

MOR: morfina

MS/MS: espectrometría de masas en tandem

NDI: *nicotine daily intake*

NIC: nicotina

OH-COT: hidroxicotinina

PCP: fenciclidina

SAD: síndrome de abstinencia a drogas

SoHT: Society Hair Testing

THC: tetrahidrocannabinol

Índice

	<u>Página</u>
Introducción	8
Distribución de las sustancias de abuso en seres humanos: fluidos y matrices no convencionales	11
Matrices biológicas alternativas	16
Justificación del trabajo y objetivos	27
Presentación de los trabajos (metodología)	29
Resultados	33
Discusión	39
Conclusiones	46
Copia de los trabajos publicados y admitidos	48
Publicación nº 1. García-Serra J , Ramis J, Simó S, Joya X, Pichini S, Vall O, García-Algar O. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. <i>An Pediatr (Barc)</i> . 2012 Apr 16. [Epub ahead of print] PMID: 22513392	
Publicación nº 2. Friguls B, Joya X, García J , Gómez-Culebras M, Pichini S, Martínez S, Vall O, García-Algar O. Assessment of Exposure to Drugs of Abuse During Pregnancy by Hair Analysis in a Mediterranean Island. <i>Addiction</i> . 2012 Feb 1. doi: 10.1111/j.1360-0443.2012.03828.x. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22296208	
Resumen	69
Bibliografía.....	71

Introducción

El consumo de drogas de abuso en adultos jóvenes, incluyendo mujeres en edad fértil, ha experimentado un incremento significativo en las últimas dos décadas. En este grupo de edad, la cifras de consumo en nuestro país son de las mayores de Europa, en especial para cocaína y cannabis (1). Según datos del último informe del Observatorio Español sobre drogas, las mujeres entre 15 y 34 años de edad que admitían el consumo de drogas en los 12 meses anteriores eran el 13,2%, el 3,2% y el 1,4% para cannabis, cocaína y éxtasis respectivamente (2-5).

La exposición prenatal a estas sustancias aumenta el riesgo de complicaciones obstétricas y tiene graves consecuencias, no solo en el desarrollo del feto, sino también del niño durante las etapas posteriores de la vida (6).

El consumo prenatal de cocaína se ha asociado con desprendimiento de placenta y parto prematuro, además de una tasa aumentada de bajo peso al nacer, microcefalia y anomalías congénitas (7-9). El consumo de cannabis durante la gestación se ha relacionado con falta de atención, impulsividad y deficiencia de atención y de memoria en los hijos (10). La exposición fetal a opiáceos se ha asociado principalmente con síndrome de abstinencia neonatal (5,11) y complicaciones obstétricas. Los efectos adversos del etanol en el embarazo quedan incluidos en el término general de trastorno del espectro alcohol fetal (en inglés, *foetal alcohol spectrum disorder* [FASD]), que incluye una serie de alteraciones físicas, conductuales y cognitivas (12). El consumo de tabaco durante la gestación dobla prácticamente el riesgo de la mujer de tener un recién nacido con bajo peso al nacer e incrementa el riesgo de parto pretérmino (13).

Los diferentes trabajos sobre detección de drogas de abuso en el embarazo coinciden en que existe una infradeclaración del consumo por las gestantes (14). El miedo a repercusiones legales, el sentimiento de culpa, sesgos de memoria o los métodos de entrevista son algunos de los factores que provocan que se minimice o niegue el consumo (15-18). La orina, utilizada de forma habitual como método de cribado, sólo detecta la exposición durante 1-4 días previos al parto (6,15,19).

La utilidad del cabello materno y del meconio como matrices biológicas para valorar la exposición prenatal a drogas de abuso ha sido descrita en los últimos años. Las sustancias de abuso y sus metabolitos se depositan de forma permanente en la matriz proteica del pelo, por lo que se pueden detectar en el cabello durante varios meses después de su consumo, lo cual supone una ventaja frente a otras matrices biológicas como la orina o la sangre, que están mucho más limitadas a la detección sólo de la exposición aguda durante las 24-48 horas anteriores (20,21). Además, el análisis del pelo materno ha demostrado ser más sensible en comparación con otras matrices con una ventana amplia de exposición como el meconio o el pelo neonatal (22-24). El cabello tiene un crecimiento de 1 cm al mes, lo que permite ampliar la ventana de detección hasta meses o años y proporcionar información de la exposición a lo largo de la gestación (6,15,19). La formación de meconio se inicia entre las 12 y 16 semanas

de gestación, por lo que la detección de drogas en esta matriz correspondería a los 2 últimos trimestres del embarazo (6,15,19,25).

Los datos referentes a la prevalencia del consumo de sustancias de abuso durante el embarazo proceden principalmente de Norteamérica, donde las tasas estimadas de recién nacidos expuestos prenatalmente a drogas ilegales oscilan entre el 6% y el 40% de todos los recién nacidos vivos (18,26-29). En Europa, existen muy pocos datos sobre el consumo de sustancias de abuso en mujeres embarazadas. En el Reino Unido, los estudios de prevalencia de consumo de sustancias de abuso en el embarazo se han llevado a cabo principalmente mediante cribado toxicológico en orina (30-33). En España, uno de los primeros estudios poblacionales a nivel europeo que ha valorado el consumo de drogas de abuso en embarazadas, demostró una prevalencia mediante el análisis de meconio del 10,9%, con una prevalencia específica de exposición fetal a heroína, cocaína y cannabis del 4,7, el 2,6 y el 5,3% respectivamente (16). Diferentes estudios han comparado matrices tradicionales y alternativas en algunas poblaciones concretas, habitualmente de riesgo o con antecedentes de consumo de sustancias de abuso (22,26,34), sin embargo no existen estudios poblacionales que hayan comparado pelo materno y meconio.

El último informe sobre el consumo de drogas en las Islas Baleares, muestra un consumo en la población general, en los 12 meses previos del 15,1%, 4% y 2,2% para cannabis, cocaína y éxtasis respectivamente, en comparación al 10,6%, 2,6% y 0,8% del resto del estado. En Eivissa/Formentera, en particular, se registra un consumo en los 12 meses anteriores del 15,5%, 3,9 y 1,6% (Tabla 1) (35,36).

	España	Islas Baleares	Eivissa/Formentera
Cannabis	10,6	15,1	15,5
Cocaína en polvo	2,6	4	3,9
MDMA	0,8	2,2	1,6
Heroína	0,1	0,2	0

Tabla 1. Consumo (%) de sustancias de abuso en población general en los 12 meses previos en las Islas Baleares

Distribución de las sustancias de abuso en seres humanos: fluidos y matrices no convencionales

Para producir sus efectos característicos, las sustancias de abuso deben estar presentes en unas determinadas concentraciones en su (s) centro (s) de acción. Aunque este hecho dependa en gran medida de la droga administrada, las concentraciones de las sustancias de abuso dependen del ciclo de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME) de dicha sustancia en el organismo: que abarca la absorción de la sustancia, la distribución en diferentes matrices y/o fluidos, la biotransformación y la excreción (Figura 1) (37).

Desde la década de los ochenta, la eventual presencia y disposición de una sustancia de abuso en el organismo y su correlación con los efectos clínicos ha sido evaluada mediante el análisis de plasma u orina, ya que no era posible o conveniente (por dificultad o invasividad) tomar muestras de diferentes matrices o fluidos biológicos. Sin embargo, durante las dos últimas décadas, la determinación de sustancias de abuso en fluidos y matrices biológicas diferentes a la sangre y la orina (“fluidos y matrices no convencionales”) han ido ganando importancia (38). Por un lado, la no invasividad en la recogida de muestras, el empleo de nuevos dispositivos dedicados a la recogida de muestras, diferentes posibilidades en los procedimientos de extracción y la disposición de nuevos métodos analíticos, han hecho posible la medición de cantidades ínfimas de sustancias extraídas de matrices biológicas complejas. Por otro lado, la determinación de sustancias de abuso y sus metabolitos en matrices biológicas no convencionales parece ser útil para tener la posibilidad de poder calcular los parámetros farmacocinéticos en el órgano diana y para la aplicación de la información obtenida en la toxicología forense y clínica.

MATERNAL EXPOSURE

IN UTERO EXPOSURE

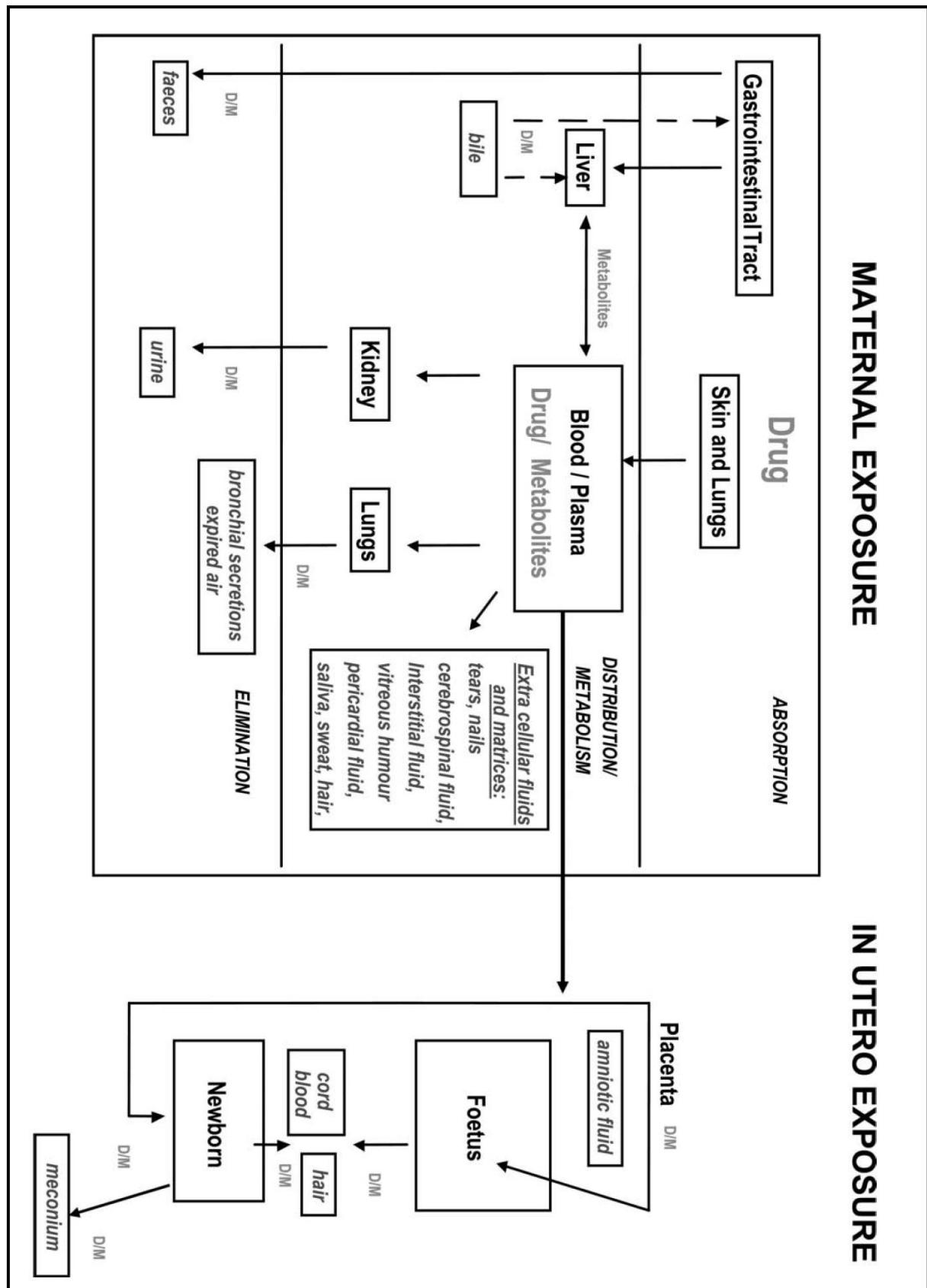


Figura 1. Esquema de la distribución de las drogas en el cuerpo humano.
(D/M=sustancia/metabolito)

Podemos clasificar las matrices biológicas según su aplicabilidad. Matrices como el humor vítreo y/o el líquido pericardio son habitualmente recogidas con una finalidad forense (39,40). En cambio, el pelo o las uñas proporcionan información acerca de la ingesta de sustancias de abuso en el pasado en relación a semanas hasta años y por lo tanto pueden ser utilizados en casos forenses (con la finalidad de buscar una causa de la muerte) o en casos clínicos (buscando la causa de un efecto clínico crónico) (21,41). Otras como el sudor y la saliva nos ofrecer información acerca de un consumo reciente y esta información puede ser asociada a unos efectos agudos (42,43).

Algunos de estos fluidos y/o matrices pueden estar relacionadas con el periodo de gestación y también pueden ser útiles con el fin de aportar información toxicológica de la etapa intrauterina del recién nacido: como la presencia de drogas en sangre del cordón umbilical así como en el líquido amniótico, el pelo fetal o el meconio (Figura 2).

Como muestra la Tabla 2, por sus características (aplicabilidad en toxicología clínica y forense, baja invasividad y capacidad de recolección de las muestras) las matrices biológicas como el meconio, el pelo y los dientes se han postulado como útiles para evaluar la exposición crónica a sustancias de abuso durante diferentes etapas de la infancia.

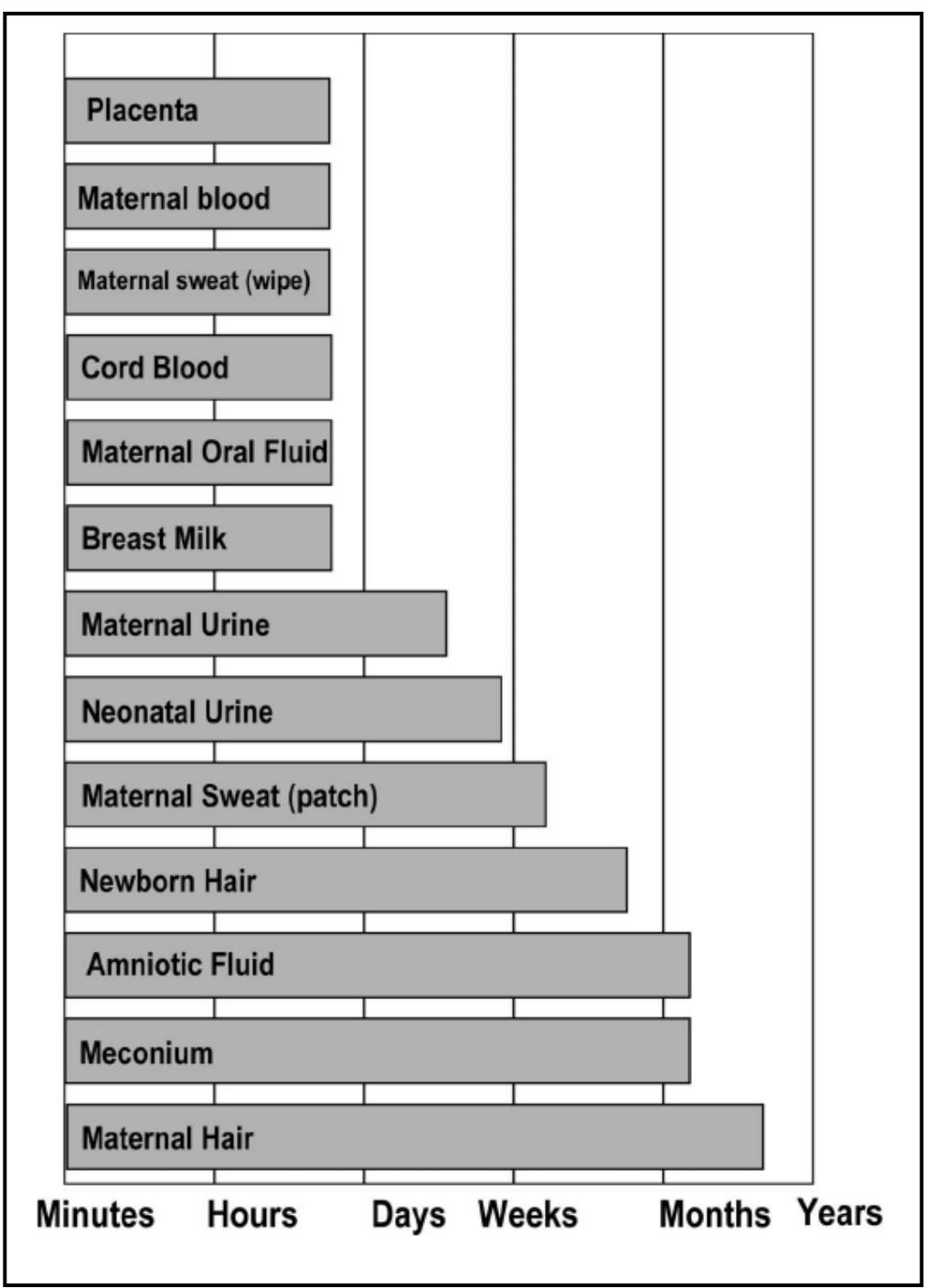


Figura 2. Ventana de detección en el tiempo para diferentes matrices maternas neonatales, y fetalas, más válidas para el análisis de la exposición intrauterina a sustancias de abuso.

de la exposición intrauterina a sustancias de abuso

Fluido/ Matriz	Farmacología clínica / TDM	Toxicología Forense	Toxicología Clínica	Correlación con los niveles plasmáticos	Correlación con efectos farmacológicos / toxicológicos	Invasividad	Dificultad de procedimiento
Plasma	+++	+	+++		+++	++	+/-
Orina	+	+	+++	+/-	+++	+	-
Lágrimas	+/-	-	-	-	-	+	-
Uñas	+/-	++	-	-	-	-	+/-
Líquido Cefalorraquídeo	++	-	-	+	++	+++	++
Secreciones Bronquiales	+	-	+	-	++	-	-
Fluido Intersticial	+	-	+	++	+	+++	++
Fluido Seminal	+	-	++	+/-	++	-	++
Bilis	+/-	+	-	+/-			
Heces	+/-	-	-	-	-	-	+
Meconio	-	+	+	-	++	-	+
Sangre de cordón umbilical	-	-	++	++	++	+	+/-
Líquido Amniótico	-	+	+	+/-	++	+++	+++
Leche materna	+	-	++	+	++	-	++
Humor Vítreo	-	+++	-	+/-	+	+++	+++
Fluido Pericardio	-	+++	+	+/-	++	+++	+++
Saliva	+++	+	+++	++	+++	-	-
Sudor	++	+	++	+/-	+++	-	+/-
Pelo	++	+++	+	+/-	++	-	-

Tabla 2. Adecuación de las matrices no convencionales en toxicología clínica y forense

Matrices biológicas alternativas

En los últimos años, la evaluación de la exposición a sustancias de abuso en diferentes periodos de la infancia ha sido realizada mediante el uso de matrices biológicas procedentes del feto o del recién nacido (meconio, pelo neonatal u orina neonatal), de la mujer embarazada o la madre lactante (sangre, orina, pelo, leche materna, fluido oral o sudor) o de ambos (placenta y líquido amniótico).

Cada una de estas matrices tiene unas características diferentes (concentración de las sustancias y sus metabolitos, ventanas de detección, cantidad de muestra disponible, etc.), lo que hace que tengan diferentes utilidades (Figura 2; Tabla 2).

Sangre de cordón y líquido amniótico

Los fármacos administrados y las sustancias de abuso consumidas por mujeres embarazadas tienen la posibilidad de atravesar la placenta y llegar al feto (44). Sin embargo, la recogida tanto de líquido amniótico como de sangre del feto son métodos suficientemente invasivos e incluso, nocivos para el feto, por lo que estas matrices son poco atractivas para su uso en estudios clínicos.

Al igual que la sangre, la determinación de fármacos, sustancias de abuso y sus metabolitos en sangre de cordón umbilical sólo aporta información acerca de las horas previas antes de la recogida y por lo tanto no permite evaluar la exposición crónica durante la gestación. En sangre de cordón se han hallado sustancias de abuso y sus metabolitos en un rango de concentraciones que varía desde los nanogramos hasta los miligramos por mililitros de sangre (45-48).

La mayoría de los estudios que han utilizado la sangre de cordón como matriz para evaluar la presencia de sustancias de abuso han mostrado sus limitaciones en cuanto a su capacidad de predecir la exposición prenatal. Sin embargo, en el caso del tabaco, la determinación de COT en sangre de cordón parece ser el biomarcador más adecuado para determinar la exposición fetal a humo de tabaco, por delante de la orina neonatal y la orina materna (49,50). Un estudio reciente ha propuesto el tejido de cordón umbilical, en lugar de la sangre de cordón, como alternativa al uso de meconio para evaluar la exposición prenatal a sustancias de abuso (51).

Por otra parte, el líquido amniótico empieza a formarse en las primeras semanas de embarazo, por lo que la presencia de sustancias de abuso en este fluido puede informar acerca de la exposición durante las primeras fases del embarazo (15,44,48,52,53). La recogida de líquido amniótico es peligrosa para el feto, pero puede llevarse a cabo en cualquier momento del

embarazo. Se han identificado en líquido amniótico sustancias de abuso y sus metabolitos con concentraciones en el rango de nanogramos por mililitro.

Placenta

La estructura básica de la placenta humana madura aproximadamente en la 4^a semana de gestación. Este tejido, fuente de la circulación fetoplacentaria, constituye una interfase entre la sangre fetal y la sangre materna y actúa como intercambiador de nutrientes y residuos entre el embrión y el feto, y la madre.

Durante mucho tiempo se habló de la barrera placentaria como un mecanismo de defensa que preservaría la integridad del ser en desarrollo frente a las agresiones químicas que le pudieran llegar a través de la sangre materna. Actualmente se sabe que la mayoría de las sustancias químicas pueden atravesar la placenta y llegar al embrión y feto (54). Sin embargo, algunos metabolitos sí pueden quedar retenidos en dicho tejido y se pueden determinar como biomarcadores. Por ejemplo, los etil-ésteres de ácidos grasos (FAEE) procedentes del alcohol etílico consumido por la mujer durante el embarazo no se traspasan al feto, sino que son recaptados y degradados por la placenta humana. Así pues, los FAEE detectados en el recién nacido provienen de forma exclusiva del metabolismo del neonato formados a partir del etanol que ha sido transferido desde la madre (55). Además, las sustancias de abuso también pueden afectar a los sistemas de transporte de nutrientes en la placenta y pueden modificar su fisiología (56).

Recientemente, se han cuantificado los niveles de las principales sustancias de abuso en placenta obtenida en el momento del parto procedentes de madres consumidoras (57,58) y en tejido placentario y restos fetales obtenidos como material de descarte en interrupciones voluntarias del embarazo (59,60).

Meconio

El meconio constituye la primera materia fecal del recién nacido y contiene información acerca de su metabolismo prenatal. Consta del material digerido por el feto en su etapa intrauterina: está formado por células del epitelio intestinal, mucopolisacáridos, líquido amniótico, sales biliares, lípidos y agua (61).

Se acepta generalmente que el meconio empieza a formarse a partir de la semana 12^a de gestación, porque es en este momento cuando empieza la deglución del líquido amniótico (25). Por lo general, el meconio se acumula en el intestino del feto hasta el nacimiento. De tal forma, que el meconio actúa como reservorio de las sustancias de abuso y sus metabolitos, que originalmente llegan a la sangre fetal, se metabolizan, pasan al líquido amniótico con la orina

fetal y son digeridas. Además, las concentraciones de sustancias de abuso en meconio habitualmente son más elevadas que las halladas en orina a causa de la acumulación a lo largo de varios meses de gestación (26). De esta forma, el análisis de meconio permite la detección del consumo activo o de la exposición pasiva de sustancias de abuso por la madre durante las últimas 20 semanas de gestación, y por lo tanto, aporta información acerca de la exposición fetal crónica a las mismas (3,19,62).

En la misma línea, el análisis de drogas en meconio aporta mucha más información respecto a la exposición crónica a sustancias de abuso en contraposición con el análisis de orina neonatal, el suero de sangre de cordón umbilical o el pelo neonatal, que informa de la exposición reciente (63).

Las sustancias de abuso en meconio están presentes en el rango de nanogramos a microgramos por gramo de meconio. El meconio es una matriz no homogénea y compleja con lo que la recuperación de sustancias de abuso depende en buena medida de la técnica de extracción escogida. Se recomienda la congelación inmediata de las muestra de meconio momentos después de la recogida con el fin de no degradar la eventual presencia de drogas en dicha matriz. Habitualmente, las sustancias en meconio se mantienen estables a una temperatura de -20°C durante un período prolongado en el tiempo (64).

El meconio es especialmente útil en la evaluación de la exposición *in utero* a sustancias de abuso (64). Los primeros estudios realizados en meconio demostraron que las sustancias de abuso y sus metabolitos principales están presentes en dicha matriz. Sin embargo, mediante investigaciones posteriores realizadas con metodologías más sensibles y específicas se ha demostrado que los metabolitos principales de las sustancias de abuso suelen hallarse de forma predominante o incluso en muchos casos de forma única en meconio. Por ejemplo, en el caso de la cocaína (COC), se detectan los metabolitos m- y p-hidroxibenzoilecgonina (OH-BE) en detrimento de la sustancia madre (65) y en el caso del cannabis, se obtiene principalmente 11-hidroxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC-OH) (66).

Sin embargo, una desventaja del análisis de meconio es la elevada tasa de falsos positivos hallada en los métodos de detección por inmunoensayo. Las técnicas de inmunoensayo diseñadas para el análisis en orina han sido modificadas para su uso en meconio y muchos de estos métodos carecen de una rigurosa validación del proceso analítico y generalmente no existe una posterior confirmación del resultado. Por ejemplo, en el trabajo Moore y colaboradores de 1995, en 535 muestras positivas por inmunoensayo a metabolitos de THC, COC y opiáceos, tan sólo confirmó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) el 56% a 59% de las muestras (67). Por lo tanto, los resultados obtenidos por inmunoensayo deben ser confirmados por un método más específico como GC/MS, cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC/MS) o espectrometría de masas en tandem (MS/MS).

Se ha llevado a cabo la evaluación de la exposición *in utero* a diferentes sustancias de abuso mediante el análisis de meconio. Por ejemplo, para el tabaco se han identificado NIC y sus

metabolitos en meconio y se ha hallado diferencias significativa entre las concentraciones de COT de recién nacidos de madres no fumadoras y no expuestas a humo de tabaco, de madres no fumadoras pero sí expuestas y de madres fumadoras (68). Por otra parte, el consumo materno de alcohol durante el embarazo es alarmante en algunas poblaciones (69) y en ocasiones produce FASD y los FAEE han sido propuestos como biomarcadores en meconio (20,70). La suma de las diferentes concentraciones de FAEE por encima del punto de corte de 2 nmol/g de meconio ha sido propuesta como evidencia de consumo excesivo de alcohol durante el embarazo (71,72). Recientemente, se ha descrito la presencia en meconio de etilglucurónido (EtG), un biomarcador de exposición crónica a etanol ya descrito en otras matrices biológicas (73).

La prevalencia de exposición fetal a sustancias de abuso se ha podido determinar mediante el análisis de meconio en diferentes poblaciones. Recientemente, García-Algar O y colaboradores (5) han presentado unos resultados de exposición fetal a drogas en una población de bajo nivel económico de Barcelona mostrando un 10,1% de positividad para cualquier droga de abuso (COC, opiáceos, cannabis y anfetaminas (AP)), confirmando los resultados preliminares (74). Además, en la misma población de estudio, se ha encontrado una elevada exposición gestacional a alcohol etílico (69).

Pelo

El pelo está formado aproximadamente por un 65% a 95% de proteínas, 1% a 9% de lípidos, pequeñas cantidades de oligoelementos, polisacáridos y agua (74). El folículo piloso está recubierto por un rico sistema vascular envolvente que proporciona el material necesario para el crecimiento del cabello (75) (Figura 4).

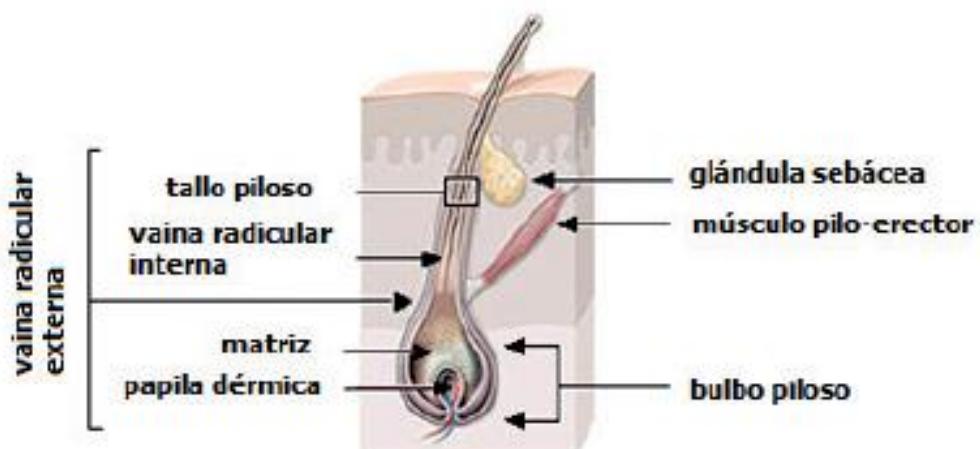


Figura 4. Folículo piloso

El cabello crece aproximadamente entre 0,6 y 1,4 cm. por mes, dependiendo del tipo de cabello y el lugar anatómico en que se encuentre. De hecho no tan sólo el pelo del cuero cabelludo puede ser utilizado para estimar la presencia de sustancias de abuso, sino que el vello púbico, el de las extremidades o incluso el axilar se han sugerido como alternativas cuando la recogida del pelo del cuero cabelludo no es posible. Sin embargo, hay que tener cuidado en la interpretación de las concentraciones halladas en estas muestras, ya que diferentes estudios han encontrado diferencias en las concentraciones comparando el vello público o axilar con el del cuero cabelludo (76-78). De hecho, en dos estudios se han encontrado concentraciones de metadona y metanfetamina (MDA) más elevadas en el vello axilar, seguido del vello público y el cuero cabelludo (77,78). Estas diferencias en las concentraciones de sustancias de abuso se pueden explicar por la diferente tasa de crecimiento de los diferentes tipos de vello y también por la mejor circulación sanguínea y la mayor presencia de glándulas apocrinas en estas regiones.

Se acepta que las sustancias de abuso se pueden incorporar al pelo por 3 vías: (1) desde el torrente sanguíneo en el proceso de crecimiento del pelo; (2) desde el sudor y posterior recubrimiento por el sebo, y (3) por la exposición pasiva a las sustancias de abuso, como por ejemplo, contacto con el humo o contaminación del sudor con el humo y posterior depósito de éste en el sebo (79).

La captación de sustancias de abuso por el pelo depende fundamentalmente de tres factores: (1) la cantidad de melanina que contiene el cabello; (2) el carácter lipófilo de la sustancia, y (3) el carácter básico en que se encuentre dicha molécula. Se ha sugerido que las sustancias de abuso se unen a la melanina, lo que explicaría que las mayores concentraciones se alcancen en el pelo más oscuro (80).

Las muestras de cabello se suelen recoger de la zona posterior de la cabeza, ya que en esta región es donde el pelo crece más y de forma más uniforme, y donde existe el mayor número de folículos pilosos activos. El pelo debe cortarse lo más cerca posible al cuero cabelludo con tijeras. Posteriormente, el pelo se fija en un soporte de papel y hay que indicar la zona proximal (más cercana al cuero cabelludo) para poder llevar a cabo un análisis segmentario. Después, la muestra se puede almacenar a temperatura ambiente y protegida de la luz directa (Figura 5).

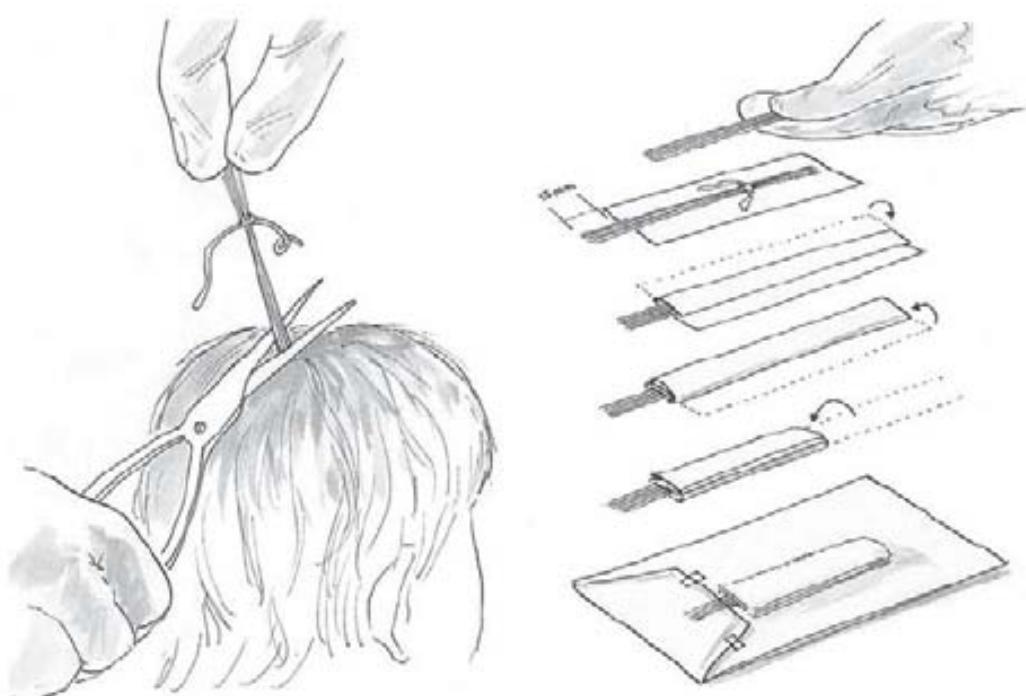


Figura 5. Mecanismo habitualmente utilizado para recoger muestras de pelo para finalidades toxicológicas

Las sustancias de abuso pueden ser incorporadas y permanecer de forma indefinida en el pelo (81), pudiendo ser detectadas al cabo de años después de la recogida (75). El pelo suele estar expuesto a diferentes agentes que pueden afectar al análisis toxicológico como jabones, polvo, luz solar o lluvia. De hecho, diferentes estudios han evaluado el efecto de los tratamientos cosméticos en la estabilidad de las sustancias de abuso en pelo (82-84).

Para minimizar el riesgo de la contaminación ambiental del pelo se recomienda que los procedimientos de análisis toxicológico en pelo incluyan previamente un proceso de lavado. Existen varios procedimientos de descontaminación de la muestra descritos en la literatura que abarcan desde el uso de disolventes orgánicos, tampones acuosos, agua, jabones y hasta combinaciones de estos (85-92).

Además, la *Society of Hair Testing* (SoHT) recomienda la detección de la sustancia madre y de los metabolitos derivados de las sustancias de abuso y la determinación de la relación de proporción entre ellos (93). Puesto que la contaminación ambiental no puede ser totalmente eliminada, sólo la detección de los metabolitos de la sustancia (los procedentes del metabolismo endógeno de la propia sustancia) son los únicos que garantizan que la sustancia ha sido consumida activamente. Esto es especialmente importante en aquellas sustancias de

abuso que pueden estar en el medio ambiente debido a la forma en que se consumen como por ejemplo el cannabis y la cocaína (93).

La mayor ventaja práctica que nos ofrece el análisis toxicológico en pelo respecto al análisis efectuado en orina o en sangre es la mayor ventana de detección en el tiempo que nos ofrece (desde semanas a meses, dependiendo de la longitud del mechón de pelo). La evaluación de la exposición crónica a sustancias de abuso se realiza mediante el análisis segmentario del pelo. El pelo crece a un ritmo aproximado de 1 cm por mes, con lo cual es posible asociar patrones de distribución de sustancias en el pasado teniendo en cuenta la tasa de crecimiento del pelo. Además, las sustancias de abuso son muy estables en la matriz queratínica durante largos períodos de tiempo.

Otra ventaja del análisis toxicológico del pelo respecto a la sangre o la orina es el procedimiento de recogida de muestras debido a que: (1) es un procedimiento no invasivo y fácil de realizar, (2) la muestra no es fácil de adulterar por dilución con agua (como sucede con la orina), y (3) en el caso en que exista un problema en el procesamiento de la muestra (cambio, fallo en el envío, etc.) es posible obtener una muestra idéntica. Este último punto es de gran importancia en toxicología forense.

El análisis toxicológico del pelo se ha aplicado en diferentes escenarios, por ejemplo, la evaluación del consumo de drogas en población general (94-96), en poblaciones de estudiantes (97,98), en la renovación de licencias de conducción (99), en la evaluación de la exposición intrauterina a sustancias de abuso (62) o con el fin de evaluar el cumplimiento de la terapia de sustitución del consumo de drogas de abuso (100).

Habitualmente, el estudio analítico toxicológico de pelo se inicia con una técnica de cribado mediante inmunoensayo, seguida de una confirmación con técnicas cromatográficas. En la Tabla 3 se recogen las principales técnicas que se han desarrollado para cuantificar las sustancias de abuso en pelo materno y neonatal. La GC/MS es la técnica confirmatoria más ampliamente utilizada para analizar sustancias de abuso en cabello. Sin embargo, la LC/MS es cada vez más importante en el campo del análisis toxicológico en pelo, debido a su mayor sensibilidad para determinar compuestos termolábiles, aportando así límites de detección y cuantificación cada vez más bajos y además no requieren procesos que consumen largos períodos de tiempo como la derivatización. Sin embargo, antes del análisis cromatográfico, los analitos deben ser (1) extraídos del interior de la matriz, y (2) concentrados en un disolvente compatible con los instrumentos de análisis. No existe un método universal para extraer los analitos de la matriz del cabello y depende de la naturaleza química y la estabilidad del compuesto a analizar. Por lo tanto, opiáceos y cocaína son los compuestos que mejor se extraen utilizando una hidrólisis ácida leve, a fin de evitar la conversión de la heroína o la 6-monoacetilmorfina (6-MAM) a morfina (MOR) o de la cocaína a BE (86). Por otro lado, los compuestos anfetamínicos o cannabinoides pueden ser extraídos utilizando fuertes condiciones alcalinas (90,98,101). Otros métodos de extracción están basados en el uso de disolventes o tampones de extracción (102) o en extracciones enzimáticas (103).

Pelo neonatal

El cabello neonatal es una matriz biológica capaz de informar acerca de la exposición acumulativa a sustancias de abuso durante el último trimestre de vida intrauterina (19,38,104,105-108). En el feto, el pelo empieza a crecer durante los últimos 3 o 4 meses del embarazo. Aunque la ventana de detección del meconio es mayor, el pelo neonatal tiene la ventaja de estar disponible durante 4 o 5 meses de la vida postnatal (26). Sin embargo, la muestra de cabello que se pueden obtener en los recién nacidos es a menudo escasa y la recogida en estos casos especiales puede ser considerada casi invasiva. El principal inconveniente es que el crecimiento del pelo fetal al final del embarazo no es uniforme en todos los casos.

La principal sustancia de abuso que se ha estudiado mediante el pelo neonatal es la cocaína (109,110). Recientemente, se ha comparado el pelo neonatal con al meconio para diagnosticar la exposición prenatal a sustancias de abuso (26,111,112) y el análisis de meconio obtuvo los mejores resultados para predecir la exposición prenatal a sustancias de abuso.

Pelo materno

El análisis de pelo materno se ha considerado la matriz biológica de referencia para evaluar la exposición crónica a sustancias de abuso durante el embarazo ya que la recogida del cabello no es invasiva, permite obtener una gran cantidad de muestra y proporciona información respecto al consumo de drogas durante el primer trimestre de gestación (cada centímetro desde el cuero cabelludo corresponde retrospectivamente a un mes) (15,113,114). El pelo materno aporta una información acerca de la exposición activa o pasiva de la madre, que corresponde a una estimación indirecta de la exposición del feto. Las sustancias madre prevalecen en el pelo por delante de los metabolitos y se encuentran en valores de nanogramos por miligramo de pelo.

Sustancia	Rango de concentración	Método de extracción	Método de detección	LOD / LOQ	Referencia
Pelo neonatal					
Cocaína	BE: 0,71–2,47 ng/mg	Liq-Liq	GC-MS	LOD: 0,1 ng/mg	81
	BE: 0,72-5,44 ng/mg	Liq-Liq	RIA	LOD: 32ng/mL	109
	BE: 0-5,44 ng/mg	Liq-Liq	RIA / GC-MS	LOD: 5 ng/mL	115
	COC: 2,5-4 ng/mg	Liq-Liq / SPE	RIA / GC-MS	Cut-off: 2 ng/mg	107
	BE: 4,37 ± 12,5 ng/mg	Liq-Liq	RIA	LOD: 0,25 ng/mg	108
	COC: < 2-83,5 ng/mg EME: 2-8 ng/mg	ND	FPIA / EMIT / GC-MS	LOD: 1 ng/mg LOQ: 2 ng/mg	104
Opiáceos	MOR: 0,61-3,47 ng/mg	Liq-Liq	GC-MS	LOD: 0,1 ng/mg	81
	6-MAM: <2-32,6 ng/mg MOR: <2-16,9 ng/mg COD: <2-41 ng/mg	ND	FPIA / EMIT / GC-MS	LOD: 1 ng/mg LOQ: 2 ng/mg	104,106
Anfetaminas	AP: 1,21 ng/mg	Liq-Liq	GC-MS	LOD: 0,1 ng/mg	81
Benzodiacepinas	ND	Liq-Liq	EMIT / GC-MS	LOD: 200 μg/mL	110
Cannabis	THC: <0,2-7,18 ng/mg CBN: <0,2-4,01 ng/mg CBD: <0,2-26,22 ng/mg	ND	FPIA / EMIT / GC-MS	LOD: 0,1 ng/mg LOQ: 0,2 ng/mg	104
Metadona	MET: <12,5-46,4 ng/mg EDDP: <12,5 ng/mg	ND	FPIA / EMIT / GC-MS	LOD: 10 ng/mg LOQ: 12,5 ng/mg	104
Pelo materno					
Cocaína	COC: 38 ±37,2 ng/mg	Liq-Liq	RIA	ND	114
	BE: 0,8-2,3 ng/mg	Liq-Liq	RIA	ND	113
	BE: 2,38-23,7 ng/mg	Liq-Liq	RIA / GC-MS	LOD: 5 ng/mL	115

6-monoacetilmorfina (6-MAM); Anfetamina (AP); benzoilecgonina (BE); cocaína (COC); ensayo inmunológico multiplicado por enzimas (EMIT); inmunoensayo de fluorescencia polarizada (FPIA); cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS); límite de cuantificación (LOQ); límite de detección (LOD); morfina (MOR); no disponible (ND); radioinmunoensayo (RIA); extracción en fase sólida (SPE)

Tabla 3. Revisión bibliográfica de las técnicas analíticas usadas para la detección de las principales sustancias de abuso durante el embarazo en muestras de pelo neonatal y materno

Fluido oral

La saliva es el producto de excreción originado por las tres glándulas salivales principales (parótida, submandibular y sublingual), un número importante de glándulas salivares menores, la mucosa oral y las encías. Como la excreción de este producto es una mezcla de líquidos, el término “fluido oral” es más adecuado. El agua (99%) es el principal constituyente del fluido oral, además de proteínas (enzimáticas y mucinas) y una pequeña proporción de sales minerales. Su pH es de 6,8 en situación de reposo, pero con el aumento del flujo salival, se convierte en más básico (aproximándose al pH del plasma) (116). El volumen total producido por un adulto puede ser de 1.000 ml/día, con un ritmo aproximado de 0,05 ml/min, aunque depende del ritmo circadiano de cada individuo (117).

La mayoría de sustancias de abuso se incorporan al fluido oral mediante difusión pasiva, que depende de las características fisicoquímicas de cada clase de componente. Por lo tanto, las sustancias de abuso en fluido oral están representadas mayoritariamente por la fracción no ionizada de las mismas en plasma.

Existe una gran variedad de métodos de recogida de muestras de fluido oral, aunque habitualmente se utilizan métodos mecánicos de estimulación de su formación, como el ácido cítrico. Sin embargo, la estimulación de saliva puede acarrear problemas que pueden comprometer a la precisión en el análisis de sustancias de abuso ya que se puede alterar el pH y las concentraciones de las sustancias de abuso (117). Los dispositivos de recogida comercializados consisten en un material absorbente que se introduce en la boca del donante y posteriormente el fluido oral se recupera por centrifugación o presión.

Una de las ventajas que proporciona el análisis de saliva es que la muestra se recoge mediante supervisión directa. Además, las sustancias de abuso que se ingieren o se administran de forma fumada adquieren altas concentraciones en fluido oral al cabo de pocos minutos u horas después de la ingesta. El análisis de fluido oral es un instrumento de análisis utilizado para el control de la monitorización farmacológica de diferentes fármacos (118), estudios farmacocinéticos (119,120) y en la detección de sustancias de abuso en controles de circulación. (121-123).

Uno de los inconvenientes del análisis de fluido oral es que a menudo los sujetos no son capaces de producir la cantidad necesaria de muestra para realizar el análisis. Además, la concentración de sustancias de abuso depende directamente de las concentraciones plasmáticas y estas presentan una semivida corta y se eliminan rápidamente del organismo, por lo que tan sólo son detectables en fluido oral durante un corto período de tiempo, lo cual supone una clara desventaja respecto a matrices como el pelo. La saliva juntamente con la sangre son las matrices biológicas que ofrecen una menor ventana de detección.

Leche materna

El principal motivo para investigar la presencia de sustancias de abuso en leche materna es calcular la tasa de excreción de diferentes compuestos en este fluido y, como consecuencia, calcular la dosis aproximada de ingesta de estos compuestos con la lactancia (124).

Algunas sustancias de abuso (por ejemplo, COC, MOR, fenciclidina y AP) son bases débiles y han sido halladas como producto de excreción de la leche materna, debido a su carácter ácido respecto al plasma (38,125-128). Además, también se ha hallado la presencia de NIC, cafeína y arecolina, 3 de las 4 sustancias psicoactivas más consumidas en el mundo (129).

Dientes

Recientemente, los dientes se han postulado como matriz biológica en la que se pueden depositar sustancias exógenas, en la pulpa o en el tejido calcificado (130). Algunos autores han podido identificar opiáceos (codeína y MOR) y/o COC en dientes de personas que habían fallecido como consecuencia de un sobredosis (131). Estas evidencias apoyan el papel de los dientes desde un punto de vista toxicológico. Por primera vez, Pascual JA y colaboradores desarrollaron y validaron un procedimiento para determinar NIC y su metabolito principal, COT, en dientes de leche (132). Este método fue aplicado por Garcia-Algar O y colaboradores con el fin de detectar los niveles de NIC y COT en dientes de leche de niños que estaban expuestos al humo de tabaco (133). Dichos resultados apoyan el papel de los dientes como una prometedora herramienta no invasiva para el seguimiento y la categorización de la exposición acumulativa al humo de tabaco ambiental capaz de acumular tóxicos desde la etapa fetal, cuando se inicia la formación de los dientes, hasta el final de la infancia (generalmente, estos dientes se pierden entre los 6 y 8 años).

Justificación del trabajo y objetivos

La detección de la exposición prenatal a sustancias de abuso es fundamental para asegurar un adecuado seguimiento de los niños afectados, debido a los posibles efectos perjudiciales del consumo durante el embarazo. El cuestionario materno no es una herramienta de cribado eficiente. En los últimos años, se ha descrito la utilidad del cabello materno y del meconio como matrices biológicas para valorar esta exposición. Por otro lado, Eivissa tiene una gran estructura de ocio nocturno internacional asociado con locales, música y el consumo de drogas recreativas.

Objetivos

1. Estimar la prevalencia de consumo de drogas por parte de las mujeres embarazadas que viven en Eivissa, utilizando cuestionarios estructurados y biomarcadores en pelo materno e investigar los posibles efectos perjudiciales del consumo en el recién nacido.
2. Comparar las matrices alternativas cabello materno y meconio en la detección de la exposición prenatal a drogas en el tercer trimestre del embarazo, con la finalidad de valorar su uso como herramienta de cribado.

Justificación de la unidad temática de la tesis

La tesis se basa en la publicación de 2 artículos relacionados directamente con el título de la misma y con los objetivos de investigación. En el primero de ellos [*García-Serra J, Ramis J, Simó S, Joya X, Pichini S, Vall O, García-Algar O. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. An Pediatr (Barc). 2012 Apr 16. [Epub ahead of print] PMID: 22513392*]

se comparan dos matrices alternativas (cabello materno y meconio) entre sí y con el cuestionario, para la detección de la exposición prenatal a sustancias de abuso, mientras que en el segundo [*Friguls B, Joya X, Garcia J, Gómez-Culebras M, Pichini S, Martinez S, Vall O, Garcia-Algar O. Assessment of Exposure to Drugs of Abuse During Pregnancy by Hair Analysis in a Mediterranean Island. Addiction. 2012 Feb 1. doi: 10.1111/j.1360-0443.2012.03828.x. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22296208*]

se aplica la determinación de biomarcadores a sustancias de abuso en pelo materno para estimar la prevalencia de exposición prenatal a las mismas y se investigan los posibles efectos perjudiciales del consumo en el recién nacido.

Presentación de los trabajos (metodología)

Sujetos

El estudio se llevó a cabo en la isla mediterránea de Eivissa. Entre enero y marzo de 2010, se reclutaron 107 parejas madre-recién nacido no seleccionadas atendidas en el Hospital Can Misses de Eivissa, el único centro obstétrico de la isla. El protocolo del estudio fue aprobado por el comité ético local (CEIC-IB SALUT, 2008/01), siguiendo la Declaración de Helsinki. Todas las mujeres aceptaron su inclusión en el estudio y firmaron un consentimiento informado para la pareja madre-recién nacido. Mediante un cuestionario estructurado se recogieron datos sociodemográficos y hábitos tóxicos durante el embarazo. El día después del parto se recogieron los datos acerca de la historia obstétrica de la madre, la somatometría neonatal y la exploración física del recién nacido (16,20,22,26).

Muestras

Para estudiar la exposición prenatal a drogas durante el tercer trimestre de gestación, se recogieron muestras de cabello materno y meconio. Para el estudio de cabello materno, se obtuvo un mechón de pelo de aproximadamente 0,5 mm de grosor, de la parte posterior de la cabeza y lo más cerca del cuero cabelludo posible. Se analizaron 3 cm del segmento proximal, que corresponderían aproximadamente al último trimestre de gestación. Se recogió una muestra de meconio de cada recién nacido en las primeras 24 horas de vida y se almacenó a -20°C hasta su análisis.

Determinación de sustancias de abuso en pelo

Para demostrar el consumo materno y la exposición prenatal, se cuantificaron en pelo materno las siguientes sustancias y sus principales metabolitos: 6- monoacetilmorfina (MAM), morfina (MOR) y codeína (COD) para el consumo de heroína; cocaína (COCA), benzoilecgonina (BEG) y cocaetileno (E-COCA) para el consumo de cocaína; anfetamina, metanfetamina, 3,4-metilendioxianfetamina (MDA), 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA) y 3,4-metilendioxietilamfetamina (MDEA) para el consumo de anfetaminas y metilendoxiderivados; y Δ^9 -tetra-hidrocannabinol (THC), 11-hidroxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC-OH) y ácido 11-nor- Δ^9 -tetrahidrocannabinol-9-carboxílico (THC-COOH) para el consumo de cannabis.

Las muestras de pelo, una vez lavadas y procesadas, fueron sometidas a técnicas inmunoquímicas de cribado (Siemens EMIT® II Plus fue usado para opiáceos, anfetaminas y éxtasis y Microgenics CEDIA® para cocaína). Los valores de corte para opiáceos, anfetaminas,

éxtasis y cocaína en los test de cribado fueron 0,20 ng/mg, 0,50 ng/mg, 0,50 ng/mg y 0,20 ng/mg respectivamente.

Las muestras que habían tenido resultados positivos, fueron analizadas para su confirmación mediante cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS), de acuerdo a un procedimiento previamente descrito y validado (134). Los límites de cuantificación fueron: 0,2 ng/mg para 6-monoacetilmorfina, morfina y codeína, 0,5 ng/mg para cocaína, benzoilecgonina y cocaetileno, 0,1 ng/mg para Δ^9 -tetra-hidrocannabinol, 0,2 pg/mg para ácido 11-nor- Δ^9 - tetrahidrocannabinol-9-carboxílico y 0,2 ng/mg para anfetamina, metanfetamina, 3,4-metilendioxianfetamina y 3,4-metilendioximetaanfetamina.

Determinación de sustancias de abuso en meconio

En los casos en los que se confirmó la presencia de drogas o sus metabolitos en pelo materno, se procedió al análisis del meconio. Se aplicaron metodologías estandarizadas empleando cromatografía líquida de alto rendimiento y cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (LC-MS y GC-MS) (64,104,135). Los analitos y su correspondiente límite de cuantificación fueron: 6-monoacetilmorfina (MAM) (1 ng/g), morfina (MOR) (4 ng/g), morfina-3-glucurónido (M3G) (4 ng/g), morfina-6-glucurónido (M6G) (1 ng/g) y codeína (COD) (4 ng/g) para el consumo de heroína; cocaína (COCA) (3 ng/g), benzoilecgonina (BEG) (4 ng/g) y cocaetileno (E-COCA) (4 ng/g) para el consumo de cocaína, en el último caso junto con alcohol; anfetamina (5 ng/g), metaanfetamina (5 ng/g), 3,4-metilendioxianfetamina (MDA) (4 ng/g), 3,4-metilendioximetaanfetamina (MDMA) (4 ng/g), 4-hidroxi-3-metoximetaanfetamina (4 ng/g) y 3,4-metilendioxietilanfetamina (MDEA) (4 ng/g) para el consumo de anfetaminas y metilendioxiderivados; Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) (20 ng/g), 11-hidroxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC-OH) (20 ng/g) y ácido 11-nor- Δ^9 -tetrahidrocannabinol-9-carboxílico (THC-COOH) (20 ng/g) para el consumo de cannabis.

Análisis estadístico

La exposición a drogas de abuso se definió como la presencia de una o más drogas y/o metabolitos en las muestras de pelo materno o de meconio, sin importar el valor cuantitativo del resultado obtenido. La no-exposición se definió como resultado negativo en ambas muestras.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los datos sociodemográficos obtenidos mediante el cuestionario y somatométricos de los recién nacidos.

Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para comparar la frecuencia de exposición detectada mediante cuestionario a la detectada por el análisis de drogas, y la exposición o su ausencia comparando los resultados obtenidos de cada una de las matrices. Las diferencias asociadas

con valores de $p < 0,05$ han sido consideradas estadísticamente significativas. Todos los análisis estadísticos han sido realizados utilizando el paquete SPSS (versión 14.0, SPSS Inc, Chicago, Illinois, Estados Unidos).

Resultados

Características sociodemográficas, historia obstétrica de la cohorte y resultados neonatales

La edad media de las participantes fue de 31 años. Todas (107) eran residentes en Eivissa y habían vivido en la isla durante al menos los últimos 12 meses y 36 eran inmigrantes, en su mayoría de Centro y Suramérica y Europa del Este (36).

En la estratificación por el nivel de estudios, 28 tenían un grado universitario, 46 educación secundaria y 33 educación primaria. Respecto a la historia obstétrica, para 46 era su primer embarazo, 30 habían tenido abortos previos y 39 ya tenían otros hijos. No se encontraron diferencias en los datos sociodemográficos entre nuestra cohorte y la población general de Eivissa(36): el 85% trabajan en el sector de servicios, principalmente en la industria del turismo, y el 96% sólo tienen estudios primarios.

No se produjo ningún síndrome de abstinencia neonatal entre los recién nacidos incluidos en el estudio. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los recién nacidos expuestos y no expuestos a sustancias de abuso con respecto al estado ácido-base fetal en el parto, la puntuación de Apgar y los episodios de hipoglucemias.

Consumo de sustancias de abuso por cuestionario

Según lo declarado en el cuestionario estructurado, 35 (32,7%) mujeres consumieron alcohol en algún momento del el embarazo y 41 (39,3%) eran fumadoras. De éstas, 15 (36,6%) dejaron de fumar cuando supieron que estaban embarazadas, 6 (14,6%) lo hicieron durante el embarazo, mientras que las 20 restantes (48,8%) disminuyeron la cantidad o no modificaron sus hábitos de consumo.

Los datos autodeclarados en cuanto al empleo de medicamentos durante el embarazo son los siguientes: 53 (49,5%) declararon que no tomaban ningún fármaco de prescripción, 18 (17%) refirieron que utilizaban analgésicos y 16 (15%) ansiolíticos.

Sólo 2 mujeres (1,9%) declararon que habían consumido alguna droga de abuso durante la gestación: cannabis y cocaína. No se encontraron diferencias significativas en los datos sociodemográficos entre los dos grupos de mujeres que declararon o no el consumo de sustancias de abuso durante el embarazo y tampoco se encontraron diferencias entre nuestra cohorte y la población general de Eivissa (136).

Consumo de sustancias de abuso por biomarcadores en pelo y meconio

El análisis del pelo materno fue positivo para drogas de abuso en 17 casos (15,9%): 11 (10,2%) a cannabis, 7 (6,5%) a cocaína, 1 (0,9%) a cannabis y éxtasis y 1 (0,9%) a cannabis y cocaína (Tabla 3). No hubo ningún caso positivo para opiáceos.

Se analizó únicamente el meconio de los recién nacidos con resultados positivos en pelo materno. De los 7 casos positivos para cocaína en pelo, 6 se confirmaron en el estudio de meconio, mientras que de los 11 casos positivos para cannabis, sólo 3 fueron confirmados en meconio, aunque en 3 de los 8 casos restantes no se dispuso de una muestra de meconio adecuada para su estudio.

Los metabolitos detectados más frecuentemente en las muestras positivas fueron: COCA y BEG, en ambas matrices, para cocaína, y THC en pelo y THC-OH en meconio para cannabis. El rango de concentraciones detectado fue de 0,015-0,52 ng/mg para THC y de 0,2-149,93 ng/mg para cocaína en pelo y de 107,22-1.926,9 ng/mg para THC y de 11,85-1.582,8 ng/g para cocaína en meconio.

En una de las madres se detectó un nivel de cocaína muy elevado (149,93 ng/mg), sin que el recién nacido presentase problemas médicos o síntomas de abstinencia durante su estancia hospitalaria. En el meconio de este recién nacido también se detectaron altos niveles de cocaína (1.582 ng/g), los más altos publicados hasta la fecha.

El caso positivo de éxtasis en pelo materno, fue negativo en meconio. El caso positivo para cannabis y cocaína en pelo, lo fue también en meconio.

El resultado del análisis de drogas en pelo de la participante que declaró el consumo de cannabis fue negativo. Mientras que el análisis de cocaína de la participante que había declarado su consumo, fue positivo en pelo, pero negativo en meconio.

Al analizar todos los resultados se definen dos perfiles bien diferenciados de consumo entre las mujeres embarazadas: consumo de cocaína y de cannabis. Sólo se detectaron 2 casos de policonsumo (11,8%).

Ocho de las 11 mujeres con resultados positivos para cannabis en el estudio de pelo, declararon consumo de tabaco en el cuestionario.

Sustancia de abuso (N=107)	Ánálisis de pelo N (%)	Cuestionario N (%)	p
THC	11 (10,3)	1 (0,9)	< 0,0001
Cocaína	7 (6,4)	1 (0,9)	<0,0001
MDMA	1 (0,9)	0	<0,0001
Opiáceos	0	0	NS
Anfetaminas	0	0	NS
THC + Cocaína	1 (0,9)	0	<0,0001
THC + MDMA	1 (0,9)	0	<0.0001
Total	17 (15,9)	2 (1,9)	<0,0001

Tabla 3. Resultados de la comparación del consumo de sustancias por cuestionario y por análisis de pelo en mujeres embarazadas

Diferencias entre las madres consumidoras y no consumidoras de sustancias de abuso

La edad materna no muestra ninguna correlación con el consumo de sustancias de abuso, y tampoco el nivel de educación. El origen autóctono muestra una correlación significativa con el consumo de sustancias de abuso. En relación con los factores de riesgo gestacional (obesidad, diabetes gestacional e hipertensión) y la historia obstétrica de las participantes (Tabla 4), no se encuentran diferencias en el número de partos prematuros, abortos o recién nacidos vivos. Se encuentra una talla al nacimiento significativamente más baja en los recién nacidos de madres consumidoras, pero no hay diferencias respecto a sexo, peso, perímetro craneal y edad gestacional (Tabla 5). Tampoco se observan más malformaciones. Los recién nacidos de madres consumidoras de cocaína tienen un perímetro craneal más bajo.

Las madres consumidoras de sustancias de abuso son fumadoras en un porcentaje mayor que las no consumidoras. Además, las madres consumidoras de drogas fumadas tienen una mayor ingesta de nicotina ((NDI) en comparación con las madres fumadoras no consumidoras de sustancias de abuso. La NDI se asocia especialmente con el consumo de marihuana. No existen diferencias entre ambos grupos en cuanto a la exposición al humo de tabaco ambiental, el consumo de tabaco por parte del padre, el consumo de tabaco o de fármacos de prescripción.

	Negativo (N=90)	Positivo (N=17)	Positivo para cocaína (N=7)	Positivo para cannabis (N=11)
Edad materna (media ± SD) (años)	31,2 ± 6,3	29,44 ± 6,6	30,33 ± 7,5	30,10 ± 5,4
Historia obstétrica				
Embarazos previos				
(0)	38 (42,5%)	10 (60,0%)	6 (80,0%)	4 (40,0%)
(≥1)	52 (57,5%)	6 (40,0%)	1 (20,0%)	7 (60,0%)
Abortos previos (≥1)	28 (31,0%)	3 (20,0%)	0 (0,0%)	4 (40,0%)
Partos prematuros (≥1)	2 (2,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Recién nacidos vivos (≥1)	37 (41,4)	5 (26,6)	1 (20,0%)	40,0%)
Nacionalidad				
Autóctona	56 (62,1%)	16 (93,8%)*	7 (100%)	10 (90%)
Inmigrante	34 (37,9%)	1 (6,2%)*	0 (0%)	1 (10%)
Grado de escolarización				
Primaria	23 (26,1%)	10 (57,1%)	4 (50,0%)	7 (60%)
Secundaria	41 (45,7%)	5 (28,6%)	2 (33,3%)	2 (20%)
Universidad	25 (28,3%)	3 (18,3%)	1 (16,6%)	2 (20%)
Tabaco				
Fumadoras	29 (32,2%)	10 (58,8%)*	3 (42,9%)	7 (60,0%)
NDI	4 (4,56%)	2 (11,97%)*	1 (6,92%)	1 (12,4%)*
Abandono durante el embarazo	51 (56,7%)	4 (30,0%)	2 (33,3%)	3 (33,3%)
Exposición ambiental	58 (64,0%)	11 (62,5%)	4 (66,6%)	7 (60,0%)
Pareja fumadora	47 (51,7%)	11 (62,5%)	4 (66,6%)	7 (60,0%)
Alcohol				
Cerveza	12 (13,5%)	2 (12,5%)	1 (16,6%)	2 (20,0%)
Vino	12 (13,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)1 (16,6%)	0 (0,0%)
Ambos	6 (6,7%)	1 (6,3%)	1 (16,6%)	0 (0,0%)
Licores	3 (3,4%)	1 (6,3%)		0 (0,0%)
Medicamentos				
Analgésicos	14 (15,7%)	5 (25,0%)	2 (33,3%)	2 (20,0%)
Ansiolíticos	11 (12,2%)	6 (31,2%)	2 (33,3%)	4 (40,0%)

*p <0,05

Tabla 4. Características sociodemográficas y prevalencia de hábitos de consumo de sustancias de abuso según los resultados del análisis de pelo

	Negativo	Positivo	Positivo para cocaína	Positivo para cannabis
Edad gestacional	39s 6d \pm 9d	39s 6d \pm 11d	39s 2d \pm 12d	40s 0d \pm 8d
Peso (g)	3.379,4 \pm 257	3.232,3 \pm 389	3.194,3 \pm 361	3.245,0 \pm 264
Talla (cm)	50,83 \pm 4,2	49,76 \pm 2,1*	49,78 \pm 4,7	50,45 \pm 3,9
Perímetro craneal (cm)	34,64 \pm 2,5	34,06 \pm 3,0	33,42 \pm 1,8*	34,30 \pm 4,4
IP	2,57 \pm 0,6	2,61 \pm 0,3	2,57 \pm 0,9	2,52 \pm 0,5
BBR	10,03 \pm 0,4	10,08 \pm 0,3	9,81 \pm 0,7	10,27 \pm 0,5
Malformaciones congénitas	1 (1,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

*p <0.05

IP = índice ponderal; BBR = *brain-to-body ratio*

Tabla 5. Asociación del consumo de sustancias de abuso (mediante análisis en pelo) y variables somatométricas del recién nacido

Discusión

Infradeclaración del consumo de sustancias de abuso durante el embarazo

En nuestro trabajo se han detectado 17 (15,9%) mujeres que han consumido sustancias durante algún momento de la segunda mitad de la gestación, mientras que sólo se detectaron 2 (1,9%) mediante el cuestionario, por lo que éste, no parece ser una herramienta de cribado efectiva. La infradeclaración por parte de las madres es algo común en los estudios de consumo de drogas en embarazadas (14,16,22,34,74,133). Se conocen muchos factores asociados a este hecho: el miedo a repercusiones legales, como la retirada de la custodia de sus hijos; el sentimiento de culpa, que aparece cuando se les informa de que este consumo puede tener repercusiones graves en la salud del recién nacido; la falta de memoria, en cuanto al momento de la gestación en que se consumió, las dosis o el consumo de drogas legales; y finalmente, también influyen en las respuestas obtenidas, la forma, el lugar, la persona, o el momento en que se realiza la entrevista (15,17,18). El hecho de haber demostrado que las mujeres que consumían sustancias de abuso durante el embarazo no pertenecen a un grupo de riesgo identificable de acuerdo con sus características sociodemográficas o con su declaración en el cuestionario justifica la necesidad de emplear los biomarcadores (136).

Utilidad de las matrices alternativas en la detección de la exposición prenatal a sustancias de abuso

Tanto el pelo materno como el meconio han sido utilizados como métodos de detección de drogas en el embarazo, y han mostrado una prevalencia de consumo durante este período mucho mayor a la detectada mediante la entrevista clínica y con los métodos de cribado tradicionales como el análisis de sangre o de orina (6,15,18,19,25,74,137,138).

La ventaja principal de estas dos matrices biológicas, es que amplían la ventana de detección de manera considerable en comparación con la sangre y la orina, ya que cada centímetro de pelo desde el cuero cabelludo equivale aproximadamente a un período de tiempo de 1 mes retrospectivamente y el meconio recoge las sustancias a las que ha estado expuesto el feto en el útero durante los 2 últimos trimestres de la gestación (6,15,19,25).

Cribado neonatal

La infradeclaración del consumo de sustancias de abuso en la época prenatal (14,16,74) y en la época postnatal (69) ha llevado a diversos autores a recomendar el cribado poblacional universal o dirigido de la exposición prenatal a sustancias de abuso (16,139). Este cribado se

basa en la determinación de las sustancias de abuso originales o sus metabolitos en distintas matrices alternativas de obtención no agresiva. En el primer trimestre se recomienda el pelo materno y en el tercer trimestre el meconio del recién nacido y el pelo materno. Aunque la metodología analítica está completamente desarrollada, existe el problema de su disponibilidad en todos los centros que no sean de referencia y su precio. El objetivo de la investigación en marcha es conseguir un método de análisis de aplicación sencilla y con un coste que permita su implementación en forma de cribado universal o selectivo si existen factores de riesgo de exposición prenatal. Además, es imperativo asegurar el seguimiento adecuado de los recién nacidos expuestos.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran una mayor sensibilidad del pelo materno frente al meconio en la detección de la exposición a cannabis (22,23,140,141). La sensibilidad de ambas matrices fue parecida en el caso de la cocaína (sólo en uno de los casos positivos en pelo, no se detectó en meconio). Esto nos lleva a la conclusión de que el pelo materno parece una matriz más sensible. Las diferencias en la detección de cannabis podrían deberse a la naturaleza ácida de sus metabolitos, lo que dificulta técnicamente la determinación analítica de estas sustancias en meconio (19).

El pelo materno es considerado la matriz biológica de referencia para evaluar el consumo crónico de drogas durante el embarazo. Proporciona una estimación directa de la exposición materna a drogas (activa y también pasiva), pero sólo una estimación indirecta de lo que llega al feto a través de la placenta. Además, el análisis se puede ver alterado por la presencia de productos cosméticos, motivo por el cual, requiere un procesamiento previo a su estudio. Sin embargo, la recogida de pelo materno no es invasiva y se puede obtener una cantidad considerable, siendo la matriz que consigue estudiar retrospectivamente un período de tiempo más prolongado (19).

El meconio ha sido la matriz fetal más utilizada para demostrar la exposición prenatal a drogas de abuso. Las principales ventajas de análisis de meconio son la facilidad para su colección, y que es generalmente bien aceptada por los padres del recién nacido. No obstante, tiene un período de recogida corto (menos de 72 horas) y no abarca la exposición durante el primer trimestre. Finalmente, el procedimiento de análisis del meconio es más caro que el del pelo debido a la complejidad del proceso, por lo que sólo algunos laboratorios pueden realizarlo (19).

Prevalencia de la exposición prenatal a sustancias de abuso

Cuando se comparan los datos de prevalencia obtenidos en nuestro estudio con la última encuesta poblacional a nivel estatal (2) y otro estudio poblacional de una ciudad mediterránea (16), se observan diferencias llamativas (Tabla 6). Existe una prevalencia mayor de consumo de cocaína y cannabis, pero en cambio, no hay ningún caso de uso de opioides. Esto se podría

explicar por el consumo más habitual de heroína en poblaciones de un nivel socioeconómico bajo (16,142). Por otro lado, Eivissa es un lugar de referencia en Europa por su oferta de ocio nocturno, que va ligado a un uso más extendido de drogas de uso recreacional como cocaína y éxtasis (35,36,143). Se definen dos perfiles bien diferenciados de consumidoras: de cocaína y de cannabis, con sólo 2 casos de policonsumo (1,9%). Esta cifra es similar al 1,5% encontrado en la población estudiada en Barcelona (16). El porcentaje tan alto de análisis de pelo positivos en la cohorte podría atribuirse también a una exposición pasiva (no contaminación) teniendo en cuenta el elevado consumo de sustancias de abuso en Eivissa. La Tabla 7 compara la prevalencia de la exposición prenatal a sustancias de abuso en nuestra cohorte y en otros estudios poblacionales.

Características de la cohorte de mujeres consumidoras de sustancias de abuso durante el embarazo

Los datos del estudio muestran una mayor prevalencia de consumo de sustancias de abuso entre las mujeres autóctonas (de nacionalidad española) en comparación con las de otros países. Aunque el consumo de sustancias de abuso se ha asociado con un nivel de renta bajo y menos nivel educativo (2), en esta cohorte no se han encontrado asociaciones. Tampoco se ha encontrado asociación con la historia obstétrica, aunque otros autores mostraron una mayor prevalencia de consumo en mujeres con abortos previos (16).

El consumo de tabaco (y la NDI) se correlaciona de forma significativa con el consumo de sustancias de abuso durante el embarazo, especialmente marihuana, lo cual ya ha sido descrito previamente en población general (144) y durante el embarazo (16). Aunque otros estudios han encontrado una asociación entre el consumo de sustancias de abuso y de alcohol en el embarazo (145), esto no ha ocurrido en nuestra cohorte. Probablemente, esto se debe a que el consumo de alcohol se basa en cuestionarios y el consumo de alcohol durante el embarazo suele ser infradeclarado (69).

Características de los recién nacidos expuestos a sustancias de abuso intraútero

Aunque los estudios epidemiológicos muestran una incidencia elevada de anomalías cardiovasculares y urogenitales en los recién nacidos expuestos prenatalmente a cocaína (146), esto no ha ocurrido en nuestra cohorte. Sólo se ha encontrado alteración significativa del perímetro craneal en los recién nacidos de madres consumidoras de cocaína (9,16,146). El efecto de la cocaína sobre el peso al nacimiento parece más relacionado con el consumo concomitante de tabaco durante la gestación (16).

	PNSD [2]	García-Algar[16]	Ostrea[133]	García
Año	2009	2009	2001	2011
Lugar	España	Barcelona (España)	Detroit (EUA)	Eivissa (España)
Población	Mujeres 15-35 años	Mujeres embarazadas	Mujeres embarazadas	Mujeres embarazadas
N	23.715	1.209	58	107
Cuestionario positivo - TOTAL		2,9		1,9
Cocaína (%)	3	1,2	50,8	0,9
Cánnabis (%)	13,2	1,5	30,5	0,9
MDMA (%)	1,4	0,1		0
Opioides (%)	0,1	0,3	28,8	0
Pelo materno positivo – TOTAL				15,9
Cocaína (%)			78	6,5
Cánnabis (%)			13,6	10,2
MDMA (%)				0,9
Opioides (%)			33,9	0
Meconio positivo - TOTAL		10,9		7,4
Cocaína (%)		3	67,8	5,6
Cánnabis (%)		5,3	10,2	2,8
MDMA (%)		0,1		0
Opioides (%)		4,7	32,2	0

Tabla 6. Comparación de prevalencias a la exposición a drogas de abuso con otros estudios publicados

	Yawn [147]	Chiarotti [148]	Sherwood [32]	Pichini [133]	Williamson [149]	Mitsuhiro [150]	PNSD[2]	Friguls
	1994	1996	1999	2005	2006	2007	2009	2010
Lugar	Minneapolis (EEUU)	Roma (Italia)	Londres (RU)	Barcelona (España)	Glasgow (RU)	Sao Pablo (Brasil)	España	Eivissa (España)
Matriz	meconio	pelo público	orina	meconio	meconio	pelo	entrevista	pelo
Trimestre	2-3	1-2-3	1	2-3	2-3	3	no embarazo	3
Población	general	general	general	bajos ingresos	bajos ingresos	bajos ingresos adolescentes	mujeres 15-35 años	general
N	1.333	615	807	830	400	1.000	23.715	107
Cánnabis (%)	2,6		14,5	5,3	13,2	4,0	13,2	10,3
Cocaína (%)	2	1,9	0,37	2,6	2,7	1,7	3,0	6,4
MDMA (%)				0,1			1,4	0,9
Opiáceos (%)	1,2		1,36	4,7			0,1	0
Cualquiera (%)	5,8		16,2	10,1		6		15,9

Tabla 7. Prevalencia de exposición a sustancias de abuso: comparación con otros autores

Conclusiones

1. Nuestros hallazgos confirman la elevada prevalencia de consumo de drogas de abuso durante el tercer trimestre de gestación en Eivissa.
2. Es esencial la implementación del consejo preventivo específico para evitar el consumo de sustancias de abuso durante la gestación.
3. Las mujeres consumidoras de sustancias de abuso no pertenecen a un grupo de riesgo fácilmente identificable por sus características sociodemográficas o mediante un cuestionario, por lo que la introducción en la práctica clínica de métodos de cribado más sensibles podría optimizar el tratamiento y seguimiento clínico y social de los recién nacidos expuestos.
4. Para la detección de la exposición prenatal a sustancias de abuso es recomendable la utilización de la determinación de biomarcadores en matrices no convencionales (o alternativas), como el pelo materno y el meconio, para lo cual se dispone de un sistema de recogida no invasivo, una metodología analítica validada y un precio razonable.
5. El pelo materno parece ser más sensible que el meconio en detectar la exposición prenatal a drogas durante el tercer trimestre, al menos para el cannabis, por lo que podría convertirse en una buena herramienta de cribado.
6. Su utilización durante el primer trimestre podría ayudar a prevenir la exposición prenatal, sin duda la mejor intervención posible para minimizar las consecuencias del consumo materno sobre el niño.

Copia de los trabajos publicados y admitidos

García-Serra J, Ramis J, Simó S, Joya X, Pichini S, Vall O, García-Algar O.

Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación.

An Pediatr (Barc). 2012 Apr 16. [Epub ahead of print] PMID: 22513392

FI 0,570 (2010)

Resumen

Introducción. La detección de la exposición prenatal a drogas de abuso es fundamental para asegurar un adecuado seguimiento de los niños afectados. El cuestionario materno no es una herramienta de cribado eficiente. En los últimos años, se ha descrito la utilidad del cabello materno y del meconio como matrices biológicas para valorar esta exposición. El objetivo de este estudio es comparar ambas matrices alternativas en la detección de la exposición prenatal a drogas en el tercer trimestre del embarazo, con la finalidad de valorar su uso como herramienta de cribado.

Pacientes y métodos. Entre enero y marzo de 2010 se recogieron muestras de cabello materno y meconio de 107 parejas madre-recién nacido del Hospital Can Misses de Eivissa. Se determinó en ambas matrices la presencia de opiáceos, cocaína, cannabis y anfetaminas, utilizando técnicas cromatográficas estandarizadas.

Resultados. El análisis del cabello materno fue positivo para drogas de abuso en 17 casos (15,9%): 11 a cannabis, 7 a cocaína, uno a cannabis y éxtasis, y uno a cannabis y cocaína. Solo una madre había declarado consumo de cannabis y otra de cocaína. De los 7 casos positivos para cocaína en cabello, 6 se confirmaron en el estudio de meconio, mientras que de los 11 casos positivos para cannabis, solo 3 fueron confirmados en meconio. Se definieron 2 perfiles diferenciados de consumidoras: cocaína y cannabis (solo se detectaron 2 casos de policonsumo). Se detectó un caso con los valores de cocaína en meconio más altos publicados (1.582 ng/g).

Discusión. Este estudio revela una elevada prevalencia del consumo de drogas de abuso durante el embarazo en esta cohorte. La mejora en los métodos de cribado podría optimizar la prevención y el seguimiento de los recién nacidos expuestos. El cabello materno parece ser más sensible que el meconio para detectar la exposición prenatal a cannabis durante el tercer trimestre, por lo que podría convertirse en una buena herramienta de cribado.



ORIGINAL

Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación

J. García-Serra^{a,b}, J. Ramis^{c,d}, S. Simó^c, X. Joya^{b,c,d}, S. Pichini^{c,e}, O. Vall^{b,c,d}
y O. García-Algar^{b,c,d,*}

^a Servicio de Pediatría, Hospital de Can Misses, Ibiza, España

^b Departament de Pediatría, Ginecología i Obstetricia i Medicina Preventiva, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

^c URIE (Unitat de Recerca Infància i Entorn), IMIM, Parc de Salut Mar, Barcelona, España

^d Red SAMID, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

^e Department of Therapeutic Research and Medicines Evaluation, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

Recibido el 15 de diciembre de 2011; aceptado el 22 de febrero de 2012

PALABRAS CLAVE

Meconio;
Pelo;
Matrices biológicas;
Drogas de abuso;
Exposición prenatal;
Embarazo;
Tercer trimestre

Resumen

Introducción: La detección de la exposición prenatal a drogas de abuso es fundamental para asegurar un adecuado seguimiento de los niños afectados. El cuestionario materno no es una herramienta de cribado eficiente. En los últimos años, se ha descrito la utilidad del cabello materno y del meconio como matrices biológicas para valorar esta exposición.

Objetivo: El objetivo de este estudio es comparar ambas matrices alternativas en la detección de la exposición prenatal a drogas en el tercer trimestre del embarazo, con la finalidad de valorar su uso como herramienta de cribado.

Pacientes y métodos: Entre enero y marzo de 2010 se recogieron muestras de cabello materno y meconio de 107 parejas madre-reclén nacido del Hospital Can Misses de Ibiza. Se determinó en ambas matrices la presencia de opiáceos, cocaína, cannabis y anfetaminas, utilizando técnicas cromatográficas estandarizadas.

Resultados: El análisis del cabello materno fue positivo para drogas de abuso en 17 casos (15,9%): 11 a cannabis, 7 a cocaína, uno a cannabis y éxtasis, y uno a cannabis y cocaína. Solo una madre había declarado consumo de cannabis y otra de cocaína. De los 7 casos positivos para cocaína en cabello, 6 se confirmaron en el estudio de meconio, mientras que de los 11 casos positivos para cannabis, solo 3 fueron confirmados en meconio. Se definieron 2 perfiles diferenciados de consumidores: cocaína y cannabis (solo se detectaron 2 casos de policonsumo). Se detectó un caso con los valores de cocaína en meconio más altos publicados (1.582 ng/g).

Discusión: Este estudio revela una elevada prevalencia del consumo de drogas de abuso durante el embarazo en esta cohorte. La mejora en los métodos de cribado podría optimizar la prevención y el seguimiento de los reclén nacidos expuestos. El cabello materno parece ser más

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: 90458@hospitaldelmar.cat (O. García-Algar).

sensible que el meconio para detectar la exposición prenatal a cannabis durante el tercer trimestre, por lo que podría convertirse en una buena herramienta de cribado.
© 2011 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Meconium;
Hair;
Biological matrix;
Drugs of abuse;
Prenatal exposure;
Pregnancy;
Third trimester

Alternative biological materials to detect prenatal exposure to drugs of abuse in the third trimester of pregnancy

Abstract

Introduction: Detection of prenatal drug abuse exposure is essential to ensure an appropriate monitoring of affected children. A maternal questionnaire is not an efficient screening tool. The usefulness of maternal hair and meconium as biological materials to assess this exposure has been described in last few years.

The aim of this study was to compare both these alternative biological materials for prenatal drug exposure detection in the third trimester of pregnancy, in order to assess its use as a screening tool.

Patients and methods: Between January and March 2010, samples of maternal hair and meconium from 107 mother-infant dyads were collected in Can Misses Hospital, Ibiza. The presence of opiates, cocaine, cannabis, and amphetamines, was determined in both materials, using standard chromatographic techniques.

Results: Maternal hair analysis showed a 15.9% positivity for drugs of abuse (17 cases): 11 cannabis, 7 cocaine, 1 cannabis and ecstasy, and 1 cannabis and cocaine. Only one mother reported cannabis consumption and another one, cocaine. Of the 7 cocaine positive cases in hair, 6 were confirmed in meconium analysis, while of 11 cannabis positive cases, only 3 were confirmed in meconium. Two different consumer profiles were defined: cocaine consumers and cannabis consumers (with only 2 cases of multiple drug use). The highest level of cocaine ever published was detected (1.582 ng/g) in one case.

Discussion: This study reveals a high prevalence of drug abuse in this cohort during pregnancy. Improved screening methods may optimize prevention and monitoring of exposed infants. Maternal hair seems to be more sensitive than meconium to detect prenatal exposure to cannabis during the third trimester, so it might become a good screening tool.

© 2011 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El consumo de drogas de abuso en adultos jóvenes, incluyendo mujeres en edad fértil, ha experimentado un incremento significativo en las últimas 2 décadas. En este grupo de edad, las cifras de consumo en nuestro país son de las mayores de Europa, en especial para cocaína y cannabis¹. Según datos del último Informe del Observatorio Español sobre Drogas, las mujeres entre 15 y 34 años de edad que admitían el consumo de drogas en los 12 meses anteriores eran el 13,2, el 3,2 y el 1,4% para cannabis, cocaína y éxtasis, respectivamente².

La exposición prenatal a estas sustancias aumenta el riesgo de complicaciones obstétricas y tiene graves consecuencias, no solo en el desarrollo del feto, sino también del niño durante las etapas posteriores de la vida³.

Los diferentes trabajos sobre detección de drogas de abuso en el embarazo coinciden en que existe una infra-declaración del consumo por las gestantes. El miedo a repercusiones legales, el sentimiento de culpa, sesgos de memoria o los métodos de entrevista son algunos de los factores que provocan que se minimice o niegue el consumo⁴⁻⁷. La orina, utilizada de forma habitual como método de cribado, solo detecta la exposición durante 1-4 días previos al parto^{3,4,8}.

La utilidad del cabello materno y del meconio como matrices biológicas para valorar la exposición prenatal a drogas de abuso ha sido descrita en los últimos años. El cabello tiene un crecimiento de 1 cm al mes, lo que permite ampliar la ventana de detección hasta meses o años y proporcionar información de la exposición a lo largo de la gestación^{3,4,8}. La formación de meconio se inicia entre las 12 y 16 semanas de gestación, por lo que la detección de drogas en esta matriz correspondería a los 2 últimos trimestres del embarazo^{3,4,8,9}.

Uno de los primeros estudios poblacionales a nivel europeo que ha valorado el consumo de drogas de abuso en embarazadas demostró una prevalencia mediante el análisis de meconio del 10,9%, con una prevalencia específica de exposición fetal a heroína, cocaína y cannabis del 4,7, el 2,6 y el 5,3%, respectivamente⁵. Diferentes estudios han comparado matrices tradicionales y alternativas en algunas poblaciones concretas, habitualmente de riesgo o con antecedentes de consumo de sustancias de abuso¹⁰⁻¹²; sin embargo, no existen estudios poblacionales que hayan comparado pelo materno y meconio.

El último Informe sobre el consumo de drogas en las Islas Baleares muestra un consumo en la población general, en los 12 meses previos, del 15,1, el 4 y el 2,2% para cannabis, cocaína y éxtasis, respectivamente, en comparación con el 10,6, el 2,6 y el 0,8% del resto del Estado.

Cómo citar este artículo: García-Serra J, et al. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. An Pediatr (Barc). 2012; doi:10.1016/j.anpedi.2012.02.019

Tabla 1 Consumo (%) de sustancias de abuso en población general en los 12 meses previos en las Islas Baleares

	España	Islas Baleares	Ibiza/Formentera
Cannabis	10,6	15,1	15,5
Cocaína en polvo	2,6	4	3,9
MDMA	0,8	2,2	1,6
Heroína	0,1	0,2	0

MDMA:3,4-metilendioximetaanfetamina.

En Ibiza/Formentera, en particular, se registra un consumo en los 12 meses anteriores del 15,5, el 3,9 y el 1,6% (tabla 1)^{13,14}.

El objetivo de este trabajo es comparar las 2 matrices biológicas (cabello materno y meconio) para evaluar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre del embarazo, así como su aplicabilidad en la práctica clínica como herramienta de cribado.

Pacientes y métodos

El estudio se llevó a cabo en la isla mediterránea de Ibiza. Entre enero y marzo de 2010, se reclutaron 107 parejas madre-recién nacido atendidas en el Hospital Can Misses de Ibiza, el único centro obstétrico de la isla. El protocolo del estudio fue aprobado por el comité ético local (CEIC-IB SALUT, 2008/01). Todas las mujeres aceptaron su inclusión en el estudio y firmaron un consentimiento informado para la pareja madre-recién nacido. Mediante un cuestionario estructurado se recogieron datos sociodemográficos y hábitos tóxicos durante el embarazo.

Para estudiar la exposición prenatal a drogas durante el tercer trimestre de gestación, se recogieron muestras de cabello materno y meconio. Para el estudio de cabello materno, se obtuvo un mechón de pelo de aproximadamente 0,5 mm de grosor, de la parte posterior y lo más cerca del cuero cabelludo posible. Se analizaron 3 cm del segmento proximal, que corresponderían aproximadamente al último trimestre de gestación. Se recogió una muestra de meconio de cada recién nacido en las primeras 24 h de vida y se almacenó a -20 °C hasta su análisis.

Determinación de drogas de abuso

Para demostrar el consumo materno y la exposición prenatal, se cuantificaron en pelo materno las siguientes sustancias y sus principales metabolitos: 6-monoacetilmorfina (MAM), morfina (MOR) y codeína (COD) para el consumo de heroína; cocaína (COCA), benzollecgonina (BEG) y cocaetileno (E-COCA) para el consumo de cocaína; anfetamina, metanfetamina, 3,4-metilendioxianfetamina (MDA), 3,4-metilendioximetaanfetamina (MDMA) y 3,4-metilendioxietilanfetamina (MDEA) para el consumo de anfetaminas y metilendioxidervados; y Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC), 11-hidroxil- Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC-OH) y ácido 11-nor- Δ^9 -tetrahidrocannabinol-9-carboxílico (THC-COOH) para el consumo de cannabis.

Las muestras de pelo, una vez lavadas y procesadas, fueron sometidas a técnicas inmunoquímicas de cribado (Siemens EMIT® II Plus fue usado para oílácenos, anfetaminas y éxtasis, y Microgenics CEDIA® para cocaína). Los valores de corte para oílácenos, anfetaminas, éxtasis y cocaína en los test de cribado fueron 0,20 ng/mg, 0,50 ng/mg, 0,50 ng/mg y 0,20 ng/mg, respectivamente.

Las muestras que habían tenido resultados positivos, fueron analizadas para su confirmación mediante cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS), de acuerdo con un procedimiento previamente descrito y validado¹⁵. Los límites de cuantificación fueron: 0,2 ng/mg para MAM, MOR y COD; 0,5 ng/mg para COCA, BEG y E-COCA; 0,1 ng/mg para THC; 0,2 pg/mg para THC-COOH y 0,2 ng/mg para anfetamina, metanfetamina, MDA y MDMA.

En los casos en los que se confirmó la presencia de drogas o sus metabolitos en el pelo materno, se procedió al análisis del meconio. Se aplicaron metodologías estandarizadas empleando cromatografía líquida de alto rendimiento y cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (LC-MS y GC-MS)¹⁶⁻¹⁸. Los analitos y su correspondiente límite de cuantificación fueron: MAM (1 ng/g), MOR (4 ng/g), morfina-3-glucurónido (M3G) (4 ng/g), morfina-6-glucurónido (M6G) (1 ng/g) y COD (4 ng/g) para el consumo de heroína; COCA (3 ng/g), BEG (4 ng/g) y E-COCA (4 ng/g) para el consumo de cocaína, en el último caso junto con alcohol; anfetamina (5 ng/g), metaanfetamina (5 ng/g), MDA (4 ng/g), MDMA (4 ng/g), 4-hidroxil-3-metoximetaanfetamina (4 ng/g) y MDEA (4 ng/g) para el consumo de anfetaminas y metilendioxidervados; THC (20 ng/g), THC-OH (20 ng/g) y THC-COOH (20 ng/g) para el consumo de cannabis.

Análisis estadístico

La exposición a drogas de abuso se definió como la presencia de una o más drogas y/o metabolitos en las muestras de pelo materno o de meconio, sin importar el valor cuantitativo del resultado obtenido. La no exposición se definió como resultado negativo en ambas muestras.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los datos sociodemográficos obtenidos mediante el cuestionario y somatométricos de los recién nacidos.

Se utilizó la prueba de la chi al cuadrado para comparar la frecuencia de exposición detectada mediante cuestionario con la detectada por el análisis de drogas, y la exposición o su ausencia comparando los resultados obtenidos de cada una de las matrices. Las diferencias asociadas con valores de $p < 0,05$ han sido consideradas estadísticamente significativas. Todos los análisis estadísticos han sido realizados utilizando el paquete SPSS (versión 14.0, SPSS Inc, Chicago, Illinois, Estados Unidos).

Resultados

La edad media de las participantes fue de 31 años. Todas eran residentes en Ibiza y habían vivido en la isla durante al menos los últimos 12 meses, y 36 eran inmigrantes, en su mayoría de Centro y Suramérica¹⁴ y Europa del Este¹⁴.

Según lo declarado en el cuestionario, 35 (32,7%) mujeres consumieron alcohol en algún momento del embarazo y

Cómo citar este artículo: García-Serra J, et al. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. An Pediatr (Barc). 2012; doi:10.1016/j.anpedi.2012.02.019

41 (39,3%) eran fumadoras. De estas, 15 (36,6%) dejaron de fumar cuando supieron que estaban embarazadas, 6 (14,6%) lo hicieron durante el embarazo, mientras que las 20 restantes (48,8%) disminuyeron la cantidad o no modificaron sus hábitos de consumo.

Solo 2 mujeres (1,9%) declararon que habían consumido alguna droga de abuso durante la gestación: cannabis y cocaína. No se encontraron diferencias significativas en los datos sociodemográficos entre los 2 grupos de mujeres que declararon o no el consumo de sustancias de abuso durante el embarazo y tampoco se encontraron diferencias entre nuestra cohorte y la población general de Ibtza¹⁹.

El análisis del pelo materno fue positivo para drogas de abuso en 17 casos (15,9%): 11 (10,2%) a cannabis, 7 (6,5%) a cocaína, 1 (0,9%) a cannabis y éxtasis, y 1 (0,9%) a cannabis y cocaína. No hubo ningún caso positivo para opiáceos.

Se analizó únicamente el meconio de los recién nacidos con resultados positivos en pelo materno. De los 7 casos positivos para cocaína en pelo, 6 se confirmaron en el estudio de meconio, mientras que de los 11 casos positivos para cannabis solo 3 fueron confirmados en meconio, aunque en 3 de los 8 casos restantes no se dispuso de una muestra de meconio adecuada para su estudio.

Los metabolitos detectados más frecuentemente en las muestras positivas fueron: COCA y BEG, en ambas matrices, para cocaína, y THC en pelo y THC-OH en meconio para cannabis. El rango de concentraciones detectado fue de 0,015-0,52 ng/mg para THC y de 0,2-149,93 ng/mg para cocaína en pelo y de 107,22-1.926,9 ng/mg para THC y de 11,85-1.582,8 ng/g para cocaína en meconio.

En una de las madres se detectó un nivel de cocaína muy elevado (149,93 ng/mg), sin que el recién nacido presentase problemas médicos o síntomas de abstinencia durante su estancia hospitalaria. En el meconio de este recién nacido también se detectaron altos niveles de cocaína (1.582 ng/g), los más altos publicados hasta la fecha.

El caso positivo de éxtasis en pelo materno fue negativo en meconio. El caso positivo para cannabis y cocaína en pelo, lo fue también en meconio.

El resultado del análisis de drogas en pelo de la participante que declaró el consumo de cannabis fue negativo. Mientras que el análisis de cocaína de la participante que había declarado su consumo, fue positivo en pelo, pero negativo en meconio.

Al analizar todos los resultados, se definen 2 perfiles bien diferenciados de consumo entre las mujeres embarazadas: consumo de cocaína y de cannabis. Solo se detectaron 2 casos de policonsumo (11,8%).

Ocho de las 11 mujeres con resultados positivos para cannabis en el estudio de pelo declararon consumo de tabaco en el cuestionario.

Discusión

En nuestro trabajo se han detectado 17 (15,9%) mujeres que han consumido sustancias durante algún momento de la segunda mitad de la gestación, mientras que solo se detectaron 2 (1,9%) mediante el cuestionario, por lo que este no parece ser una herramienta de cribado efectiva. La infadeclaración por parte de las madres es algo común en los estudios de consumo de drogas en embarazadas^{10,12,20,21}. Se conocen muchos factores asociados a este hecho: el miedo

a repercusiones legales, como la retirada de la custodia de sus hijos; el sentimiento de culpa, que aparece cuando se les informa de que este consumo puede tener repercusiones graves en la salud del recién nacido; la falta de memoria, en cuanto al momento de la gestación en que se consumió, las dosis o el consumo de drogas legales, y finalmente, también influyen en las respuestas obtenidas, la forma, el lugar, la persona, o el momento en que se realiza la entrevista^{4,6,7}. El hecho de haber demostrado que las mujeres que consumían sustancias de abuso durante el embarazo no pertenecen a un grupo de riesgo identificable de acuerdo con sus características sociodemográficas o con su declaración en el cuestionario justifica la necesidad de emplear los biomarcadores¹⁹. Tanto el pelo materno como el meconio han sido utilizados como métodos de detección de drogas en el embarazo y han mostrado una prevalencia de consumo durante este período mucho mayor a la detectada mediante la entrevista clínica y con los métodos de cribado tradicionales, como el análisis de sangre o de orina^{1,4,8,9}.

La ventaja principal de estas 2 matrices biológicas es que amplian la ventana de detección de manera considerable en comparación con la sangre y la orina, ya que cada centímetro de pelo desde el cuero cabelludo equivale aproximadamente a un período de un mes retrospectivamente y el meconio recoge las sustancias a las que ha estado expuesto el feto en el útero durante los 2 últimos trimestres de la gestación^{3,4,8,9}.

La infadeclaración del consumo de sustancias de abuso en la época prenatal^{5,20,21} y en la época posnatal¹² ha llevado a diversos autores a recomendar el cribado poblacional universal o dirigido de la exposición prenatal a sustancias de abuso^{5,21}. Este cribado se basa en la determinación de las sustancias de abuso originales o sus metabolitos en distintas matrices alternativas de obtención no agresiva. En el primer trimestre se recomienda el pelo materno y en el tercer trimestre, el meconio del recién nacido y el pelo materno. Aunque la metodología analítica está completamente desarrollada, existe el problema de su disponibilidad en todos los centros que no sean de referencia y su precio. El objetivo de la investigación en marcha es conseguir un método de análisis de aplicación sencilla y con un coste que permita su implementación en forma de cribado universal o selectivo si existen factores de riesgo de exposición prenatal. Además, es imperativo asegurar el seguimiento adecuado de los recién nacidos expuestos.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran una mayor sensibilidad del pelo materno frente al meconio en la detección de la exposición a cannabis. La sensibilidad de ambas matrices fue parecida en el caso de la cocaína (solo en uno de los casos positivos en pelo no se detectó en meconio). Esto nos lleva a la conclusión de que el pelo materno parece una matriz más sensible. Las diferencias en la detección de cannabis podrían deberse a la naturaleza ácida de sus metabolitos, lo que dificulta técnicamente la determinación analítica de estas sustancias en meconio⁸.

El pelo materno es considerado la matriz biológica de referencia para evaluar el consumo crónico de drogas durante el embarazo. Proporciona una estimación directa de la exposición materna a drogas (activa y también pasiva), pero solo una estimación indirecta de lo que llega al feto a través de la placenta. Además, el análisis se puede ver alterado por la presencia de productos cosméticos, motivo

Tabla 2 Comparación de prevalencias a la exposición a drogas de abuso con otros estudios publicados

	PNSD ²	García-Algar et al. ⁵	Ostrea et al. ¹⁵	García et al.
Año	2009	2009	2001	2011
Lugar	España	Barcelona (España)	Detroit (EE.UU.)	Ibiza (España)
Población	Mujeres 15-35 años	Mujeres embarazadas	Mujeres embarazadas	Mujeres embarazadas
N	23.715	1.209	58	107
Cuestionario positivo				
Cocaína (%)	3	1,2	50,8	0,9
Cannabis (%)	13,2	1,5	30,5	0,9
MDMA (%)	1,4	0,1		0
Opióides (%)	0,1	0,3	28,8	0
Total (%)		2,9		1,9
Pelo materno positivo				
Cocaína (%)			78	6,5
Cannabis (%)			13,6	10,2
MDMA (%)				0,9
Opióides (%)			33,9	0
Total (%)				15,9
Meconio positivo				
Cocaína (%)	3		67,8	5,6
Cannabis (%)	5,3		10,2	2,8
MDMA (%)	0,1			0
Opióides (%)	4,7		32,2	0
Total (%)		10,9		7,4

MDMA:3,4-metiledioximetaanfetamina.

por el cual, requiere un procesamiento previo a su estudio. Sin embargo, la recogida de pelo materno no es invasiva y se puede obtener una cantidad considerable, siendo la matriz que consigue estudiar retrospectivamente un periodo más prolongado⁸. El meconio ha sido la matriz fetal más utilizada para demostrar la exposición prenatal a drogas de abuso. Las principales ventajas de análisis de meconio son la facilidad para su colección y que es generalmente bien aceptada por los padres del recién nacido. No obstante, tiene un periodo de recogida corto (menos de 72 h) y no abarca la exposición durante el primer trimestre. Finalmente, el procedimiento de análisis del meconio es más caro que el del pelo debido a la complejidad del proceso, por lo que solo algunos laboratorios pueden realizarlo⁸. Cuando se comparan los datos de prevalencia obtenidos en nuestro estudio con la última encuesta poblacional a nivel estatal y otro estudio poblacional de una ciudad mediterránea⁵, se observan diferencias llamativas (tabla 2). Existe una prevalencia mayor de consumo de cocaína y cannabis, pero en cambio, no hay ningún caso de uso de opiáceos. Esto se podría explicar por el consumo más habitual de heroína en poblaciones de un nivel socioeconómico bajo⁵. Por otro lado, Ibiza es un lugar de referencia en Europa por su oferta de ocio nocturno, que va ligado a un uso más extendido de drogas de uso recreacional, como cocaína y éxtasis^{13,14}. Se definen 2 perfiles bien diferenciados de consumidores: de cocaína y de cannabis, con solo 2 casos de policonsumo (1,9%). Esta cifra es similar al 1,5% encontrado en la población estudiada en Barcelona⁵.

En cuanto a las limitaciones de nuestro estudio, cabe destacar que la muestra es relativamente pequeña y que además no se pudieron obtener muestras adecuadas de

meconio de todos los recién nacidos (14/17). Aun así, los resultados de prevalencia de otros estudios no divergen demasiado de los obtenidos en nuestro trabajo. Tampoco se analizaron el tabaco y el alcohol en las matrices estudiadas, y solo disponemos de datos mediante el cuestionario. Por otro lado, al valorar los resultados hay tener en cuenta las características sociosanitarias particulares del lugar donde se ha llevado a cabo, que pueden hacer difícil extrapolar exactamente los resultados, pero que justifican repetir el análisis en entornos diferentes.

En conclusión, nuestros hallazgos confirman la elevada prevalencia de consumo de drogas de abuso durante el tercer trimestre de gestación. La introducción en la práctica clínica de métodos de cribado más sensibles podría optimizar el tratamiento y seguimiento de los recién nacidos expuestos. El pelo materno parece ser más sensible que el meconio en detectar la exposición prenatal a drogas durante el tercer trimestre, al menos para el cannabis, por lo que podría convertirse en una buena herramienta de cribado. Del mismo modo, su utilización durante el primer trimestre podría ayudar a prevenir la exposición prenatal, sin duda, la mejor intervención posible para minimizar las consecuencias del consumo materno sobre el niño.

Financiación

RETIC Samid, Instituto de Salud Carlos III (RD08/0072/0027). Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad y Consumo (2008/I/085).

Cómo citar este artículo: García-Serra J, et al. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. *An Pediatr (Barc)*. 2012; doi:10.1016/j.anpedi.2012.02.019

Conflict de interesses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

Bibliografia

1. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction Statistical bulletin 2011 [acceso 4 Dic 2011]. Disponible en: <http://www.emcdda.europa.eu/stats11>. 2011.
2. Observatorio Español sobre Drogas Informe 2009 [acceso 4 Dic 2011]. Disponible en: <http://www.pnsd.msc.es/Categoría2/observa/pdf/oed-2009.pdf>
3. Huestis MA, Choo RE. Drug abuse's smallest victims: in utero drug exposure. *Forensic Sci Int.* 2002;128:20-30.
4. Eyler FD, Behnke M, Wobie K, Garvan CW, Tebbett I. Relative ability of biologic specimens and interviews to detect prenatal cocaine use. *Neurotoxicol Teratol.* 2005;27:677-87.
5. Garcia-Algar O, Vall Combelles O, Puig Sola C, Mur Sierra A, Scaravelli G, Pacifici R, et al. Exposición prenatal a drogas de abuso utilizando el análisis del meconio en una población de bajo nivel socioeconómico en Barcelona. *An Pediatr (Barc).* 2009;70:151-8.
6. Bessa MA, Mitsuhiro SS, Chalem E, Barros MM, Guinsburg R, Larangeira R. Underreporting of use of cocaine and marijuana during the third trimester of gestation among pregnant adolescents. *Addict Behav.* 2010;35:266-9.
7. Lester BM, ElSohly M, Wright LL, Smeriglio VL, Verter J, Bauer CR, et al. The Maternal Lifestyle Study: drug use by meconium toxicology and maternal self-report. *Pediatrics.* 2001;107:309-17.
8. Lozano J, Garcia-Algar O, Vall O, De la Torre R, Scaravelli G, Pichini S. Biological matrices for the evaluation of in utero exposure to drugs of abuse. *Ther Drug Monit.* 2007;29:711-34.
9. Gareri J, Klein J, Koren G. Drugs of abuse testing in meconium. *Clin Chim Acta.* 2006;366:101-11.
10. Falcon M, Valero F, Pellegrini M, Rotolo MC, Scaravelli G, Joya J, et al. Exposure to psychoactive substances in women who request voluntary termination of pregnancy assessed by serum and hair testing. *Forensic Sci Int.* 2010;196:22-6.
11. Bar-Oz B, Klein J, Karaskov T, Koren G. Comparison of meconium and neonatal hair analysis for detection of gestational exposure to drugs of abuse. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88:F98-100.
12. Ostrea Jr EM, Knapp DK, Tannenbaum L, Ostrea AR, Romero A, Salari V, et al. Estimates of illicit drug use during pregnancy by maternal interview, hair analysis, and meconium analysis. *J Pediatr.* 2001;138:344-8.
13. Plan de Adicciones y Drogodependencias de las Islas Baleares (PADIB). Informe sobre el consumo de drogas en las Islas Baleares 2009/10 [acceso 4 Dic 2011]. Disponible en: <http://padib.caib.es/sacmicrofront/archivopub.do?ctrl=MCRST3522I103203&id=103203>
14. Plan de Adicciones y Drogodependencias de las Islas Baleares (PADIB). Ocio nocturno en las Illes Balears. Diagnóstico y propuestas de calidad desde la Salud Pública [acceso 4 Dic 2011]. Disponible en: <http://padib.caib.es/sacmicrofront/archivopub.do?ctrl=MCRST3522I93232&id=93232>. 2010.
15. Pichini S, Pacifici R, Altieri I, Pellegrini M, Zuccaro P. Determination of opiates and cocaine in hair as trimethylsilyl derivatives using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 1999;23:343-8.
16. Marchei E, Pellegrini M, Pacifici R, Palmi I, Lozano J, Garcia-Algar O, et al. Quantification of Delta9-tetrahydrocannabinol and its major metabolites in meconium by gas chromatography-mass spectrometric assay: assay validation and preliminary results of the meconium project. *Ther Drug Monit.* 2006;28:700-6.
17. Pichini S, Pacifici R, Pellegrini M, Marchei E, Lozano J, Murillo J, et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatography-mass spectrometry assay for determination of amphetamine, methamphetamine, and methylenedioxymethamphetamine derivatives in meconium. *Anal Chem.* 2004;76:2124-32.
18. Pichini S, Pacifici R, Pellegrini M, Marchei E, Perez-Alarcon E, Puig C, et al. Development and validation of a liquid chromatography-mass spectrometry assay for the determination of opiates and cocaine in meconium. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003;794:281-92.
19. Friguls B, Joya X, Garcia J, Gomez-Culebras M, Pichini S, Martinez S, et al. Assessment of exposure to drugs of abuse during pregnancy by hair analysis in a mediterranean island. *Addiction.* 2012. PubMed PMID: 22296208.
20. Manich A, Velasco M, Joya X, Garcia-Lara NR, Pichini S, Vall O, et al. Validez del cuestionario de consumo materno de alcohol para detectar la exposición prenatal. *An Pediatr (Barc).* 2011. Nov 19. [Epub ahead of print].
21. Pichini S, Puig C, Zuccaro P, Marchei E, Pellegrini M, Murillo J, et al. Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city: preliminary results of the Meconium Project. *Forensic Sci Int.* 2005;153:59-65.
22. Garcia-Algar O, Kulaga V, Gareri J, Koren G, Vall O, Zuccaro P, et al. Alarming prevalence of fetal alcohol exposure in a Mediterranean city. *Ther Drug Monit.* 2008;30:249-54.
23. MacLeod S, Koren G. Meconium testing for fatty acid ethyl esters: A 2011 status report. *J Popul Ther Clin Pharmacol.* 2011;18:e500-2.

Cómo citar este artículo: Garcia-Serra J, et al. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. *An Pediatr (Barc).* 2012. doi:10.1016/j.anpedi.2012.02.019

Friguls B, Joya X, Garcia J, Gómez-Culebras M, Pichini S, Martinez S, Vall O, Garcia-Algar O.

Assessment of Exposure to Drugs of Abuse During Pregnancy by Hair Analysis in a Mediterranean Island.

Addiction.2012 Feb 1.doi: 10.1111/j.1360-0443.2012.03828.x. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22296208.

Fl: 4,145 (2010)

Resumen

Objetivos. Este estudio tiene como objetivo estimar la prevalencia de consumo de drogas por parte de las mujeres embarazadas que viven en Eivissa, utilizando cuestionarios estructurados y biomarcadores en pelo materno. Además, se investigan los posibles efectos perjudiciales del consumo de drogas por la madre. Eivissa tiene una gran estructura de ocio nocturno internacional asociado con locales, música y el consumo de drogas recreativas.

Diseño, ámbito y participantes. Se recogieron muestras de pelo de forma prospectiva entre enero y marzo de 2010, de una cohorte de madres consecutivas después de dar a luz en el Hospital Can Misses en Eivissa.

Determinaciones. Se determinaron opiáceos, cocaína, cannabis, metadona, anfetaminas, 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) y sus metabolitos en un segmento proximal de pelo materno de 3 cm de longitud, correspondiente al último trimestre del embarazo, mediante cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas ($n = 107$). Se recogieron datos sobre las características sociodemográficas y el consumo de tabaco, alcohol, fármacos de prescripción y drogas de abuso durante el embarazo, utilizando un cuestionario estructurado.

Resultados. El análisis del pelo demostró una positividad global del 16% de drogas de abuso en el tercer trimestre del embarazo, con unas prevalencias específicas de cannabis, cocaína, MDMA y opiáceos del 10,3%, 6,4%, 0,9% y 0%, respectivamente. En el cuestionario, sólo el 1,9% de las madres declararon el consumo de drogas de abuso durante el embarazo. El consumo durante la gestación de drogas de abuso se asocia con el consumo de tabaco, una cifra más elevada de cigarrillos y la nacionalidad española de la madre.

Conclusiones. El consumo de drogas ilegales está muy infradeclarado entre las mujeres embarazadas que viven en Eivissa, especialmente entre las de nacionalidad española. El cribado toxicológico biológico objetivo y voluntario de forma rutinaria debería considerarse como parte de las exploraciones protocolizadas en las consultas prenatales de esta isla del Mediterráneo.



Assessment of exposure to drugs of abuse during pregnancy by hair analysis in a Mediterranean island

Bibiana Friguls^{1,2,3,4}, Xavier Joya^{1,4}, Joan Garcia-Serra^{3,5}, Mario Gómez-Culebras⁶,
Simona Pichini⁷, Susana Martínez^{1,3}, Oriol Vall^{1,2,3,4} & Oscar García-Algar^{1,2,3,4}

Unitat de Recerca Infantil i Enforn (URE), Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain;¹ Paediatric Department, Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain;² Department of Paediatrics, Gynecology and Childbirth, Preventive Medicine of the Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain;³ Red SAMID (Red de Salud Materno-Infantil y del Desarrollo), RETIC, Instituto Carlos II, Madrid, Spain;⁴ Paediatric Service, Hospital Can Misses, Ibiza, Spain;⁵ Departamento de Cirugía Pediátrica, Universidad de Tenerife, Tenerife, Spain⁶ and Department of Therapeutic Research and Medicines Evaluation, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy⁷

ABSTRACT

Aims This study aims to estimate the prevalence of drug use by pregnant women living in Ibiza, using structured interviews and biomarkers in maternal hair. In addition, the potentially detrimental effects of maternal drug abuse on their newborns were investigated. Ibiza has a large international night-life resort associated with clubs, music and use of recreational drugs. **Design, setting and participants** Hair samples were collected prospectively from January to March 2010 from a cohort of consecutive mothers after giving birth in the Hospital Can Misses in Ibiza. **Measurements** Opiates, cocaine, cannabis, methadone, amphetamines, 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and their metabolites were detected in a 3-cm-long proximal segment of maternal hair corresponding to the last trimester of pregnancy by gas chromatography coupled to mass spectrometry ($n = 107$). Data on socio-demographic characteristics and on tobacco, alcohol, drugs of prescription and drugs of abuse consumption during pregnancy were collected using a structured questionnaire. **Findings** Hair analysis showed an overall 16% positivity for drugs of abuse in the third trimester of pregnancy, with a specific prevalence of cannabis, cocaine, MDMA and opiates use of 10.3, 6.4, 0.9 and 0%, respectively. In the questionnaires, only 1.9% of mothers declared using drugs of abuse during pregnancy. Gestational drug of abuse consumption was associated with active tobacco smoking, a higher number of smoked cigarettes and the mother being Spanish. **Conclusions** Illicit drug use is substantially under-reported among pregnant women living in Ibiza, particularly among Spanish nationals. Voluntary, routine objective biological toxicology screening should be considered as part of routine examinations in antenatal clinics on this Mediterranean Island.

Keywords Alcohol, biomarkers, cannabis, cocaine, drugs of abuse, hair, Ibiza, pregnancy.

Correspondence to: Bibiana Friguls, Servicio de Pediatría, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Passeig Marítim, 25-28, 08003 Barcelona, Spain.
E-mail: bfriguls@imim.es

Submitted 26 January 2011; initial review completed 31 March 2011; final version accepted 19 January 2012

INTRODUCTION

The prevalence of recreational drug use among young adults, including women of childbearing age, has increased markedly over the last two decades [1]. The use of these drugs during pregnancy is a serious hazard to the fetus, jeopardizing their development [2–4]. Prenatal cocaine use has been associated with placental abruption and premature labour, as well as with increased rate of low birth weight, microcephaly and congenital anomalies [5–7]. Gestational cannabis use is related to lack of attention, impulsivity and deficits in learning and

memory [8]. Fetal exposure to opiates has been related mainly to neonatal withdrawal syndrome [4,9] and poor obstetric outcome. The adverse effects of ethanol in pregnancy are well described by the all-encompassing term 'fetal alcohol spectrum disorder' (FASD), which includes a range of physical, behavioural and cognitive deficits [10]. Smoking during pregnancy nearly doubles a woman's risk of having a low-birth-weight baby and also increases the risk of preterm delivery [11].

Data regarding the prevalence of drug use during pregnancy come mainly from North America, where estimated rates of infants exposed prenatally to illicit drugs

range between 6 and 40% of all live births [12–16]. In Europe, there is a scarcity of data on drugs of abuse consumption by pregnant women. In the United Kingdom, prevalence studies on drug use among pregnant women have used mainly urine toxicology screening [17–20]. In Spain, a large study on drug use by pregnant women conducted in Barcelona using meconium testing showed an overall 10.9% positivity [21].

Because maternal self-reported drug use history has been proved to be unreliable, there is a need for a biological marker which may yield a cumulative reflection of long-term exposure to illicit substances. As drugs and their metabolites are deposited permanently in the protein matrix of hair, they can be detected in hair for several months after use, providing an advantage over other biological matrices such as urine or blood, which are limited to detecting acute exposure to drugs only in the previous 24–48 hours [22,23]. Moreover, maternal hair analysis in comparison with other matrices with a large window of exposure, such as meconium or neonatal hair, has proved to be more sensitive [24–26].

This project, using maternal hair analysis, aimed to estimate the prevalence of drug use by pregnant women living in Ibiza, the most popular night-life resort in Europe associated with clubs, music and use of recreational drugs [27], and to investigate the possible detrimental effects on the newborn.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

The study was conducted at the Paediatric Department of the Hospital Can Misses in Ibiza (Spain), the only obstetric centre on the island. All pregnant women visiting the hospital during January–March 2010 were recruited ($n = 107$). There was no pre-selection of cases with respect to suspected drug abuse by the mother or for any other parameter. The study was approved by the local Ethics Committee in accordance with the Declaration of Helsinki (CHIC-IB SALUT, 2008/01). The participants were invited to sign a written informed consent. None of the patients declined to participate. A previously validated structured 64-item questionnaire on socio-demographic data and use of recreational drugs of abuse as well as prescription drug use during pregnancy was administered to all participants the day after the delivery [16,21,22,25,28]. The obstetric history of the mother, neonatal somatometry and clinical examination at birth were recorded.

Samples

For the hair test, a lock of scalp hair approximately 0.5 mm thick was cut from the posterior vertex of the

mothers as closely as possible to the scalp on the day of delivery and stored at room temperature inside an envelope until analysts. As hair grows at a rate of approximately 1 cm/month, in order to document exposure in the last trimester of pregnancy the proximal segment (3 cm long) of hair was analysed for drugs of abuse.

Determination of drugs of abuse in hair samples

Drugs of abuse, including all the principal psychotropic drugs and metabolites (6-monoacetylmorphine, morphine and codeine for opiates consumption; cocaine, benzoylecgonine and cocaethylene for cocaine consumption; Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid for cannabinoids consumption; and amphetamine, methamphetamine, 3,4 methylenedioxymethamphetamine and 3,4 methylenedioxymphetamine for amphetamines consumption), were quantified.

Immunochemical screening for drugs

Hair samples were washed with dichloromethane and incubated with 1 ml of HCl 0.1 N at 45°C overnight. pH was adjusted to 6.0. Samples were centrifuged and the supernatant was submitted to immunochemical screening for opiates, cocaine, methadone and amphetamine derivatives. The Siemens EMIT® II Plus assay was used for opiates, amphetamines and ecstasy and the Microgenics CEDIA® assay was used for cocaine. The cut-off values for opiates, amphetamines, ecstasy and cocaine in the screening test were 0.20 ng/mg, 0.50 ng/mg, 0.50 ng/mg and 0.20 ng/mg, respectively.

For validation of the method, linearity was evaluated using calibration curves for each substance (range 0–100 ng/ml, four levels, $n = 2$). Intra- and interday imprecisions were estimated using quality control (QC) samples at three different levels (15, 25, 40 ng/ml) and selectivity was assessed by analysts of 10 different negative hair samples. The validation procedure proved to be robust.

Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis for drugs

All the samples producing positive results in the screening test for any of the drugs of abuse or derivatives were analysed using GC-MS for confirmation. Testing was performed according to a previously described and validated procedure [29]. Nalorphine and scopolamine were used as internal standards. Both negative and positive sample controls were included with every batch of real samples. Briefly, after positive immunological screening, a new fraction of the sample was extracted by solid-phase extraction. Columns were pre-conditioned with

methanol (MeOH) and 0.1 M phosphate buffer (KH_2PO_4) at pH 6.0. Specimens were applied to solid phase extraction (SPE) columns at 1 ml/minute. Columns were rinsed with deionized water, followed by 0.1 N HCl and MeOH, and dried under negative pressure to the column outlet for 5 minutes. Compounds were eluted with 2 ml of dichloromethane/isopropyl alcohol (80/20, v/v) with 2% ammonium hydroxide, which was subsequently evaporated under a nitrogen stream. The analytes were derivatized with 50 μl of N-methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) for 15 minutes at 75°C.

For cannabinoid analysis, using Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) as internal standard, the hair residue was submitted to alkaline incubation with 1 ml 2 M NaOH at 45°C for 30 minutes, followed by a liquid/liquid extraction using a mixture of hexane/ethylacetate (9:1 v/v), and centrifugation at 1789 $\times g$ for 5 minutes. The organic phase was evaporated under nitrogen flow and then derivatized with 50 μl of MSTFA at 75°C for 15 minutes.

GC-MS analyses were carried out on an Agilent 6890 gas chromatograph equipped with a 5973 mass-selective detector and a 7673 automatic injector (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Samples were injected on an HP-Ultra 2 (5% phenyl, methylsilicone) fused silica capillary column. The column temperature was programmed initially from 100 to 180°C, at 40°C/minute, then from 180 to 290°C, at 10°C/minute. Limits of quantification in hair were: 0.2 ng/mg for 6-monoacetylmorphine, morphine and codeine; 0.5 ng/mg for cocaine, benzoylecgonine and cocaethylene; 0.1 ng/mg for Δ^9 -tetrahydrocannabinol; 0.2 ng/mg 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid; and 0.2 ng/mg for amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine.

Statistical analysis

An initial descriptive statistical analysis of socio-demographic characteristics of the mother and somatometric data of the newborn was completed for 107 mother-infant dyads participating in the study. Positive drug exposure was defined by the presence of any drug of abuse and/or metabolite in hair samples, as a single drug or as a combination of two or more drugs, at a concentration higher than the established low limits of quantification. Non-exposure was defined as a negative analytical result. The group of positive mother-infant dyads was compared with the group of negative mother-infant dyads for any drug. Statistical analysis was performed considering the drug use (yes or no) as the dependent variable. For the bivariate analysis of the data we used Student's *t*-test for independent groups to

compare between means of a continuous variable and the χ^2 test to compare between categorical variables. All statistical analyses were carried out using the statistical package SPSS for Windows, version 14 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Statistical significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

Socio-demographic characteristics, obstetric history of the cohort and neonatal birth outcomes

The mean age of the participants was 31 years. All participants (107) were residents of Ibiza, living on the island for at least 12 months. Thirty-six participants were immigrants (mainly from South America and East Europe). As stratified by level of studies, 28 participants had a university degree, 46 had secondary school education and 33 had only primary school education. Regarding obstetric history, 46 were at their first pregnancy, 30 had had previous abortions and 39 already had children. We found no differences in socio-demographic data between our cohort and the general population of Ibiza [30]: 85% of Ibiza inhabitants work in the service sector, mainly in the tourist industry, and 96% are undergraduates.

No withdrawal syndrome was developed by any of the newborns included in the study. No significant differences were found between newborns exposed to drugs of abuse and non-exposed with respect to fetal acid-base status at delivery, Apgar scores or hypoglycaemia events.

Drugs of abuse consumption

Using a structured questionnaire, only two (1.9%) mothers declared using drugs while pregnant. Hair analysis showed overall 17 (15.9%) positivity for drugs of abuse in this cohort, with specific prevalence for cannabis, cocaine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in 11 (10.3%), 7 (6.4%) and one (0.9%) mothers, respectively (Table 1). There were no positive cases for opiate use. Polydrug use was detected in two cases. There were no false positive cases (positive by interview, with negative results by hair analysis). The concentration ranges found were 0.05–0.5 ng/mg and 0.5–150 ng/mg for THC and cocaine, respectively. All cocaine-positive cases had levels above the cut-off described in the literature (0.5 ng/mg). An extremely high level of cocaine (149.93 ng/mg) was detected in one mother, with the newborn presenting no medical problems or withdrawal symptoms while in the hospital. Three women with a hair test positive for cannabis had levels lower than the cut-off described in the literature (0.1 ng/mg) [31].

Table 1 Results of comparing substance use by questionnaire and hair testing among pregnant women.

Drug of abuse (n = 107)	Hair test n (%)	Questionnaire n (%)	p
THC	11 (10.3)	1 (0.9)	<0.0001
Cocaine	7 (6.4)	1 (0.9)	<0.0001
MDMA	1 (0.9)	0	<0.0001
Opiates	0	0	NS
Amphetamines	0	0	NS
THC + cocaine	1 (0.9)	0	<0.0001
THC + MDMA	1 (0.9)	0	<0.0001
Total	17 (15.9)	2 (1.9)	<0.0001

MDMA: 3,4-methylenedioxymethamphetamine; THC: tetrahydrocannabinol; NS: not significant.

In the questionnaires, 68 participants declared being active smokers. Among these, 48.8% gave up smoking, 48.8% reduced smoking and 2.4% did not modify the number of cigarettes smoked per day during pregnancy. Thirty-eight participants declared alcohol use during pregnancy, with 34% drinking beer, 34% wine, 20% beer and wine and 11.4% hard liquor. Self-reported data regarding use of medication during pregnancy are summarized as follows: 53 (49.5%) participants denied use of any prescription drugs, 18 (17%) declared using analgesics and 16 (15%) anti-anxiety medication.

Differences between drug-using (positive cases by GC-MS) and non-drug-using mothers

Neither maternal age nor the achieved level of schooling showed any correlation with the consumption of drugs of abuse. Spanish origin showed a significant correlation with drugs of abuse consumption. Regarding gestational risk factors (obesity, gestational diabetes and hypertension) and obstetric history of the participants (Table 2), no differences were found in the number of premature births, abortions or the number of live children. Significantly lower birth length was found in newborns from drug-using mothers. No differences were found between exposed and non-exposed newborns with respect to sex, weight, cranial perimeter and gestational age. No malformations were observed in newborns exposed to drugs of abuse. Newborns from cocaine users had lower cranial perimeter than newborns from non-using mothers, whereas no differences were found with respect to other somatometric parameters. No differences were detected between newborns from cannabis-using and non-using mothers (Table 3).

Drug-using mothers were active smokers at a higher percentage compared with non-using mothers. Moreover, smoking drug-using mothers had a higher daily intake of nicotine (NDI) compared with smoking, but no illicit drug-using mothers. The NDI was associated especially with marijuana use ($P = 0.017$). No significant

differences were found between the two groups regarding the environmental tobacco exposure of the mother (at work-place or at home), consumption of tobacco by the father, alcohol and prescription drug use.

DISCUSSION

Under-reporting drug use during pregnancy

The high prevalence of illicit drug use observed using analytical methods (16%) contrasts with the very low prevalence of drug use declared by the mothers on structured questionnaires (1.9%). This is not surprising, as the tendency to under-report recreational consumption of drugs of abuse by women during pregnancy has been highlighted previously [21,25,28]. Many factors are associated with under-reporting of drug use during pregnancy, such as fear of legal consequences, the mothers' sense of guilt, memory failure and method of interview. In this scenario, there is a clear need for the implementation of an objective biological marker in order to detect addictive substance use accurately.

Advantages of hair testing

During recent decades, urine toxicology screening has been the method of choice to detect illicit drug use during pregnancy, but it is well documented that this method has a narrow window of detection: 1–4 days before the test. In order to extend the window of detection to approximately the last 20 weeks of gestation, meconium analysis was used instead [15,28,32,33]. Because transplacental passage is highly variable, meconium analysis is more useful in assessing fetal exposure to drugs rather than maternal use.

Hair testing by GC-MS-MS has proved to be a highly sensitive and specific technique for the detection of low concentrations of these substances [34,35]. Some authors [24,25] concluded that maternal hair analysis has higher sensitivity for detecting prenatal use of

Table 2 Socio-demographic characteristics and prevalence of drug use habits based on results of hair analysis.

	Negative for drugs in hair testing (n = 90)	Positive for drugs in hair testing (n = 17)	Cocaine positive in hair testing (n = 7)	Cannabis positive in hair testing (n = 11)
Maternal age (mean \pm SD) (years)	31.2 \pm 6.3	29.44 \pm 6.6	30.33 \pm 7.5	30.10 \pm 5.4
Obstetric history				
Previous pregnancies				
(0)	38 (42.5%)	10 (60.0%)	6 (80.0%)	4 (40.0%)
(≥ 1)	52 (57.5%)	6 (40.0%)	1 (20.0%)	7 (60.0%)
Previous abortions (≥ 1)	28 (31.0%)	3 (20.0%)	0 (0.0%)	4 (40.0%)
Premature births (≥ 1)	2 (2.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Live children (≥ 1)	37 (41.4%)	5 (26.6%)	1 (20.0%)	4 (40.0%)
Nationality				
Spanish	56 (62.1%)	16 (93.8%)*	7 (100%)	10 (90%)
Immigrant	34 (37.9%)	1 (6.2%)*	0 (0%)	1 (10%)
Level of schooling				
Elementary	23 (26.1%)	10 (57.1%)	4 (50.0%)	7 (60%)
High school	41 (45.7%)	5 (28.6%)	2 (33.3%)	2 (20%)
University	25 (28.3%)	3 (18.3%)	1 (16.6%)	2 (20%)
Tobacco				
Smokers	29 (32.2%)	10 (58.8%)*	3 (42.9%)	7 (60.0%)
NDI	4 (4.56%)	2 (11.97%)*	1 (6.92%)	1 (12.4%)*
Quit smoking during pregnancy	51 (56.7%)	4 (30.0%)	2 (33.3%)	3 (33.3%)
Environmental exposure	58 (64.0%)	11 (62.5%)	4 (66.6%)	7 (60.0%)
Smoking partner	47 (51.7%)	11 (62.5%)	4 (66.6%)	7 (60.0%)
Alcohol				
Beer	12 (13.5%)	2 (12.5%)	1 (16.6%)	2 (20.0%)
Wine	12 (13.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	40.0%
Both	6 (6.7%)	1 (6.3%)	1 (16.6%)	0 (0.0%)
Liquor	3 (3.4%)	1 (6.3%)	1 (16.6%)	0 (0.0%)
Medicines				
Analgesic	43 (48.3%)	10 (62.5%)	4 (66.6%)	7 (70.0%)
Anti-anxiety	11 (12.2%)	6 (31.2%)	2 (33.3%)	4 (40.0%)

*P < 0.05. NDI: daily nicotine intake; SD: standard deviation.

cocaine and opiates compared to meconium analysis. The principal drawback of hair analysis is its potential for false-positive test results associated with passive exposure to drugs of abuse. In order to avoid misinterpretation of the results due to environmental contamination of the hair, three steps should be followed: (i) decontamination of the hair samples by washing the hair before analysis; (ii) detection of relevant metabolites in the hair samples; and (iii) use of appropriate cut-off levels. Hair analysis provides a wide window of detection (months since consumption) and can also define more clearly the time of use/abuse using segmental hair analysis, allowing detection of even sporadic low-level consumption. Maternal hair analysis also allows for more sensitive identification of drugs of abuse compared with neonatal hair testing, as neonatal hair has an irregular prenatal growth rate [26]. For all these reasons, maternal hair testing is extremely useful in prevalence studies of prenatal exposure to drugs of abuse. Nevertheless, very few reports use this method to detect drug use in pregnancy. Moreover, even in the

general population, hair testing is rarely used to establish the prevalence of illicit drug use.

Prevalence of illicit drug use by pregnant women

Based on the literature, for many reasons it is extremely difficult to compare the prevalence of drug use by pregnant women in different populations: studies may relate to different time-periods (i.e. 1 year, once in life, last month); and biological matrices have different windows of detection, under-reporting based on questionnaires and specific patterns of drug use in different countries. The results obtained in this Ibiza cohort show a similar pattern to the results published by the Spanish National Survey on Drug Abuse [36] in women between aged 15 and 35 years, lending high reliability to the data. Even though drugs of abuse consumption by pregnant women is supposedly much less than in the general female population of childbearing age, we found a higher percentage of pregnant women in Ibiza using cannabis and cocaine

Table 3. Association of drug use (by hair analysis) and somatometric measures of newborns.

	Negative for drugs in hair testing	Positive for drugs in hair testing	Cocaine positive in hair testing	Cannabis positive in hair testing
Gestational age	39 weeks 6 days ± 9 days	39 weeks 6 days ± 11 days	39 weeks 2 days ± 12 days	40 weeks 0 days ± 8 days
Weight (g)	3379.4 ± 257	3232.3 ± 389	3194.3 ± 361	3245.0 ± 264
Length (cm)	50.83 ± 4.2	49.76 ± 2.1*	49.78 ± 4.7	50.45 ± 3.9
Cranial circumference (cm)	34.64 ± 2.5	34.06 ± 3.0	33.42 ± 1.8*	34.30 ± 4.4
PI	2.57 ± 0.6	2.61 ± 0.3	2.57 ± 0.9	2.52 ± 0.5
BIR	1.003 ± 0.4	1.08 ± 0.3	9.81 ± 0.7	10.27 ± 0.5
Congenital malformations	1 (1.1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

*P < 0.05.

PI (postcranial index): relationship between mass and height (PI = mass in kg/height³ in m).
 BIR (body-to-body ratio): the ratio of brain weight to body weight (BIR = body height / brain width).

compared to the women included in the survey. When comparing the prevalence of drug use in the Ibiza cohort with the results of the Meconium Project conducted in Spain (Barcelona) in a low socio-economic cohort [21], a higher rate of drug use is noted in Ibiza (16% positivity for drugs, mainly cannabis and cocaine compared to 10.9% of positive cases in the Meconium Project). Conversely, no opiates were detected in Ibiza in contrast to the 4.7% of opiates found in Barcelona. This might be due to the fact that the population studied in Barcelona had low socio-economic status and to the frequent use in this setting of a mixture of smoked heroin and cocaine. When comparing our data with the results of a study using hair testing conducted in São Paulo (Brazil) [37], once again cocaine and cannabis use were higher in Ibiza. The Brazilian study detected cocaine and/or marijuana in only 6% of the patients (low-income pregnant adolescents). Chiarotti *et al.* [38] found a mean positivity of 1.9% for cocaine use in a group of 615 pregnant women in Rome (Italy) using public hair—a much lower prevalence than our findings. A plausible explanation for the very high percentage of cocaine and cannabis use in pregnant women living in Ibiza may be the easy access to recreational drugs at any of the numerous night clubs and musical bars on the island and the addictive potential of these drugs. International nightlife resorts such as Ibiza are major sources of recruitment, relapse and escalation in drug use [39]. Moreover, local epidemiological reports showed a higher percentage of admissions for treatment for cocaine abuse in Ibiza than in the rest of the Balearic Islands [40]. The mild climate and the festive atmosphere of this island throughout the year may be other factors explaining the widespread use of drugs. In addition, other causes for the high prevalence of illicit drug use may be the fact that most of the inhabitants work in the service sector (85%), mainly the tourist industry [30], most are undergraduates (96%) and belong to medium or low social class. It is known that drug use has been associated with low income and poorly educated people [37]. The very high percentage of positive hair tests in our cohort could be also attributed to high passive exposure rather than active consumption, taking into consideration the generally widespread use of drugs in Ibiza. Table 4 compares the prevalence of drug exposure in our study population with that reported in the questionnaire-based Spanish National Survey on Drug Abuse and the results reported by other population studies.

Characteristics of the drugs of abuse consuming cohort

Data from our study showed a higher prevalence of drug use among women born in Spain compared with women coming from other countries. Even though consumption of drugs of abuse has been associated with a low-income

Table 4 Comparison of the prevalence of drug exposure in our study population with that reported in the questionnaire-based Plan Nacional sobre Drogas [5 Spanish National Survey on Drug Abuse (PNSD)] and the results reported by other populations.

	Neau et al. [32]	Chardat et al. [38]	Shorewood et al. [19]	Pickles et al. [28]	Williamson et al. [33]	Mitakakis et al. [37]	PNSD [36]	Prigas et al.
Year	1994	1996	1999	2005	2006	2007	2009	2012 (this paper)
Place	Minneapolis (USA)	Rome (Italy)	London (UK)	Barcelona (Spain)	Glasgow (UK)	Sao Paulo (Brazil)	Spain	Ibiza (Spain)
Matrix	Maternal	Public hair	Urine	Mecocaine	Mecocaine	Hair	Interview	Hair
Trimester	2nd-3rd	1st-2nd-3rd	1st	2nd-3rd	2nd-3rd	3rd	No pregnant	3rd
Population	General	General	General	Low-income	Low-income	Low-income adolescents	Women 15-35 years	General
n	1333	615	807	830	400	1000	23,715	107
Cannabis (%)	2.6	1.9	1.45	5.3	13.2	4.0	13.2	10.3
Cocaine (%)	2	1.9	0.37	2.6	2.7	1.7	3.0	6.4
MDMA (%)	1.2	1.36	0.1	4.7	10.1	0.1	1.4	0.9
Opiates (%)	5.8	16.2	10.1				0	0
Any drug (%)							6	15.9

MDMA: 3,4-methylenedioxymethamphetamine.

and poorly educated population [36], we found no associations with level of schooling. We did not find any association with obstetric history, even though other investigators reported a higher prevalence of previous abortions in drug-abusing mothers [21].

In our study, smoking (and NDT) correlated significantly with drug use during pregnancy, especially with marijuana use. This has already been reported in pregnant women [21] and in the general population [41]. The association between drug use and concurrent use of ethanol in pregnancy has been studied by Shor et al. [42]. These authors concluded that newborns exposed prenatally to alcohol were almost twice as likely to be exposed to opiates, while exposure to cannabis was less likely to predict exposure to ethanol. Our study failed to find a relationship between alcohol and drug use by pregnant women. This is due probably to the fact that alcohol consumption in our study was based on the questionnaires and alcohol use during pregnancy is often under-reported [43]. To gain a more accurate picture of ethanol use during gestation, further studies should be conducted simultaneously using biomarkers of alcohol and biomarkers of drugs of abuse.

Characteristics of newborns exposed *in utero* to drugs

Even though epidemiological studies show a high incidence of cardiovascular and urogenital anomalies in babies exposed to cocaine *in utero* [44], no congenital malformations were detected in newborns from cocaine-using mothers in our study. In previous studies on the fetal effects of cocaine, low birth weight, low birth length, low cranial perimeter and low gestational age were observed [7,21,44]. We found that only the cranial perimeter in newborns from cocaine users was affected significantly compared to the newborns of non-users. In previous studies [21] we also found ambiguous results regarding the association between gestational tobacco use and birth weight: the effect of cocaine on birth weight seems to be related to concomitant tobacco exposure and not to recreational cocaine use.

In this cohort tobacco use was probably very low due to previous anti-tobacco law implementation; in fact, a high percentage of smoking women declared a decrease in their tobacco use.

Limitations

The samples came from a single hospital with a relatively low yearly birth rate, but the number of births on the island is very stable. The results are based on a population from a specific location with a festive atmosphere, where drug procurement is relatively easy; hence, the results found in this cohort may not be generalized to other populations and contexts. In fact, publications based on

studies performed in other locations report very different percentages of cocaine and cannabis use in pregnant women (Table 4).

In hair analysis, general screening can be performed only as target screening. Using immunochemical methods, the number of targets is limited because of the decreasing sensitivity with the increasing number of targets, but the high sensitivity of GC-MS allows for the simultaneous multi-analyte testing of more than 100 substances.

CONCLUSIONS

From the results presented above, it is clear that in Ibiza drug use in pregnancy is a major problem, as one in six pregnant women use addictive drugs, a much higher rate than in other studied locations. As this may cause multiple complications for both the baby and the mother, it is essential to implement specific preventive counselling and to introduce screening methods during pregnancy and in newborns. Women taking drugs while pregnant do not belong to any easily identifiable risk group by socio-demographic characteristics or based on completed questionnaires, therefore biomarkers for drug use are necessary. As maternal interview underestimates gestational drug use, hair analysis becomes an extremely useful tool for the detection of actual drug misuse during pregnancy, providing a basis for adequate medical and social follow-up.

Declarations of interest

None.

Acknowledgements

This study was supported by intramural funding of the Neuropsychopharmacology Program at IMIM-Hospital del Mar and partially supported by Generalitat de Catalunya (Spain) AGAUR (2009SGR1388), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, and by the RETIC SAMID 'Red de Salut Materno-Infantil y del Desarrollo' (RD08/0072/0027), Instituto Carlos III, Madrid, Spain.

References

- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. General population surveys (GPS). 2011. Available at: <http://www.emcdda.europa.eu/stats09/gpsfig14b> (accessed 26 April 2011).
- Levy M, Koren G. Obstetric and neonatal effects of drugs of abuse. *Emerg Med Clin North Am* 1990; 8: 633–52.
- Schempf A. H. Illicit drug use and neonatal outcomes: a critical review. *Obstet Gynecol Surv* 2007; 62: 749–57.
- Shankaran S, Lester B. M., Das A., Bauer C. R., Bada H. S., Lagasse L. et al. Impact of maternal substance use during pregnancy on childhood outcome. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007; 12: 143–50.
- Chasnoff I. J., Bussey M. R., Savich R., Stack C. M. Perinatal cerebral infarction and maternal cocaine use. *J Pediatr* 1986; 108: 456–9.
- Chasnoff I. J., Griffith D. R. Cocaine: clinical studies of pregnancy and the newborn. *Ann NY Acad Sci* 1989; 562: 260–6.
- Hillis J. R., Byrd L. D., Saison W. R., Patterson-Barnett C. A. *In utero* exposure to cocaine: a review. *South Med J* 1993; 86: 725–31.
- de Moraes M. C., Guinsburg R., de Araújo C., Mitsuhiro S., Chalem E., Laranjeira R. R. Exposure to marijuana during pregnancy alters neurobehavior in the early neonatal period. *J Pediatr* 2006; 149: 781–7.
- Winklbau B., Jung E., Fischer G. Opioid dependence and pregnancy. *Curr Opin Psychiatry* 2008; 21: 255–9.
- Sokol R. J., Delaney-Black V., Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorder. *JAMA* 2003; 290: 2996–9.
- Andres R. L., Day M. C. Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatal* 2000; 5: 231–41.
- Gilligley K. M., Evans A. T., Hansen R. L., Samuels S. J., Batra K. K. The perinatal impact of cocaine, amphetamine, and opiate use detected by universal intrapartum screening. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1535–42.
- Ostrea R. M., Brady M., Gause S., Raymundo A. L., Stevens M. Drug screening of newborns by meconium analysis: a large-scale, prospective, epidemiologic study. *Pediatrics* 1992; 89: 107–13.
- Birchfield M., Scully J., Handler A. Perinatal screening for illicit drugs: policies in hospitals in a large metropolitan area. *J Perinatol* 1995; 15: 208–14.
- Lester B. M., ElSohly M., Wright L. L., Smeriglio V. L., Verter J., Bauer C. R. et al. The Maternal Lifestyle Study: drug use by meconium toxicology and maternal self-report. *Pediatrics* 2001; 107: 309–17.
- Bar-Oz B., Klein J., Karaskov T., Koren G. Comparison of meconium and neonatal hair analysis for detection of gestational exposure to drugs of abuse. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: F98–100.
- Parkas A. G., Colbert D. L., Erskine K. J. Anonymous testing for drug abuse in an antenatal population. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 563–5.
- Bodo P., Keenan H., Gleeson R., Dorman A., Clarke T., Darling M. et al. The prevalence of chemical substance and alcohol abuse in an obstetric population in Dublin. *Ir Med J* 1997; 90: 149–50.
- Sherwood R. A., Keating J., Kavvadia V., Greenough A., Peters T. J. Substance misuse in early pregnancy and relationship to fetal outcome. *Eur J Pediatr* 1999; 158: 488–92.
- Sanaullah F., Gillian M., Lavin T. Screening of substance misuse during early pregnancy in Blyth: an anonymous unlinked study. *J Obstet Gynaecol* 2006; 26: 187–90.
- Garcia-Algar O., Vall O., Putig C., Mur A., Scaravelli G., Pacifici R. et al. [Prenatal exposure to drugs of abuse using meconium analysis in a low socioeconomic population in Barcelona]. *An Pediatr (Barc)* 2009; 70: 151–8.
- Klein J., Karaskov T., Koren G. Clinical applications of hair testing for drugs of abuse—the Canadian experience. *Forensic Sci Int* 2000; 107: 281–8.
- Kintz P., Villain M., Cartmell V. Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit* 2006; 28: 442–6.
- D'Gregorio G. J., Perko A. P., Barbieri E. J., Ruch E. K., Chawla H., Keohane D. et al. Determination of cocaine usage in

- pregnant women by a urinary EMIT drug screen and GC-MS analyses. *J Anal Toxicol* 1994; 18: 247-50.
25. Ostrea E. M., Knapp D. K., Tannenbaum L., Ostrea A. R., Romero A., Salari V. *et al.* Estimates of illicit drug use during pregnancy by maternal interview, hair analysis, and meconium analysis. *J Pediatr* 2001; 138: 344-8.
 26. Garcia-Bournissen F., Rokach B., Kuraskov T., Koren G. Cocaine detection in maternal and neonatal hair: implications to fetal toxicology. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 2007; 29: 71-6.
 27. Calafat A., Juan B. K., Kokkevi A., Mualkut N., Mende P., Palmer A. Nightlife in Europe and recreational drug use. Palma de Mallorca: Istituto di Ricerca Europeo sul Fattore di Rischio nell'Infanzia e nell'Adolescenza (IREFRA) and European Commission, 1999.
 28. Pichini S., Puig C., Zuccaro P., Marchet E., Pellegrini M., Murillo J. *et al.* Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city: preliminary results of the 'Meconium Project'. *Forensic Sci Int* 2005; 153: 59-65.
 29. Pichini S., Pacifici R., Altieri I., Pellegrini M., Zuccaro P. Determination of opiates and cocaine in hair as trimethylsilyl derivatives using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1999; 23: 343-8.
 30. Govern de les Illes Balears. Cultura i societat. 2011. Available at: <http://www.caib.es/sacmicrofront/> (accessed 26 April 2011; archived at <http://www.webcitation.org/6fak1oFPC>).
 31. Society of Hair Testing. Recommendations for hair testing in forensic cases. *Forensic Sci Int* 2004; 145: 83-4.
 32. Yawn B. P., Thompson L. R., Lupo V. R., Googins M. K., Yawn R. A. Prenatal drug use in Minneapolis-St Paul, Minn. A 4-year trend. *Arch Fam Med* 1994; 3: 520-7.
 33. Williamson S., Jackson L., Skeoch C., Azizm G., Anderson R. Determination of the prevalence of drug misuse by meconium analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006; 91: F291-2.
 34. Koren G., Klein J., Forman R., Graham K. Hair analysis of cocaine: differentiation between systemic exposure and external contamination. *J Clin Pharmacol* 1992; 32: 671-5.
 35. Kline J., Ng S. K., Schittini M., Levin B., Susser M. Cocaine use during pregnancy: sensitive detection by hair assay. *Am J Public Health* 1997; 87: 352-8.
 36. Ministerio de Sanidad y Política Social. Observatorio Español sobre Drogas. 2009. Available at: <http://www.pnsd.msc.es/Categoría2/publica/pdf/od-2009.pdf> (accessed 26 April 2011; archived at <http://www.webcitation.org/6fak1oFPC>).
 37. Mitsuhiro S. S., Chalem E., Barros M. C., Guinsburg R., Laranjeira R. Prevalence of cocaine and marijuana use in the last trimester of adolescent pregnancy: socio-demographic, psychosocial and behavioral characteristics. *Addict Behav* 2007; 32: 392-7.
 38. Chiarotti M., Strano-Rossi S., Offidani C., Piori A. Evaluation of cocaine use during pregnancy through toxicological analysis of hair. *J Anal Toxicol* 1996; 20: 555-8.
 39. Bellis M. A., Hughes K., Calafat A., Juan M., Schmitz S. Relative contributions of holiday location and nationality to changes in recreational drug taking behaviour: a natural experiment in the Balearic Islands. *Eur Addict Res* 2009; 15: 78-86.
 40. Direcció General de Salut Pública i Consum. Govern de les Illes Balears. Sistema estatal d'informació permanent sobre addicció a drogues (SHIPAD). Indicador d'urgències hospitalàries en consumidors de substàncies psicoactives. Resultats d'Eivissa de l'any 2010. Available at: <http://epidemiologia.caib.es/sacmicrofront/archivopub.do?ctrl=MCRT3371170284&id=70284> (accessed 26 April 2011; archived at <http://www.webcitation.org/6fak8PpRq>).
 41. Lai S., Lai H., Page J. B., McCoy C. B. The association between cigarette smoking and drug abuse in the United States. *J Addict Dis* 2000; 19: 11-24.
 42. Shor S., Nulman I., Kulaga V., Koren G. Heavy *in utero* ethanol exposure is associated with the use of other drugs of abuse in a high-risk population. *Alcohol* 2010; 44: 623-7.
 43. Garcia-Algar O., Kulaga V., Gareri J. *et al.* Alarming prevalence of fetal alcohol exposure in a Mediterranean city. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 2008; 30: 249-54.
 44. Addis A., Moretti M. E., Ahmed F., Birnson T. R., Koren G. Fetal effects of cocaine: an updated meta-analysis. *Reprod Toxicol* 2001; 15: 341-69.

Resumen

Introducción. La detección de la exposición prenatal a drogas de abuso es fundamental para asegurar un adecuado seguimiento de los niños afectados. El cuestionario materno no es una herramienta de cribado eficiente. En los últimos años, se ha descrito la utilidad del cabello materno y del meconio como matrices biológicas para valorar esta exposición. Por otro lado, Eivissa tiene una gran estructura de ocio nocturno internacional asociado con locales, música y el consumo de drogas recreativas. Los objetivos de este estudio son: (1) Comparar ambas matrices alternativas en la detección de la exposición prenatal a drogas en el tercer trimestre del embarazo, con la finalidad de valorar su uso como herramienta de cribado. (2) Estimar la prevalencia de consumo de drogas por parte de las mujeres embarazadas que viven en Eivissa, utilizando cuestionarios estructurados y biomarcadores en pelo materno. Además, se investigan los posibles efectos perjudiciales del consumo de drogas por la madre.

Pacientes y métodos. Entre enero y marzo de 2010 se recogieron muestras de cabello materno y meconio de 107 parejas madre-recién nacido del Hospital Can Misses de Eivissa. Se determinaron opiáceos, cocaína, cannabis, metadona, anfetaminas, 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) y sus metabolitos en un segmento proximal de pelo materno de 3 cm de longitud, correspondiente al último trimestre del embarazo, mediante cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas. Se recogieron datos sobre las características sociodemográficas y el consumo de tabaco, alcohol, fármacos de prescripción y drogas de abuso durante el embarazo, utilizando un cuestionario estructurado.

Resultados. En el cuestionario, sólo el 1,9% de las madres declararon el consumo de drogas de abuso durante el embarazo. El análisis del cabello materno fue positivo para drogas de abuso en 17 casos (15,9%): 11 a cannabis, 7 a cocaína, uno a cannabis y éxtasis, y uno a cannabis y cocaína. Solo una madre había declarado consumo de cannabis y otra de cocaína. De los 7 casos positivos para cocaína en cabello, 6 se confirmaron en el estudio de meconio, mientras que de los 11 casos positivos para cannabis, solo 3 fueron confirmados en meconio. Se definieron 2 perfiles diferenciados de consumidoras: cocaína y cannabis (solo se detectaron 2 casos de policonsumo). Se detectó un caso con los valores de cocaína en meconio más altos publicados (1.582 ng/g). El consumo durante la gestación de drogas de abuso se asocia con el consumo de tabaco, una cifra más elevada de cigarrillos y la nacionalidad española de la madre.

Conclusiones. Este estudio revela una elevada prevalencia del consumo de drogas de abuso durante el embarazo en esta cohorte. La mejora en los métodos de cribado podría optimizar la prevención y el seguimiento de los recién nacidos expuestos. El cabello materno parece ser más sensible que el meconio para detectar la exposición prenatal a cannabis durante el tercer trimestre, por lo que podría convertirse en una buena herramienta de cribado.

Bibliografía

1. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Statistical bulletin 2011.<http://www.emcdda.europa.eu/stats11>. 2011. (Acceso, 4 de diciembre de 2011)
2. Observatorio Español sobre Drogas. Informe 2009. <http://www.pnsd.msc.es/Categoría2/observa/pdf/oed-2009.pdf>. 2009. (Acceso, 4 de diciembre de 2011)
3. Levy M, Koren G. Obstetric and neonatal effects of drugs of abuse. *Emerg Med Clin North Am*. 1990;8:633-52.
4. Schempf AH. Illicit drug use and neonatal outcomes: a critical review. *Obstet Gynecol Surv*. 2007;62:749-57.
5. Shankaran S, Lester BM, Das A, Bauer CR, Bada HS, Lagasse L, et al. Impact of maternal substance use during pregnancy on childhood outcome. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2007;12: 143-50.
6. Huestis MA, Choo RE. Drug abuse's smallest victims: in utero drug exposure. *Forensic Sci Int*. 2002;128:20-30.
7. Chasnoff IJ, Bussey ME, Savich R, Stack CM. Perinatal cerebral infarction and maternal cocaine use. *J Pediatr*. 1986;108:456-9.
8. Chasnoff IJ, Griffith DR. Cocaine: clinical studies of pregnancy and the newborn. *Ann N Y Acad Sci*. 1989;562: 260-6.
9. Ellis JE, Byrd LD, Sexson WR, Patterson-Barnett CA. In utero exposure to cocaine: a review. *South Med J*. 1993;86:725-31.
10. de Moraes MC, Guinsburg R, de Araújo C, Mitsuhiro S, Chalem E, Laranjeira RR. Exposure to marijuana during pregnancy alters neurobehavior in the early neonatal period. *J Pediatr*. 2006;149:781-7.
11. Winklbaur B, Jung E, Fischer G. Opioid dependence and pregnancy. *Curr Opin Psychiatry*. 2008;21: 255-9.
12. Sokol RJ, Delaney-Black V, Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorder. *JAMA*. 2003;290: 2996-9.
13. Andres RL, Day MC. Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatol*. 2000;5:231-41.
14. Manich A, Velasco M, Joya X, Garcia-Lara NR, Pichini S, Vall O, et al. Validez del cuestionario de consumo materno de alcohol para detectar la exposición prenatal. *An Pediatr (Barc)*. 2011 Nov 19. [Epub ahead of print]
15. Eyler FD, Behnke M, Wobie K, Garvan CW, Tebbett I. Relative ability of biologic specimens and interviews to detect prenatal cocaine use. *Neurotoxicol Teratol*. 2005;27:677-87.

16. Garcia-Algar O, Vall Combelles O, Puig Sola C, Mur Sierra A, Scaravelli G, Pacifici R, et al. Exposición prenatal a drogas de abuso utilizando el análisis del meconio en una población de bajo nivel socioeconómico en Barcelona. *An Pediatr (Barc)*. 2009;70:151-8.
17. Bessa MA, Mitsuhiro SS, Chalem E, Barros MM, Guinsburg R, Laranjeira R. Underreporting of use of cocaine and marijuana during the third trimester of gestation among pregnant adolescents. *Addict Behav*. 2010;35:266-9.
18. Lester BM, ElSohly M, Wright LL, Smeriglio VL, Verter J, Bauer CR, et al. The Maternal Lifestyle Study: drug use by meconium toxicology and maternal self-report. *Pediatrics*. 2001;107:309-17.
19. Lozano J, Garcia-Algar O, Vall O, de la Torre R, Scaravelli G, Pichini S. Biological matrices for the evaluation of in utero exposure to drugs of abuse. *Ther Drug Monit*. 2007;29:711-34.
20. Klein J, Karaskov T, Koren G. Clinical applications of hair testing for drugs of abuse--the Canadian experience. *Forensic Sci Int*. 2000;107:281-8.
21. Kintz P, Villain M, Cirimele V. Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit*. 2006;28:442-6.
22. Ostrea EM, Jr., Knapp DK, Tannenbaum L, Ostrea AR, Romero A, Salari V, et al. Estimates of illicit drug use during pregnancy by maternal interview, hair analysis, and meconium analysis. *J Pediatr*. 2001;138:344-8.
23. DiGregorio GJ, Ferko AP, Barbieri EJ, Ruch EK, Chawla H, Keohane D, et al. Determination of cocaine usage in pregnant women by a urinary EMIT drug screen and GC-MS analyses. *J Anal Toxicol*. 1994;18:247-50.
24. Garcia-Bournissen F, Rokach B, Karaskov T, Koren G. Cocaine detection in maternal and neonatal hair: implications to fetal toxicology. *Ther Drug Monit*. 2007;29:71-6.
25. Gareri J, Klein J, Koren G. Drugs of abuse testing in meconium. *Clin Chim Acta*. 2006;366(1-2):101-11.
26. Bar-Oz B, Klein J, Karaskov T, Koren G. Comparison of meconium and neonatal hair analysis for detection of gestational exposure to drugs of abuse. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003;88:F98-F100.
27. Gillogley KM, Evans AT, Hansen RL, Samuels SJ, Batra KK. The perinatal impact of cocaine, amphetamine, and opiate use detected by universal intrapartum screening. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163: 1535-42.
28. Ostrea EM, Brady M, Gause S, Raymundo AL, Stevens M. Drug screening of newborns by meconium analysis: a large-scale, prospective, epidemiologic study. *Pediatrics*. 1992;89: 107-13.
29. Birchfield M, Scully J, Handler A. Perinatal screening for illicit drugs: policies in hospitals in a large metropolitan area. *J Perinatol*. 1995;15: 208-14.

30. Farkas AG, Colbert DL, Erskine KJ. Anonymous testing for drug abuse in an antenatal population. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995;102:563-5.
31. Bosio P, Keenan E, Gleeson R, Dorman A, Clarke T, Darling M, et al. The prevalence of chemical substance and alcohol abuse in an obstetric population in Dublin. *Ir Med J.*, 1997;90:149-50.
32. Sherwood RA, Keating J, Kavvadia V, Greenough A, Peters TJ. Substance misuse in early pregnancy and relationship to fetal outcome. *Eur J Pediatr.* 1999;158:488-92.
33. Sanaullah F, Gillian M, Lavin T. Screening of substance misuse during early pregnancy in Blyth: an anonymous unlinked study. *J Obstet Gynaecol.* 2006;26:187-90.
34. Falcon M, Valero F, Pellegrini M, Rotolo MC, Scaravelli G, Joya J, et al. Exposure to psychoactive substances in women who request voluntary termination of pregnancy assessed by serum and hair testing. *Forensic Sci Int.* 2010;196:22-6.
35. Plan de Adicciones y Drogodependencias de las Islas Baleares (PADIB). Informe sobre el consumo de drogas en las Islas Baleares 2009/10. <http://padib.caib.es/sacmicrofront/archivopub.do?ctrl=MCRST352ZI103203&id=103203>. 2011. (Acceso, 4 de diciembre de 2011)
36. Plan de Adicciones y Drogodependencias de las Islas Baleares (PADIB). Ocio nocturno en las Illes Balears. Diagnóstico y propuestas de calidad desde la Salud Pública. <http://padib.caib.es/sacmicrofront/archivopub.do?ctrl=MCRST352ZI93232&id=93232>. 2010. (Acceso, 4 de diciembre de 2011)
37. Rowland, M., and Tozer, T. (1989). *Clinical Pharmacokinetics: concepts and applications* Philadelphia: Lee and Febiger
38. Pichini, S., Altieri, I., Zuccaro, P., and Pacifici, R. (1996). Drug monitoring in nonconventional biological fluids and matrices. *Clin Pharmacokinet* 30, 211-228.
39. Contreras, M. T., Hernandez, A. F., Gonzalez, M., Gonzalez, S., Ventura, R., Pla, A., Valverde, J. L., Segura, J., and de la Torre, R. (2006). Application of pericardial fluid to the analysis of morphine (heroin) and cocaine in forensic toxicology. *Forensic Sci Int* 164, 168-171.
40. Drummer, O. H. (2004). Postmortem toxicology of drugs of abuse. *Forensic Sci Int* 142, 101-113.
41. Palmeri, A., Pichini, S., Pacifici, R., Zuccaro, P., and Lopez, A. (2000). Drugs in nails: physiology, pharmacokinetics and forensic toxicology. *Clin Pharmacokinet* 38, 95-110.
42. Pichini, S., Navarro, M., Farre, M., Ortuno, J., Roset, P. N., Pacifici, R., Zuccaro, P., Segura, J., and de la Torre, R. (2002). On-site testing of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) in saliva with Drugwipe and Drugread: a controlled study in recreational users. *Clin Chem* 48, 174-176.

43. Shor S, Nulman I, Kulaga V, Koren G. Heavy in utero ethanol exposure is associated with the use of other drugs of abuse in a high-risk population. *Alcohol*. 2010;44:623-7.
44. Pacifici, G. M., and Nottoli, R. (1995). Placental transfer of drugs administered to the mother. *Clin Pharmacokinet* 28, 235-269.
45. Dempsey, D. A., Partridge, J. C., Jones, R. T., and Rowbotham, M. C. (1998). Cocaine, nicotine, caffeine, and metabolite plasma concentrations in neonates. *J Anal Toxicol* 22, 220-224.
46. Moore, C. M., Brown, S., Negrusz, A., Tebbett, I., Meyer, W., and Jain, L. (1993). Determination of cocaine and its major metabolite, benzoylecgonine, in amniotic fluid, umbilical cord blood, umbilical cord tissue, and neonatal urine: a case study. *J Anal Toxicol* 17, 62.
47. Pichini, S., Pellegrini, M., Pacifici, R., Marchei, E., Murillo, J., Puig, C., Vall, O., and Garcia-Algar, O. (2003b). Quantification of arecoline (areca nut alkaloid) in neonatal biological matrices by high-performance liquid chromatography/electrospray quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 17, 1958-1964.
48. Winecker, R. E., Goldberger, B. A., Tebbett, I., Behnke, M., Eyler, F. D., Conlon, M., Wobie, K., Karlix, J., and Bertholf, R. L. (1997). Detection of cocaine and its metabolites in amniotic fluid and umbilical cord tissue. *J Anal Toxicol* 21, 97-104.
49. Pichini, S., Basagana, X. B., Pacifici, R., Garcia, O., Puig, C., Vall, O., Harris, J., Zuccaro, P., Segura, J., and Sunyer, J. (2000). Cord serum cotinine as a biomarker of fetal exposure to cigarette smoke at the end of pregnancy. *Environ Health Perspect* 108, 1079-1083.
50. Tappin, D. M., Ford, R. P., and Wild, C. J. (1995). Smoking at the end of pregnancy measured by cord blood cotinine assay. *N Z Med J* 108, 108-109.
51. Montgomery, D., Plate, C., Alder, S. C., Jones, M., Jones, J., and Christensen, R. D. (2006). Testing for fetal exposure to illicit drugs using umbilical cord tissue vs meconium. *J Perinatol* 26, 11-14.
52. Jain, L., Meyer, W., Moore, C., Tebbett, I., Gauthier, D., and Vidyasagar, D. (1993). Detection of fetal cocaine exposure by analysis of amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 81, 787-790.
53. Ripple, M. G., Goldberger, B. A., Caplan, Y. H., Blitzer, M. G., and Schwartz, S. (1992). Detection of cocaine and its metabolites in human amniotic fluid. *J Anal Toxicol* 16, 328-331.
54. Olsen, G. D. (1995). Placental permeability for drugs of abuse and their metabolites. *NIDA Res Monogr* 154, 152-162.
55. Chan, D., Knie, B., Boskovic, R., and Koren, G. (2004). Placental handling of fatty acid ethyl esters: perfusion and subcellular studies. *J Pharmacol Exp Ther* 310, 75-82.
56. Sastry, B. V. (1991). Placental toxicology: tobacco smoke, abused drugs, multiple chemical interactions, and placental function. *Reprod Fertil Dev* 3, 355-372.

57. Concheiro-Guisan, M., Shakleya, D. M., and Huestis, M. A. (2009). Simultaneous quantification of buprenorphine, norbuprenorphine, buprenorphine glucuronide, and norbuprenorphine glucuronide in human placenta by liquid chromatography mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 394, 513-522.
58. de Castro, A., Concheiro, M., Shakleya, D. M., and Huestis, M. A. (2009). Simultaneous quantification of methadone, cocaine, opiates, and metabolites in human placenta by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 33, 243-252.
59. Falcon, M., Pichini, S., Joya, J., Pujadas, M., Sanchez, A., Vall, O., Algar, O. G., Luna, A., de la Torre, R., Rotolo, M. C., and Pellegrini, M. Maternal hair testing for the assessment of fetal exposure to drug of abuse during early pregnancy: Comparison with testing in placental and fetal remains. *Forensic Sci Int*. 2012;218(1-3):92-6.
60. Joya, X., Pujadas, M., Falcon, M., Civit, E., Garcia-Algar, O., Vall, O., Pichini, S., Luna, A., and de la Torre, R. Gas chromatography-mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of drugs of abuse in human placenta at 12th week of gestation. *Forensic Sci Int* 196, 38-42.
61. Ostrea, E. M., Jr., Romero, A., Knapp, D. K., Ostrea, A. R., Lucena, J. E., and Utarnachitt, R. B. (1994b). Postmortem drug analysis of meconium in early-gestation human fetuses exposed to cocaine: clinical implications. *J Pediatr* 124, 477-479.
62. Koren, G., Chan, D., Klein, J., and Karaskov, T. (2002). Estimation of fetal exposure to drugs of abuse, environmental tobacco smoke, and ethanol. *Ther Drug Monit* 24, 23-25.
63. Ostrea, E. M., Jr., Bielawski, D. M., Posecion, N. C., Jr., Corrion, M., Villanueva-Uy, E., Jin, Y., Janisse, J. J., and Ager, J. W. (2008). A comparison of infant hair, cord blood and meconium analysis to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environ Res* 106, 277-283.
64. Pichini S, Pacifici R, Pellegrini M, Marchei E, Lozano J, Murillo J, et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatography-mass spectrometry assay for determination of amphetamine, methamphetamine, and methylenedioxymethamphetamine derivatives in meconium. *Anal Chem*. 2004;76:2124-32.
65. Pichini, S., Marchei, E., Pacifici, R., Pellegrini, M., Lozano, J., and Garcia-Algar, O. (2005a). Application of a validated high-performance liquid chromatography-mass spectrometry assay to the analysis of m- and p-hydroxybenzoylecgonine in meconium. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 820, 151-156.
66. ElSohly, M. A., and Feng, S. (1998). delta 9-THC metabolites in meconium: identification of 11-OH-delta 9-THC, 8 beta,11-diOH-delta 9-THC, and 11-nor-delta 9-THC-9-COOH as major metabolites of delta 9-THC. *J Anal Toxicol* 22, 329-335.
67. Moore, C., Lewis, D., and Leikin, J. (1995). False-positive and false-negative rates in meconium drug testing. *Clin Chem* 41, 1614-1616.

68. Ostrea, E. M., Jr., Knapp, D. K., Romero, A., Montes, M., and Ostrea, A. R. (1994a). Meconium analysis to assess fetal exposure to nicotine by active and passive maternal smoking. *J Pediatr* 124, 471-476.
69. Garcia-Algar O, Kulaga V, Gareri J, Koren G, Vall O, Zuccaro P, et al. Alarming prevalence of fetal alcohol exposure in a Mediterranean city. *Ther Drug Monit.* 2008;30:249-54.
70. Pichini, S., Pellegrini, M., Gareri, J., Koren, G., Garcia-Algar, O., Vall, O., Vagnarelli, F., Zuccaro, P., and Marchei, E. (2008). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for fatty acid ethyl esters in meconium: assessment of prenatal exposure to alcohol in two European cohorts. *J Pharm Biomed Anal* 48, 927-933.
71. Chan, D., Bar-Oz, B., Pellerin, B., Paciorek, C., Klein, J., Kapur, B., Farine, D., and Koren, G. (2003). Population baseline of meconium fatty acid ethyl esters among infants of nondrinking women in Jerusalem and Toronto. *Ther Drug Monit* 25, 271-278.
72. Moore, C., Jones, J., Lewis, D., and Buchi, K. (2003). Prevalence of fatty acid ethyl esters in meconium specimens. *Clin Chem* 49, 133-136.
73. Morini, L., Marchei, E., Pellegrini, M., Groppi, A., Stramesi, C., Vagnarelli, F., Garcia-Algar, O., Pacifici, R., and Pichini, S. (2008). Liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection for the measurement of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium: new biomarkers of gestational ethanol exposure? *Ther Drug Monit* 30, 725-732.
74. Pichini S, Puig C, Zuccaro P, Marchei E, Pellegrini M, Murillo J, et al. Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city: preliminary results of the "Meconium Project". *Forensic Sci Int.* 2005;153:59-65.
75. Pragst, F., and Balikova, M. A. (2006). State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 370, 17-49.
76. Balabanova, S., and Wolf, H. U. (1989). Methadone concentrations in human hair of the head, axillary and pubic hair. *Z Rechtsmed* 102, 293-296.
77. Han, E., Yang, W., Lee, J., Park, Y., Kim, E., Lim, M., and Chung, H. (2005). Correlation of methamphetamine results and concentrations between head, axillary, and pubic hair. *Forensic Sci Int* 147, 21-24.
78. Offidani, C., Strano Rossi, S., and Chiarotti, M. (1993). Drug distribution in the head, axillary and pubic hair of chronic addicts. *Forensic Sci Int* 63, 105-108.
79. Blank, D. L., and Kidwell, D. A. (1993). External contamination of hair by cocaine: an issue in forensic interpretation. *Forensic Sci Int* 63, 145-156; discussion 157-160.
80. Mieczkowski, T., and Kruger, M. (2007). Interpreting the color effect of melanin on cocaine and benzoylecgonine assays for hair analysis: brown and black samples compared. *J Forensic Leg Med* 14, 7-15.

81. Kintz, P., and Mangin, P. (1993a). Determination of gestational opiate, nicotine, benzodiazepine, cocaine and amphetamine exposure by hair analysis. *J Forensic Sci Soc* 33, 139-142.
82. Martins, L. F., Yegles, M., Thieme, D., and Wennig, R. (2008). Influence of bleaching on the enantiomeric disposition of amphetamine-type stimulants in hair. *Forensic Sci Int* 176, 38-41.
83. Potsch, L., and Skopp, G. (1996). Stability of opiates in hair fibers after exposure to cosmetic treatment. *Forensic Sci Int* 81, 95-102.
84. Yegles, M., Marson, Y., and Wennig, R. (2000). Influence of bleaching on stability of benzodiazepines in hair. *Forensic Sci Int* 107, 87-92.
85. Eser, H. P., Potsch, L., Skopp, G., and Moeller, M. R. (1997). Influence of sample preparation on analytical results: drug analysis [GC/MS] on hair snippets versus hair powder using various extraction methods. *Forensic Sci Int* 84, 271-279.
86. Girod, C., and Staub, C. (2000). Analysis of drugs of abuse in hair by automated solid-phase extraction, GC/EI/MS and GC ion trap/CI/MS. *Forensic Sci Int* 107, 261-271.
87. Kintz, P., Cirimele, V., Tracqui, A., and Mangin, P. (1995). Simultaneous determination of amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in human hair by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Appl* 670, 162-166.
88. Schaffer, M. I., Wang, W. L., and Irving, J. (2002). An evaluation of two wash procedures for the differentiation of external contamination versus ingestion in the analysis of human hair samples for cocaine. *J Anal Toxicol* 26, 485-488.
89. Skender, L., Karacic, V., Brcic, I., and Bagaric, A. (2002). Quantitative determination of amphetamines, cocaine, and opiates in human hair by gas chromatography/mass spectrometry. *Forensic Sci Int* 125, 120-126.
90. Villamor, J. L., Bermejo, A. M., Fernandez, P., and Tabernero, M. J. (2005). A new GC-MS method for the determination of five amphetamines in human hair. *J Anal Toxicol* 29, 135-139.
91. Schaffer, M., Hill, V., and Cairns, T. (2005). Hair analysis for cocaine: the requirement for effective wash procedures and effects of drug concentration and hair porosity in contamination and decontamination. *J Anal Toxicol* 29, 319-326.
92. Tsanaclis, L., and Wicks, J. F. (2008). Differentiation between drug use and environmental contamination when testing for drugs in hair. *Forensic Sci Int* 176, 19-22.
93. SoHT (2004). Recommendations for hair testing in forensic cases. *Forensic Sci Int* 145, 83-84.
94. Hartwig, S., Auwarter, V., and Pragst, F. (2003). Effect of hair care and hair cosmetics on the concentrations of fatty acid ethyl esters in hair as markers of chronically elevated alcohol consumption. *Forensic Sci Int* 131, 90-97.

95. Jurado, C., Menendez, M., Repetto, M., Kintz, P., Cirimele, V., and Mangin, P. (1996). Hair testing for cannabis in Spain and France: is there a difference in consumption? *J Anal Toxicol* 20, 111-115.
96. Tsanaclis, L., and Wicks, J. F. (2007). Patterns in drug use in the United Kingdom as revealed through analysis of hair in a large population sample. *Forensic Sci Int* 170, 121-128.
97. Kidwell, D. A., Blanco, M. A., and Smith, F. P. (1997). Cocaine detection in a university population by hair analysis and skin swab testing. *Forensic Sci Int* 84, 75-86.
98. Quintela, O., Bermejo, A. M., Tabernero, M. J., Strano-Rossi, S., Chiarotti, M., and Lucas, A. C. (2000). Evaluation of cocaine, amphetamines and cannabis use in university students through hair analysis: preliminary results. *Forensic Sci Int* 107, 273-279.
99. Ricossa, M. C., Bernini, M., and F, D. E. F. (2000). Hair analysis for driving licence in cocaine and heroin users. An epidemiological study. *Forensic Sci Int* 107, 301-308.
100. Kintz, P., Bundeli, P., Brenneisen, R., and Ludes, B. (1998). Dose-concentration relationships in hair from subjects in a controlled heroin-maintenance program. *J Anal Toxicol* 22, 231-236.
101. Stanaszek, R., and Piekoszewski, W. (2004). Simultaneous determination of eight underivatized amphetamines in hair by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (HPLC-APCI-MS). *J Anal Toxicol* 28, 77-85.
102. Scheidweiler, K. B., and Huestis, M. A. (2004). Simultaneous quantification of opiates, cocaine, and metabolites in hair by LC-APCI-MS/MS. *Anal Chem* 76, 4358-4363.
103. Vincent, F., Bessard, J., Vacheron, J., Mallaret, M., and Bessard, G. (1999). Determination of buprenorphine and norbuprenorphine in urine and hair by gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 23, 270-279.
104. Marchei E, Pellegrini M, Pacifici R, Palmi I, Lozano J, Garcia-Algar O, et al. Quantification of Delta9-tetrahydrocannabinol and its major metabolites in meconium by gas chromatographic-mass spectrometric assay: assay validation and preliminary results of the "meconium project". *Ther Drug Monit*. 2006;28:700-6.
105. Klein, J., Karaskov, T., and Koren, G. (2000). Clinical applications of hair testing for drugs of abuse--the Canadian experience. *Forensic Sci Int* 107, 281-288.
106. Lozano, J., Garcia-Algar, O., Marchei, E., Vall, O., Monleon, T., Giovannandrea, R. D., and Pichini, S. (2007a). Prevalence of gestational exposure to cannabis in a Mediterranean city by meconium analysis. *Acta Paediatr* 96, 1734-1737.
107. Strano Rossi, S., Offidani, C., and Chiarotti, M. (1998). Application of hair analysis to document coercive heroin administration to a child. *J Anal Toxicol* 22, 75-77.
108. Ursitti, F., Klein, J., and Koren, G. (1997). Clinical utilization of the neonatal hair test for cocaine: a four-year experience in Toronto. *Biol Neonate* 72, 345-351.

109. Sallee, F. R., Katikaneni, L. P., McArthur, P. D., Ibrahim, H. M., Nesbitt, L., and Sethuraman, G. (1995). Head growth in cocaine-exposed infants: relationship to neonate hair level. *J Dev Behav Pediatr* 16, 77-81.
110. Samperiz, S., Millet, V., Arditti, J., Lacroze, V., Masset, D., Bourdon, H., Jouglard, J., and Unal, D. (1996). [Value of toxicological research in newborn infants of addicted mothers by the study of several samples (urine, meconium, hair)]. *Arch Pediatr* 3, 440-444.
111. Vinner, E., Vignau, J., Thibault, D., Codaccioni, X., Brassart, C., Humbert, L., and Lhermitte, M. (2003a). Hair analysis of opiates in mothers and newborns for evaluating opiate exposure during pregnancy. *Forensic Sci Int* 133, 57-62.
112. Vinner, E., Vignau, J., Thibault, D., Codaccioni, X., Brassart, C., Humbert, L., and Lhermitte, M. (2003b). Neonatal hair analysis contribution to establishing a gestational drug exposure profile and predicting a withdrawal syndrome. *Ther Drug Monit* 25, 421-432.
113. Potter, S., Klein, J., Valiante, G., Stack, D. M., Papageorgiou, A., Stott, W., Lewis, D., Koren, G., and Zelazo, P. R. (1994). Maternal cocaine use without evidence of fetal exposure. *J Pediatr* 125, 652-654.
114. Marques, P. R., Tippetts, A. S., and Branch, D. G. (1993). Cocaine in the hair of mother-infant pairs: quantitative analysis and correlations with urine measures and self-report. *Am J Drug Alcohol Abuse* 19, 159-175.
115. Katikaneni, L. D., Salle, F. R., and Hulsey, T. C. (2002). Neonatal hair analysis for benzoylecgonine: a sensitive and semiquantitative biological marker for chronic gestational cocaine exposure. *Biol Neonate* 81, 29-37.
116. Kintz, P., Cirimele, V., and Ludes, B. (2000). Detection of cannabis in oral fluid (saliva) and forehead wipes (sweat) from impaired drivers. *J Anal Toxicol* 24, 557-561.
117. Crouch, D. J. (2005). Oral fluid collection: the neglected variable in oral fluid testing. *Forensic Sci Int* 150, 165-173.
118. Quintela, O., Cruz, A., Castro, A., Concheiro, M., and Lopez-Rivadulla, M. (2005). Liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry for the determination of nine selected benzodiazepines in human plasma and oral fluid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 825, 63-71.
119. Drummer, O. H. (2005). Review: Pharmacokinetics of illicit drugs in oral fluid. *Forensic Sci Int* 150, 133-142.
120. Huestis, M. A., and Cone, E. J. (2004). Relationship of Delta 9-tetrahydrocannabinol concentrations in oral fluid and plasma after controlled administration of smoked cannabis. *J Anal Toxicol* 28, 394-399.

121. Concheiro, M., de Castro, A., Quintela, O., Cruz, A., and Lopez-Rivadulla, M. (2007). Confirmation by LC-MS of drugs in oral fluid obtained from roadside testing. *Forensic Sci Int* 170, 156-162.
122. Kintz, P., Villain, M., Concheiro, M., and Cirimele, V. (2005). Screening and confirmatory method for benzodiazepines and hypnotics in oral fluid by LC-MS/MS. *Forensic Sci Int* 150, 213-220.
123. Samyn, N., De Boeck, G., and Verstraete, A. G. (2002). The use of oral fluid and sweat wipes for the detection of drugs of abuse in drivers. *J Forensic Sci* 47, 1380-1387.
124. Atkinson, H. C., Begg, E. J., and Darlow, B. A. (1988). Drugs in human milk. Clinical pharmacokinetic considerations. *Clin Pharmacokinet* 14, 217-240.
125. Pons, G., Rey, E., and Matheson, I. (1994). Excretion of psychoactive drugs into breast milk. Pharmacokinetic principles and recommendations. *Clin Pharmacokinet* 27, 270-289.
126. Robieux, I., Koren, G., Vandenberghe, H., and Schneiderman, J. (1990). Morphine excretion in breast milk and resultant exposure of a nursing infant. *J Toxicol Clin Toxicol* 28, 365-370.
127. Steiner, E., Villen, T., Hallberg, M., and Rane, A. (1984). Amphetamine secretion in breast milk. *Eur J Clin Pharmacol* 27, 123-124.
128. Winecker, R. E., Goldberger, B. A., Tebbett, I. R., Behnke, M., Eyler, F. D., Karlix, J. L., Wobie, K., Conlon, M., Phillips, D., and Bertholf, R. L. (2001). Detection of cocaine and its metabolites in breast milk. *J Forensic Sci* 46, 1221-1223.
129. Pellegrini, M., Marchei, E., Rossi, S., Vagnarelli, F., Durbanshi, A., Garcia-Algar, O., Vall, O., and Pichini, S. (2007). Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry assay for determination of nicotine and metabolites, caffeine and arecoline in breast milk. *Rapid Commun Mass Spectrom* 21, 2693-2703.
130. Haustein, K. O., Thiele, G., and Stangel, U. (1994). Transport of various substances through human enamel and dentine. *Int J Clin Pharmacol Ther* 32, 483-487.
131. Cattaneo, C., Gigli, F., Lodi, F., and Grandi, M. (2003). The detection of morphine and codeine in human teeth: an aid in the identification and study of human skeletal remains. *J Forensic Odontostomatol* 21, 1-5.
132. Pascual, J. A., Diaz, D., Segura, J., Garcia-Algar, O., Vall, O., Zuccaro, P., Pacifici, R., and Pichini, S. (2003). A simple and reliable method for the determination of nicotine and cotinine in teeth by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 17, 2853-2855.
133. Garcia-Algar, O., Vall, O., Segura, J., Pascual, J. A., Diaz, D., Mutnoz, L., Zuccaro, P., Pacifici, R., and Pichini, S. (2003). Nicotine concentrations in deciduous teeth and cumulative exposure to tobacco smoke during childhood. *Jama* 290, 196-197.

134. Pichini S, Pacifici R, Altieri I, Pellegrini M, Zuccaro P. Determination of opiates and cocaine in hair as trimethylsilyl derivatives using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 1999;23:343-8.
135. Pichini S, Pacifici R, Pellegrini M, Marchei E, Perez-Alarcon E, Puig C, et al. Development and validation of a liquid chromatography-mass spectrometry assay for the determination of opiates and cocaine in meconium. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003;794:281-92.
136. Friguls B, Joya X, Garcia J, Gómez-Culebras M, Pichini S, Martinez S, et al. Assessment of Exposure to Drugs of Abuse During Pregnancy by Hair Analysis in a Mediterranean Island. *Addiction.* 2012 Feb 1. [Epub ahead of print]
137. Yawn BP, Thompson LR, Lupo VR, Googins MK, Yawn RA. Prenatal drug use in Minneapolis-St Paul, Minn. A 4-year trend. *Arch Fam Med.* 1994;3:520-7.
138. Williamson S, Jackson L, Skeoch C, Azzim G, Anderson R. Determination of the prevalence of drug misuse by meconium analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006;91:F291-2.
139. MacLeod S, Koren G. Meconium Testing for Fatty Acid Ethyl Esters: A 2011 Status Report. *J Popul Ther Clin Pharmacol.* 2011;18:e500-e502.
140. Koren G, Klein J, Forman R, Graham K. Hair analysis of cocaine: differentiation between systemic exposure and external contamination. *J Clin Pharmacol.* 1992;32:671-5.
141. Kline J, Ng SK, Schittini M, Levin B, Susser M. Cocaine use during pregnancy: sensitive detection by hair assay. *Am J Public Health.* 1997;87:352-8.
142. Mitsuhiro SS, Chalem E, Barros MC, Guinsburg R, Laranjeira R. Prevalence of cocaine and marijuana use in the last trimester of adolescent pregnancy: socio-demographic, psychosocial and behavioral characteristics. *Addict Behav.* 2007;32:392-7.
143. Bellis MA, Hughes K, Calafat A, Juan M, Schnitzer S. Relative contributions of holiday location and nationality to changes in recreational drug taking behaviour: a natural experiment in the Balearic Islands. *Eur Addict Res.* 2009;15:78-86.
144. Lai S, Lai H, Page JB, McCoy CB. The association between cigarette smoking and drug abuse in the United States. *J Addict Dis.* 2000;19:11-24.
145. Addis A, Moretti ME, Ahmed F, Einarson TR, Koren G. Fetal effects of cocaine: an updated meta-analysis. *Reprod Toxicol.* 2001;15:341-69.
146. Addis A, Moretti ME, Ahmed F, Einarson TR, Koren G. Fetal effects of cocaine: an updated meta-analysis. *Reprod Toxicol.* 2001;15:341-69.
147. Yawn BP, Thompson LR, Lupo VR, Googins MK, Yawn RA. Prenatal drug use in Minneapolis-St Paul, Minn. A 4-year trend. *Arch Fam Med.* 1994;3:520-7.

148. Chiarotti M, Strano-Rossi S, Offidani C, Fiori A. Evaluation of cocaine use during pregnancy through toxicological analysis of hair. *J Anal Toxicol.* 1996;20:555-8.
149. Williamson S, Jackson L, Skeoch C, Azzim G, Anderson R. Determination of the prevalence of drug misuse by meconium analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006;91:F291-2.
150. Mitsuhiro SS, Chalem E, Barros MC, Guinsburg R, Laranjeira R. Prevalence of cocaine and marijuana use in the last trimester of adolescent pregnancy: socio-demographic, psychosocial and behavioral characteristics. *Addict Behav.* 2007;32:392-7.