



**Somos calidad,
somos USC**

Detección de benzodiazepinas y sus metabolitos en muestras biológicas: una perspectiva desde la toxicología forense. Revisión sistemática

Autor

Alexis Adelmo Chiran Chuquizan

**Título por el que opta
Químico**

Director

Denis Mauricio Ocampo Chaguendo

**Grupo de Investigación: GRUPO DE INVESTIGACION EN ELECTROQUIMICA Y MEDIO
AMBIENTE (GIEMA)**

Línea de Investigación: Línea de Investigación: Alimentos y Fármacos

**Facultad de Ciencias Básicas
Química
Universidad Santiago de Cali
Santiago de Cali - Colombia
2025**

IMPACTOS

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Económico	No aplica	No aplica
Responsabilidad social	Apropiación social del conocimiento sobre toxicología forense	Profesionales del derecho, toxicólogos, peritos judiciales
Científico	Generación de nuevo conocimiento comparativo sobre técnicas y matrices	Comunidad académica y científica en toxicología y medicina legal
Indicadores de Gestión	No aplica	No aplica
Tecnológico	Sistematización de técnicas instrumentales utilizadas en detección de BZD	Laboratorios forenses, instituciones educativas
Técnico	Análisis crítico de la aplicabilidad técnica según tipo de matriz biológica	Profesionales en toxicología forense
Ambiental	No aplica	No aplica
Social	Aporte a la toma de decisiones fundamentadas en contextos judiciales	Operadores judiciales, peritos y sociedad general
Cultural	No aplica	No aplica

DETECCIÓN DE BENZODIACEPINAS Y SUS METABÓLICOS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS: UNA PERSPECTIVA DESDE LA TOXICOLOGÍA FORENSE

Alexis Adelmo Chiran Chuquizan ¹ (alexis.chiran00@usc.edu.co)

¹Grupo de Investigación en Electroquímica Y Medio Ambiente (GIEMA), Programa de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Santiago de Cali. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia

RESUMEN

La identificación de benzodiazepinas y sus metabolitos en toxicología forense exige el uso de técnicas instrumentales de alta sensibilidad y especificidad, en ese orden de ideas, el objetivo de este trabajo fue analizar comparativamente las principales metodologías utilizadas para la detección e identificación de benzodiazepinas en muestras biológicas, evaluando su eficiencia, aplicabilidad en contextos forenses y diferencias según el tipo de matriz. Esto se realizó a partir de una revisión documental de fuentes científicas recientes, que se enfocaban en técnicas como inmunoensayos, cromatografía de gases (GC-MS) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS y LC-HRMS), además, se compararon diferentes matrices biológicas (sangre, orina, fluido oral, cabello, tejidos) y se analizaron las fortalezas y limitaciones de cada método en el ámbito forense. Se puede afirmar que las técnicas instrumentales mediante LC-MS/MS son las más eficaces para la detección de las benzodiazepinas en el contexto de la toxicología forense, dado que se caracterizan por la gran sensibilidad que presentan y por el hecho de permitir la detección de múltiples compuestos. La matriz estándar sigue siendo la sangre, aunque matrices como la bilis, el humor vítreo, el cabello y muestras secas adquieren bastante protagonismo en los casos postmortem. La elección metodológica implicará una adaptación al caso, basándose en la disponibilidad de muestra, en la ventana de detección y en el propio contexto forense.

Palabras clave: *Toxicología forense, Benzodiazepinas, Cromatografía líquida*

DETECTION OF BENZODIAZEPINES AND THEIR METABOLITES IN BIOLOGICAL SAMPLES: A PERSPECTIVE FROM FORENSIC TOXICOLOGY

ABSTRACT

The identification of benzodiazepines and their metabolites in forensic toxicology requires the use of highly sensitive and specific instrumental techniques. In that order, the objective of this work was to comparatively analyze the main methodologies used for the detection and identification of benzodiazepines in biological samples, evaluating their efficiency, applicability in forensic contexts and differences according to the type of matrix. This was done from a documentary review of recent scientific sources, which focused on techniques such as immunoassays, gas chromatography (GC-MS) and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS and LC-HRMS). In addition, different biological matrices (blood, urine, oral fluid, hair, tissues) were compared and the strengths and limitations of each method in the forensic field were analyzed. It can be stated that instrumental techniques using LC-MS/MS are the most effective for the detection of benzodiazepines in the context of forensic toxicology, given their high sensitivity and the fact that they allow the detection of multiple compounds. The standard matrix remains blood, although matrices such as bile, vitreous humor, hair, and dried samples become quite important in postmortem cases. The methodological choice will involve adaptation to the case, based on sample availability, the detection window, and the forensic context itself.

Keywords: *Forensic toxicology, Benzodiazepines, Liquid chromatography*

HIGHLIGHTS

- Las técnicas LC-MS/MS, UHPLC-QqQ-MS/MS y LC-HRMS demostraron mayor sensibilidad y especificidad para detectar benzodiazepinas, incluso en volúmenes reducidos y matrices complejas.
- Matrices biológicas como bilis, humor vítreo, cabello y muestras secas ampliaron las posibilidades analíticas en contextos postmortem y de difícil acceso, mostrando ventajas comparativas sobre sangre y orina en ciertos escenarios.
- La aplicabilidad forense de cada método depende de la matriz utilizada, la estabilidad de los analitos y la ventana de detección, lo que refuerza la importancia de un enfoque contextualizado y multidisciplinario en toxicología forense.

1. INTRODUCCIÓN

En el correr de los últimos años, la utilización de metofitos y benzodiazepinas ha ido en aumento, tanto para fines lícitos como ilegales. Los fármacos en cuestión son comúnmente indicados para personas que sufren de problemas de origen ansioso, insomnio y epilepsia, pero también han sido utilizados para delincuencia dado el efecto sedante que poseen. En este contexto, Quijano et al. (2022) argumentan que el principio activo de la sustancia en muestras biológicas representa un problema para la toxicología forense, puesto que el metabolismo produce productos que dificultan su determinación analítica. En función de que el análisis de algunas sustancias como la cocaína o heroína existe gran literatura, las benzodiazepinas no son determinadas de la misma forma en el metabolismo. Esto dificulta en cierta medida su determinación en sangre, orina y otros fluidos.

Uno de los mayores desafíos en la toxicología forense es que una gran cantidad de estas benzodiazepinas y derivados no son siempre específicos en análisis convencionales. En México, Argentina y Estados Unidos, se ha incrementado el uso de estas sustancias por parte de delincuentes, y se han reportado casos de intoxicación y muerte relacionadas con su consumo (Calderón, 2024); además, en Guatemala, el INACIF ha logrado localizar la presencia de benzodiazepinas en casos de investigación forense, lo cual plantea la posibilidad de aplicar mejores metodologías para su detección. El problema es que en los métodos actuales no siempre logran discriminar a toda la bio-descomposición, ocasionando falsos negativos o resultados incompletos.

El análisis forense de benzodiazepinas no solo implica detectar la sustancia en sí, sino comprender su metabolismo y la manera en que el organismo la procesa. Beltrán & Perdomo (2022) han señalado que para la identificación de estos compuestos se requiere técnicas, como la cromatografía de gases acoplada a masas, debido a que algunas benzodiazepinas cambian su estructura química en metabolitos inactivos que no pueden ser detectados ni rastreados sus posibles efectos. Otro factor a tener en cuenta es la variabilidad única en la metabolización de cada fármaco lo cual puede afectar los resultados, causando que la interpretación de los análisis forenses sea un proceso complicado que requiere el trabajo de múltiples disciplinas del conocimiento.

El cambio constante de los métodos y técnicas forenses ha llevado a la puesta en práctica de nuevas tecnologías para optimizar la identificación de benzodiazepinas y sus metabolitos. Rangel (2025) destaca que el uso de espectrometría de masas de alta resolución ha permitido una detección más exacta y precisa, especialmente en casos donde las concentraciones de los analitos en estudio son solo trazas. Este desarrollo es fundamental en estudios donde se requiere analizar si una persona estaba afectada por una benzodiazepina al momento de un evento o suceso, debido a que la rapidez con la que el cuerpo metaboliza las benzodiazepinas puede dificultar su detección en plazos de tiempo largos. Sin un análisis correcto y de contexto, muchas de estas sustancias podrían no ser detectadas, afectando la resolución de casos criminales y forenses.

Otro de los efectos de las benzodiazepinas se da en poblaciones de riesgo como lo son las mujeres embarazadas. López (2021) señala que la exposición prenatal a estos fármacos puede generar problemas en el desarrollo del feto, desafortunadamente en la actualidad la detección en las madres gestantes no es fácil, debido

a que muchas veces en las entrevistas, las madres niegan o no saben que fármacos les fueron administrados. En esta área, la toxicología forense ha encontrado el meconio como una muestra eficaz para extraer los analitos a identificar como posibles partes de las benzodiazepinas en el periodo gestacional. Aunque ya tenemos en el meconio una muestra para estudio, el tiempo y velocidad con que se metabolizan y la rápida eliminación de estos productos son ahora un problema a resolver para su detección precisa en bebés recién nacidos o incluso en fetos.

Las benzodiazepinas también se han utilizado para cometer delitos ya que uno de sus efectos es que la persona afectada, quede sumisa o sin voluntad propia, esto se ha convertido en un problema grave que no se le ha prestado la debida atención en muchos países. Pinzón (2019) menciona que en Colombia estas sustancias han sido empleadas en agresiones sexuales y robos, ya que sus efectos sedantes pueden hacer que las víctimas pierdan la conciencia sin recordar lo ocurrido. Hay un vacío de estudios en este campo, ya que los métodos y técnicas actuales están desarrolladas para drogas o fármacos más conocidos que ya se estudiaban desde hace tiempo. Además, otro factor que complica la identificación de los compuestos derivados de las benzodiazepinas en las muestras biológicas se debe a que son administradas junto con licor, cocaína, y otras drogas lo cual cambia su metabolismo y disminuye la probabilidad de detección en los análisis actuales

En el campo de la toxicología forense, la incorporación de nuevos métodos tecnológicos y científicos resulta fundamental para optimizar la identificación de benzodiazepinas y sus metabolitos en algunas matrices biológicas. Yaguargos (2024) señala que la espectrometría de masas combinada con técnicas de preparación de muestras más eficientes ha permitido mejorar la sensibilidad y especificidad de los análisis. En Perú y Ecuador, donde la administración o consumo voluntario de benzodiazepinas se ha relacionado con casos de violencia intrafamiliar, contar con herramientas avanzadas y efectivas se ha vuelto prioridad para la detección del uso de posibles fármacos, para así esclarecer casos en los que estas sustancias podrían haber manipulado en el comportamiento de las víctimas

En Colombia, el uso de benzodiazepinas es un fenómeno que se ha documentado últimamente con gran cantidad de bibliografía en el campo forense, ya que compuestos como el flunitrazepam y el alprazolam pueden ser utilizadas para suprimir la voluntad de las personas en casos de agresiones sexuales y hurtos (Pinzón, 2019). Al igual que en los neonatos que se mencionó anteriormente uno de los principales problemas a resolver en los casos de agresiones sexuales y robos es la velocidad con la que el ser humano procesa y metaboliza las sustancias en estudio y a identificar, lo que a su vez causa que sea difícil la detección, si no se cuenta con los equipos, los métodos y técnicas analíticas apropiadas con un alto nivel de especificidad y sensibilidad. En estos casos es donde se necesita la toxicología forense para desarrollar los métodos que permite identificar los metabolitos de las benzodiazepinas en las muestras biológicas como son sangre, orina e incluso cabello, teniendo así una mayor cantidad de muestras para la detección y aumentando la probabilidad de obtener pruebas más sólidas en investigaciones de tipo penal.

El Instituto Nacional de Ciencias Forenses (INACIF) en Guatemala ha reportado un aumento en la solicitud de análisis toxicológicos para la detección de benzodiazepinas y sus metabólicos, lo que muestra la importancia de profundizar en los métodos de análisis para estas sustancias en el área forense. En estudios actuales, se ha concluido que técnicas pioneras y con equipos modernos como la espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases (GC-MS) y cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) dan resultados más precisos en la identificación de estos compuestos (Garzón & Parada, 2023). Pero conseguir estos equipos en países de Latinoamérica, especialmente en algunas regiones es muy difícil debido a la escasez de recursos y otras prioridades de los gobiernos, lo cual hace que la capacidad de análisis y detección para una posible respuesta apropiada ante casos de intoxicación o delitos asociados a estas sustancias se vea limitada. Esto sumado a el tiempo en que se da la metabolización de las benzodiazepinas de persona a persona afecta los resultados de los análisis, por lo tanto, se debe o continuar investigando y desarrollando métodos de detección que sean más robustos, eficientes y óptimos.

Los efectos del consumo de benzodiazepinas ya sea voluntariamente o a través del uso para cometer crímenes, no solo se siente en la toxicología forense, también se ha vuelto un problema de salud pública. En estudios realizados en México y España, se ha observado que el abuso de estas sustancias está relacionado con un aumento en la incidencia de hospitalizaciones por sobredosis, muchas veces combinadas con alcohol u otros depresores del sistema nervioso central (García & Martínez, 2025). En las cárceles, la venta y comercio de benzodiazepinas por los reclusos se ha vuelto factor muy alto en episodios relacionados con casos de violencia

y disminución de la salud física y psicológica de los consumidores. Estos hallazgos nos muestran que es necesario implementar controles más efectivos además de mejorar los sistemas de monitoreo del consumo de algunos fármacos que pueden tener doble uso si no se administran correctamente, también es importante crear y aplicar estrategias de educación y prevención que permitan disminuir el impacto en la sociedad debido en muchos casos al desconocimiento.

Es importante resaltar que en la detección de benzodiazepinas, el tiempo transcurrido tiene vital importancia en el análisis de matrices biológicas, la exposición del objeto o individuo en estudio y las muestras extraídas se vuelve más complicada dificultando la detección en sangre u orina a medida que más pasa el tiempo desde el consumo o administración del fármaco. Algunas de las matrices más estudiadas para análisis y detección son el cabello y el meconio, estas se han vuelto herramientas valiosas para la identificación de sustancias en individuos expuestos a psicofármacos, el meconio en etapas tempranas de la vida (Gómez, 2024). Esto es especialmente importante de resaltar en el campo forense, ya que nos permite detectar la exposición prenatal a benzodiazepinas en bebés recién nacidos y extraer información vital en investigaciones de negligencia médica de los profesionales o abuso por parte de los padres. Otra de las ventajas de la matrices cabello es que se puede establecer estándares de consumo en periodos de tiempo, lo cual ayuda a la interpretación y análisis correcto de los resultados en casos de adicción o exposición involuntaria.

La toxicología forense además de enfocarse en la detección de benzodiazepinas en muestras biológicas, también su propósito es el desarrollo de métodos innovadores para la identificación de los analitos. La espectrometría de movilidad iónica y los biosensores electroquímicos prometen resultados confiables en la detección rápida de las benzodiazepinas y sus metabolitos, en escenarios donde el acceso a laboratorios especializados es limitado (González, 2024). Los nuevos desarrollos en tecnologías de detección son un avance destacado en la guerra contra el uso ilícito de estos psicofármacos, debido a que permiten detectar con mayor velocidad lo cual disminuye el tiempo de análisis lo cual es necesario en controles rutinarios, investigaciones por crímenes y emergencias médicas, evitando que las muestras se degraden y no puedan ser detectadas. A pesar de contar con estos equipos ahora el principal desafío es que estas tecnologías no se pueden distribuir fácilmente en regiones con recursos limitados que no invierten en la actualización de equipos modernos.

El uso de benzodiazepinas para propósitos recreativos o ilegales ha creado la necesidad implementar e innovar los métodos de análisis toxicológico en las instituciones de control. Un ejemplo de esto es el Sistema de Alertas Tempranas (SAT) implementado en Bogotá, que ha permitido la identificación de la adulteración de fármacos y la presencia de benzodiazepinas en drogas sintéticas como el éxtasis (Alejo & García, 2021). Los resultados encontrados muestran la necesidad de contar con metodologías y equipos de monitoreo constantes que permitan anticiparse a las innovaciones del mercado ilícito y así eludir probables crisis de salud pública. De igual forma el acoplamiento de técnicas analíticas tradicionales dándoles un toque emergente como la proteómica, ha mostrado ser una herramienta eficaz para mejorar la precisión en la identificación de estos compuestos en distintas matrices biológicas (Díaz et al., 2019).

Otro desafío importante en el análisis de benzodiazepinas es la variabilidad en sus efectos según el metabolismo de cada individuo. Estudios recientes han destacado el papel de los transportadores de membrana en la absorción y eliminación de estas sustancias, lo que puede influir en su detección en pruebas toxicológicas (De la Guardia, 2024). Estos cambios en los metabolitos secundarios generan mayor complejidad al momento de interpretar los resultados, además tiene relación directa en que tan eficaces son los tratamientos médicos en los casos de sobredosis o intoxicación por benzodiazepinas. Debido a esto, la biomonitorización en el ser humano se puede convertir en una de las herramientas más fundamentales para examinar el consumo voluntario o involuntario de la población a benzodiazepinas y así planificar de forma más efectiva su regulación y control por parte de los gobiernos.

El campo de la toxicología forense ha cobrado una importancia crucial en la identificación y análisis de benzodiazepinas, especialmente en escenarios como juicios, investigaciones de accidentes de tránsito y evaluaciones clínicas vinculadas con la capacidad psicomotora. Estas sustancias, ampliamente prescritas por sus efectos ansiolíticos y sedantes, pueden comprometer significativamente la coordinación motora y los tiempos de reacción de conductores y peatones, aumentando el riesgo de siniestros viales (Pérez & Ramírez, 2023). En varios países del Cono Sur se han fortalecido los controles de tránsito mediante equipos capaces de detectar la presencia de sustancias psicoactivas, incluyendo rangos específicos para benzodiazepinas en sangre. Sin embargo, sigue

siendo un reto correlacionar de manera exacta la concentración plasmática con el grado real de afectación psicomotora, lo que evidencia la necesidad de seguir perfeccionando los métodos de análisis forense.

Otro aspecto crítico es el consumo conjunto de benzodiazepinas con otras sustancias psicoactivas. En especial, la combinación con opioides se ha asociado a un incremento en la depresión respiratoria y en el riesgo de sobredosis letal (Torres et al., 2024). En Estados Unidos y la Unión Europea, este consumo combinado ha sido identificado como un factor clave en múltiples muertes por intoxicación con psicofármacos, lo que ha impulsado políticas de vigilancia epidemiológica más rigurosas. En América Latina, aunque los registros forenses muestran un aumento en la detección de estos casos, persisten vacíos de información derivados de la falta de estudios sistemáticos, lo que subraya la urgencia de fortalecer los sistemas de recolección y análisis de datos.

En los últimos años, una línea emergente en la detección de benzodiazepinas es la integración de herramientas de inteligencia artificial en los análisis toxicológicos. Redes neuronales y algoritmos de aprendizaje automático han demostrado gran potencial para predecir patrones de consumo y optimizar la interpretación de resultados (Fernández & López, 2025). Estas tecnologías permiten procesar grandes volúmenes de información en menor tiempo y con mayor precisión, aunque su implementación se concentra aún en países desarrollados debido a limitaciones económicas, tecnológicas y de formación profesional en regiones en desarrollo; de hecho, la farmacogenética también ha adquirido protagonismo al evidenciar que variaciones genéticas pueden influir en la metabolización de benzodiazepinas, explicando diferencias individuales en eficacia, toxicidad o reacciones adversas (Vega et al., 2024). Si bien esta área promete optimizar tanto los tratamientos clínicos como la interpretación forense, su aplicación práctica aún se encuentra en etapas iniciales y requiere investigaciones más amplias en diversas poblaciones.

A nivel regulatorio, la clasificación de las benzodiazepinas como sustancias controladas ha generado debates en numerosos países. Mientras algunos sistemas promueven un uso estrictamente supervisado, otros abogan por reemplazar progresivamente estos fármacos por alternativas menos adictivas (Mendoza & Rojas, 2023). En ambos casos, la educación y la sensibilización sobre su uso responsable resultan esenciales para reducir riesgos, especialmente la automedicación y el desvío hacia mercados ilegales (Ortega & Silva, 2024), la aparición constante de nuevas sustancias psicoactivas (NSP) suma un desafío adicional. Desde la activación del mecanismo internacional de alerta temprana en 2013, se han reportado 1.245 NSP en 142 países (UNODC, 2024), lo que evidencia la magnitud del problema. Aunque el número anual de nuevas sustancias parece haber disminuido, se desconoce si esto responde a una reducción real en su producción o a la dificultad de detectarlas por la velocidad con que cambian sus formulaciones. Esta incertidumbre afecta especialmente a países con tecnologías de detección rezagadas o metodologías tradicionales que no incorporan los avances más recientes.

Hoy, el análisis forense de benzodiazepinas se encuentra en una etapa de transformación, impulsada por herramientas como la espectrometría de masas de alta resolución, la inteligencia artificial y la farmacogenética. Estas innovaciones expanden la capacidad para identificar sustancias y comprender mejor sus efectos, pero también plantean retos significativos: acceso limitado a tecnología avanzada, falta de personal especializado y una regulación que aún no se adapta al ritmo de las NSP. Por ello, es indispensable fortalecer la cooperación entre instituciones del Estado, la academia, la medicina legal, la fuerza pública y los laboratorios forenses y, en este contexto, surge una pregunta fundamental: ¿están respondiendo las técnicas instrumentales actuales a los desafíos reales del análisis forense de benzodiazepinas? El presente artículo busca examinar las principales ventajas y limitaciones de las metodologías más empleadas para su detección en muestras biológicas, revisando la evidencia científica disponible, sus aplicaciones forenses y su eficacia en diferentes escenarios. El propósito es ofrecer una visión actualizada y crítica que permita comprender la pertinencia y alcance de estas herramientas dentro de un campo en constante evolución.

2. METODOLOGÍA

2.1 Estrategia de búsqueda

Se realizó una búsqueda detallada de artículos publicados entre 2019 y 2024 en inglés y español. Las bases de datos utilizadas fueron PubMed y Scopus, aplicando una estrategia de búsqueda combinando términos MeSH (Medical Subject Headings) y palabras clave relacionadas con benzodiazepinas, metabolitos, detección en matrices biológicas y análisis toxicológico. Para refinar los resultados, se emplearon operadores booleanos como "AND", "OR" y "NOT". También se usó del método PRISMA (Recommended Reporting Items for Systematic

Reviews and Meta-Analyses) que busca dar transparencia y rigor al proceso a través del orden de las fases de identificación, selección, elegibilidad e inclusión de artículos y por lo que se estableció una buena sistematización de los resultados obtenidos (Page et al., 2021).

Tabla1.

Combinaciones de las palabras claves con el uso de operadores booleanos

No.	Combinaciones de las palabras claves para la búsqueda
Idioma: ingles	
1	"Benzodiazepines" AND Metabolite* AND "Biological Samples" AND "Toxicology"
2	Benzodiazepine* AND Metabolites AND Urine AND "Forensic Toxicology"
3	Benzodiazepine* AND Metabolite* AND Blood AND "Toxicological Analysis"
4	BZD AND Metabolites AND Plasma AND "Drug Testing"
5	Benzodiazepines AND Metabolite* AND Hair AND "Forensic Toxicology"
6	Benzodiazepine* AND Metabolites AND "Biological Matrix" AND "Drug Testing"
7	Benzodiazepine* AND Metabolites AND Urine OR Blood OR Hair
8	BZD AND Metabolite* AND Plasma AND Toxicology NOT Veterinary
Idioma: español	
9	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Orina AND Toxicología
10	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Sangre AND Toxicología Forense
11	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Cabello AND Análisis Toxicológico
12	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Muestra Biológica AND Toxicología
13	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Plasma AND Pruebas de Drogas
14	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Matriz Biológica AND Toxicología
15	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Orina OR Sangre OR Cabello
16	Benzodiazepinas AND Metabolitos AND Plasma AND Toxicología NOT Veterinaria

Nota. Elaboración propia

2.2 Criterios de inclusión y de exclusión

Criterios de inclusión:

- Artículos publicados en inglés y español en los últimos 5 años 2020-2025.
- Estudios que aborden la detección de benzodiazepinas y sus metabolitos en matrices biológicas humanas.
- Investigaciones que utilicen técnicas analíticas como cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).
- Estudios con datos sobre sensibilidad, especificidad y confiabilidad de los métodos empleados.

Criterios de exclusión:

- Estudios realizados en modelos animales o in vitro.
- Revisiones narrativas, cartas al editor o editoriales.
- Investigaciones sin datos sobre validación analítica o rendimiento de las técnicas utilizadas.

2.3 Extracción y análisis de la literatura

Una vez completada la búsqueda sistemática, todos los resultados obtenidos se exportaron al gestor bibliográfico Mendeley, esta herramienta facilitó la organización inicial del material recuperado, permitiendo la eliminación automática de duplicados y la clasificación preliminar de los estudios según su título, resumen y palabras clave; posteriormente, se realizó una primera fase de cribado mediante la lectura detallada de títulos y resúmenes, con el fin de descartar aquellos documentos que no cumplieran con los criterios de inclusión definidos.

Tras este primer filtro, se procedió a la revisión en texto completo de todos los artículos potencialmente pertinentes, esta etapa fue relevante para identificar investigaciones que reportaran explícitamente la determinación de

benzodiazepinas o sus metabolitos en matrices biológicas relevantes para el análisis toxicológico forense. Durante esta revisión se evaluaron aspectos metodológicos, el tipo de matriz analizada, las técnicas instrumentales empleadas, los metabolitos detectados, los parámetros de validación y los principales hallazgos de cada estudio.

La información seleccionada se registró en una matriz de extracción con el propósito de sistematizar los datos mediante categorías comparables como tipo de muestra, método analítico, límites de detección y cuantificación, capacidad de discriminación entre metabolitos, confiabilidad del método y aplicabilidad en contextos forenses. Este procedimiento garantizó un análisis riguroso, homogéneo y ordenado de toda la literatura seleccionada, lo que facilitó la posterior comparación de técnicas y la identificación de tendencias, fortalezas y limitaciones en los métodos instrumentales actuales.

2.4. Riesgo del sesgo

Para asegurar la calidad y confiabilidad de los estudios incluidos, se evaluó el riesgo de sesgo mediante un análisis crítico que consideró aspectos metodológicos donde primeramente se examinaron posibles sesgos de selección, especialmente aquellos derivados de muestras no representativas o tamaños reducidos que limitaran la generalización de los resultados, asimismo, se evaluaron sesgos de información relacionados con la falta de claridad en los procedimientos analíticos, la ausencia de validación o la omisión de parámetros esenciales como precisión, exactitud o recuperación.

También se consideró el sesgo de publicación, común en investigaciones toxicológicas, debido a la tendencia a reportar únicamente estudios con resultados positivos o exitosos en la aplicación de determinadas técnicas instrumentales y, finalmente, se tuvo en cuenta el riesgo de sesgo metodológico, particularmente en trabajos que no especificaban adecuadamente la calibración de instrumentos, el control de calidad interno o los protocolos de preparación de las muestras biológicas.

La evaluación del riesgo de sesgo permitió interpretar los hallazgos con mayor cautela y comprender las limitaciones de la literatura existente, contribuyendo a una discusión más sólida y crítica en las secciones posteriores del estudio.

3. RESULTADOS

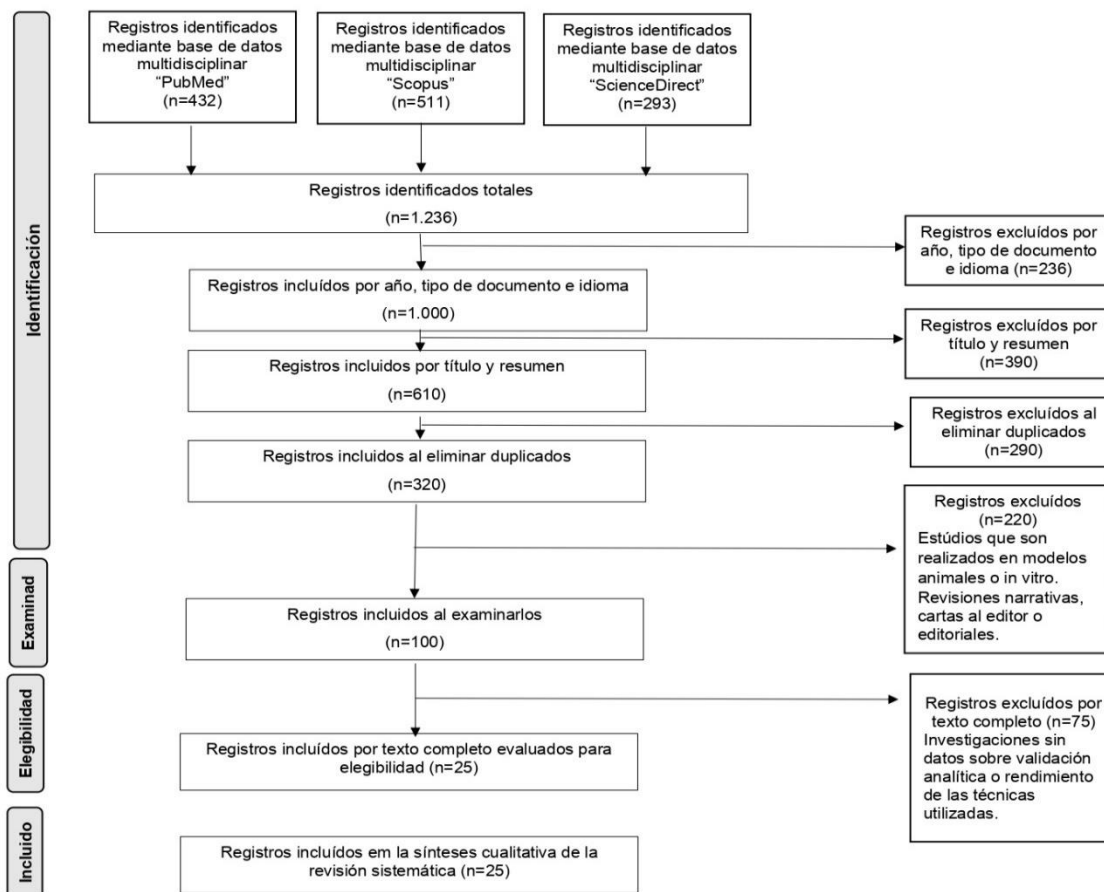
La búsqueda sistemática se desarrolló en tres bases de datos multidisciplinarias, concretamente PubMed (n = 432), Scopus (n = 511) y ScienceDirect (n = 253), lo que supuso la identificación inicial de 1.236 referencias, tras eliminar 290 repetidas se procedió a tener en consideración 946 referencias para su selección. En este proceso se establecieron criterios de inclusión y exclusión entre los que se encontraban las restricciones del año, tipo de documentos e idioma, motivos que dieron como resultado la exclusión de 23 registros en esta fase.

En la criba de títulos y resúmenes se obtuvieron 610 referencias, de las cuales fueron excluidas 390 por no corresponder a los objetivos temáticos del estudio. Entrando en un examen más pormenorizado y evaluando 100 artículos fueron excluidos 75 tras una lectura profunda al no presentar datos sobre validación analítica o rendimiento de las técnicas utilizadas o corresponderse con estudios realizados en modelos animales o in vitro, revisiones narrativas, cartas al editor o editoriales, siendo un total de 25 los artículos incluidos en la síntesis cualitativa de la presente revisión sistemática.

Estos resultados fueron resumidos de manera gráfica en un diagrama de flujo PRISMA donde se ilustra todo el proceso de identificación, cribado, inclusión y elegibilidad de los artículos que forman parte de esta revisión sistemática.

Figura1.

Diagrama de flujo PRISMA que ilustra la búsqueda y selección de los artículos.



Nota. Elaboración propia

La recopilación de la información de los estudios incluidos en la revisión sistemática se realizó en una base de datos creada en Microsoft Excel, con el fin de organizar y sistematizar los hallazgos de manera clara y estructurada. Para ello, se diseñó una hoja de cálculo con los siguientes encabezados: autor, año de publicación, país de origen del estudio, diseño del estudio, tipo de matriz biológica analizada, técnica instrumental utilizada, objetivo del estudio, y resultados principales y conclusiones. Esta estructura permitió una comparación detallada entre los distintos artículos, facilitando el análisis cualitativo y la identificación de tendencias relevantes en la detección de benzodiazepinas y sus metabolitos en matrices biológicas, así como la evaluación del desempeño de las técnicas empleadas.

Tabla2.

Colección de datos, tras la lectura de los textos completos de los artículos seleccionados.

Autor	Año	País	Diseño del estudio	Tipo de matriz biológica analizada	Técnica instrumental	Objetivo	Resultados principales	Fortalezas	Limitaciones / Restricciones
Hai-Yan Cui et al.	2023	China	Estudio analítico	Sangre	LC-MS/MS	Identificar carbamazepina y su metabolito epóxido en muestras biológicas postmortem	Alta linealidad, bajos LOD y LOQ, excelente recuperación analítica. Útil en detección de trazas postmortem.	Alta sensibilidad y precisión; validada en múltiples estudios forenses.	Ventana de detección corta; problemas en muestras postmortem por redistribución.
Pérez Orts et al.	2023	España	Estudio analítico	Sangre, orina y cabello	LC-MS/MS	Detectar DBZDs en casos de agresión sexual facilitada por drogas (DFSA)	Alta sensibilidad, permite detectar metabolitos emergentes. Útil ante rápida metabolización y falta de regulación.	Permite monitorear diferentes fases de exposición.	Complejidad en el procesamiento y análisis; requiere equipamiento diverso.
Barone et al.	2023	Italia	Estudio analítico	Sangre postmortem	UPLC-MS/MS	Desarrollar método multicompuesto para detectar hasta 68 fármacos psicoactivos	Método ágil, económico, con poco volumen de muestra. Usa calibradores comerciales. Útil para laboratorios forenses con recursos limitados.	Fácil implementación; bajo costo y uso eficiente de muestras.	Posible interferencia por degradación postmortem; limitaciones en extrapolación clínica.
Sacco et al.	2025	Italia	Estudio retrospectivo	Sangre, orina, humor vítreo y tejidos orgánicos	GC-MS y LC-MS/MS	Analizar sobredosis y establecer causas de muerte en contextos forenses complejos	Permite análisis multimatricial, útil para patrones de abuso y diagnósticos integrales.	Cobertura amplia y análisis integral; alta sensibilidad.	Mayor complejidad analítica y costos asociados.

Zhaowei Jie et al.	2023	China	Estudio experimental	Microsomas hepáticos humanos y pez cebra	UPLC-Q-Exactive-MS	Caracterizar el metabolismo de etizolam y sus metabolitos estructurales	Identificación de biomarcadores como M1, M19 y M16. Técnica avanzada con gran capacidad estructural.	Capacidad de detección avanzada y especificidad.	Limitaciones en extrapolación clínica y biológica a humanos.
Hideki Nozawa et al.	2023	Japón	Estudio analítico	Bilis, líquido pericárdico, contenido gástrico postmortem	LC-MS/MS	Validar cuantificación de drogas y metabolitos en matrices no convencionales	Evidencia reacciones químicas postmortem como la reducción de N-óxido de olanzapina, lo que demanda métodos robustos para evitar errores de interpretación toxicológica.	Ampliación de la ventana de detección postmortem.	Riesgo de interpretaciones erróneas por reacciones químicas postmortem.
Elenstål et al.	2023	Suecia	Estudio experimental	Sangre simulada hiperlipémica (modelo con Intralipid)	UPLC-MS/MS	Evaluar el efecto de la lipemia en la recuperación de fármacos postmortem	La lipemia interfiere en la cuantificación de compuestos lipofílicos. Resalta la importancia de validar técnicas en condiciones reales y complejas, como las del entorno postmortem.	Permite evaluar interferencias en condiciones reales simuladas.	Resultados pueden no ser representativos para todas las matrices reales.
Nitta et al.	2025	Japón	Estudio analítico	Cabello	LC-MS/MS	Evaluar detección de suvorexant y lemborexant tras una única dosis en análisis forense	Alta sensibilidad permite detección en cabello tras una sola dosis. Útil para análisis segmentado de patrones de consumo.	Permite evaluación de consumo a largo plazo; útil en análisis retrospectivos.	Retos en interpretación debido a posibles contaminaciones y variabilidad en crecimiento del cabello.

Brian Rossi et al.	2021	EE. UU.	Estudio comparativo	Orina	LC-MS/MS e inmunoensayo	Comparar inmunoensayos y LC-MS/MS en la detección de benzodiazepinas tradicionales y de diseño	Inmunoensayos con buena especificidad, pero LC-MS/MS con mejor sensibilidad y cobertura, especialmente útil para metabolitos menos comunes.	Fácil recolección y amplia ventana de detección.	Interpretación limitada para intoxicación aguda; posibles interferencias.
Hansen et al.	2021	Dinamarca	Estudio analítico	Tejido muscular postmortem y sangre	UHPLC-MS/MS	Evaluar el uso de tejido muscular como alternativa en análisis toxicológicos postmortem	El tejido muscular puede reemplazar sangre en casos de deterioro. Método compatible con flujos de trabajo rutinarios.	Alternativa válida cuando la sangre no está disponible; buena reproducibilidad.	Necesidad de validación continua; posible variabilidad en la concentración.
Wachetko et al.	2022	Polonia	Estudio analítico	Sangre, orina, humor vítreo y bilis (matrices antemortem y postmortem)	UHPLC-QqQ-MS/MS	Detección simultánea de 54 benzodiazepinas, metabolitos y z-drugs	Técnica con alta capacidad para detectar múltiples compuestos con límites de cuantificación bajos (10 pg/mL) y mínimo volumen de muestra, ideal para muestras forenses limitadas en cantidad o calidad.	Ideal para muestras limitadas; alta sensibilidad y especificidad.	Complejidad en manejo de diferentes matrices; requiere personal capacitado.

Franzin et al.	2024	Italia	Estudio analítico	Bilis postmortem	LC-MS/MS	Cuantificar 108 drogas ilícitas y metabolitos	Método que muestra una ventana de detección más amplia en bilis que en sangre, ampliando las posibilidades para análisis toxicológicos postmortem.	Mayor tiempo para detección en análisis forense.	Posible interferencia por degradación y redistribución.
Wiar et al.	2020	Francia	Estudio analítico	Cabello, hueso y uñas	LC-MS/MS	Complementar investigaciones toxicológicas en cuerpos muy descompuestos	El análisis en estas matrices es útil para casos difíciles, pero presenta retos por redistribución postmortem y degradación de compuestos, lo que requiere interpretación cuidadosa.	Permite análisis en exposiciones a largo plazo y muestras no convencionales.	Complejidad en interpretación; riesgos de degradación y contaminación.
Masood & Veenstra	2020	Estados Unidos	Estudio metodológico	Muestras clínicas (varias matrices)	LC-MS/MS con sMRM	Evaluar la reducción de tiempos en análisis toxicológicos sin pérdida de sensibilidad	Demostraron que el uso de sMRM en LC-MS/MS reduce el tiempo de análisis a menos de 7 minutos, manteniendo sensibilidad, ideal para laboratorios con alto volumen de muestras clínicas.	Alta eficiencia y reducción de tiempos; adaptable a rutina clínica.	Requiere equipamiento avanzado y personal especializado.

Minnan Al-Khafaji et al.	2023	Reino Unido	Estudio de caso clínico	Orina	Análisis toxicológico múltiple (no especificado)	Describir un caso clínico con hemorragia intracraneal multifocal y subaracnoidea en contexto de consumo prolongado de cocaína	Paciente con hemorragias cerebrales simultáneas, positivo para cocaína, metabolitos y otras drogas en orina. Tratamiento conservador con recuperación funcional tras 30 días.	Sensibilidad clínica para seguimiento de pacientes.	Limitado a casos específicos; no siempre aplicable a población general.
Bequis-Lacera, M. D. C. et al.	2023	Colombia	Revisión sistemática exploratoria	No aplica (estudio bibliográfico)	Revisión sistemática de literatura	Identificar factores asociados con la ideación y conducta suicida en estudiantes de enfermería	Se encontraron 13 factores asociados, entre ellos residencia, responsabilidad académica, tratamiento psicológico, estado civil, religión, uso de sustancias psicoactivas, sexo, habilidades psicosociales, historial de intentos, maltrato, entre otros.	Síntesis de múltiples estudios; aporta perspectiva integral.	No aporta datos experimentales ni validación empírica directa.
Corzo Vega et al.	2023	Colombia	Revisión sistemática	Sangre, orina, saliva, hígado, líquido pericárdico, humor vítreo	Cromatografía y espectrometría de masas	Evaluar métodos toxicológicos para la detección del carfentanilo y su relación con mortalidad asociada	Se describen múltiples métodos para detectar carfentanilo en diferentes matrices biológicas, incluyendo técnicas	Diversidad metodológica y matrices; relevancia clínica y forense.	Limitada disponibilidad y accesibilidad de técnicas avanzadas.

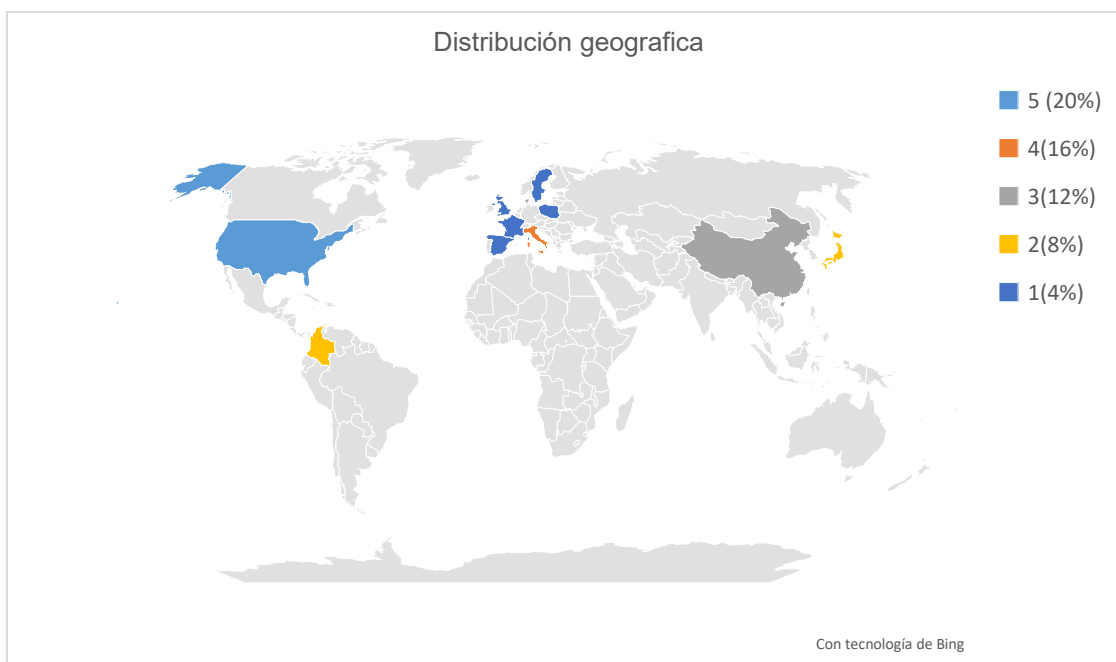
							avanzadas portátiles.		
Cui Haiyan et al.	2023	China	Desarrollo y validación de método	Sangre	LC-MS/MS	Establecer un método LC-MS/MS para la determinación de carbamazepina y sus metabolitos en sangre	El método desarrollado mostró alta sensibilidad, buena selectividad, con límites de detección bajos y buena recuperación.	Resultados reproducibles y confiables para identificación toxicológica.	Posible limitación en detección de fármacos poco comunes o en bajas concentraciones.
Franzin et al.	2024	Italia	Validación método analítico	Matriz biliar	LC-MS/MS	Cuantificar 108 drogas ilícitas y metabolitos en bilis post mortem para análisis toxicológico	La bilis mostró concentraciones más altas que sangre, indicando una ventana de detección extendida.	Ventana ampliada para análisis forense.	Requiere manejo especializado y entendimiento de metabolismo biliar.
Hansen, Nielsen, Linnet, Rasmussen	2021	Dinamarca	Desarrollo y validación método	Sangre y tejido muscular post mortem	UHPLC-MS/MS	Validar método para cuantificar 29 fármacos y metabolitos en sangre y tejido muscular en análisis forense rutinario	Método robusto y automatizado que permitió incorporar tejido muscular en análisis forense de rutina cuando no hay sangre disponible.	Alta precisión, automatización y confiabilidad.	Validación continua requerida para diferentes contextos forenses.

Hooshfar et al.	2021	EE.UU.	Desarrollo y validación método	Orina	DMS-MS/MS	Desarrollar método rápido y sensible para detección simultánea de 33 fármacos y metabolitos en orina y compararlo con inmunoensayo	Detectó un 20% más de fármacos en orina que inmunoensayo, demostrando mayor sensibilidad y mejor rendimiento analítico para pruebas toxicológicas clínicas.	Mayor sensibilidad y rapidez; útil en pruebas clínicas.	Necesidad de equipamiento sofisticado y capacitación.
Kjær et al.	2024	Dinamarca	Estudio de calidad y prevalencia	Orina	Inmunoensayo, LC-MS/MS, GC-MS	Evaluar rendimiento del cribado in situ, analizar tendencias de consumo de drogas en prisiones danesas y sugerir mejoras	La sensibilidad del inmunoensayo fue 66-100%, especificidad >98%. Laboratorio detectó drogas no analizadas en cribado, con prevalencia de consumo: cannabis > etanol > cocaína > benzodiazepinas > anfetamina.	Amplia validación en población penal; relevancia epidemiológica.	Limitaciones inherentes al cribado inmunoenzimático; falsos negativos.

Lund et al.	2023	EE.UU.	Evaluación comparativa de pruebas	Orina	Inmunoensayo de alta sensibilidad (HS), LC-MS/MS	Comparar dos inmunoensayos HS para benzodiazepinas con un método LC-MS/MS para mejorar la detección clínica	El reactivo de Thermo Scientific tuvo baja estabilidad, mientras que el de Roche fue estable. Implementación del inmunoensayo HS-Roche aumentó en 30 veces la confirmación de lorazepam, evidenciando impacto clínico significativo en diagnóstico.	Impacto clínico positivo; mejora en diagnóstico toxicológico.	Estabilidad variable de reactivos; requiere control riguroso de calidad.
Masood & Veenstra	2020	EE.UU.	Desarrollo y validación método	Orina	LC-MS-sMRM	Desarrollar y validar método cuantitativo LC-MS/MS para 33 fármacos del panel del dolor y metabolitos en orina	Método con tiempo de corrida ~7 minutos, sin necesidad de purificación previa.	Robustez y sensibilidad para manejo clínico del dolor.	Complejidad en interpretación de metabolitos; necesidad de actualización constante.
Mohamed Yafout et al.	2023	No especificado	Revisión bibliográfica	Diferentes matrices biológicas (general)	Múltiples técnicas bioanalíticas (revisión)	Describir y evaluar métodos bioanalíticos para detección y cuantificación de benzodiazepinas en muestras biológicas, con énfasis en análisis toxicológico de emergencia	Las benzodiazepinas son fármacos ampliamente usados y frecuentemente involucrados en intoxicaciones agudas que llegan a urgencias.	Visión integral de técnicas; orienta selección según entorno hospitalario.	Variabilidad en disponibilidad y costos de técnicas; retos en estandarización.

La superficie geográfica de los 25 estudios analizados refuerza que el país más representado es Italia, con 4 trabajos y, por lo tanto, un 16% del total. En segundo lugar, se encuentran Dinamarca y China, que aportan a la colaboración un número equivalente de trabajos (3 cada uno) y un porcentaje del 12%. Estados Unidos, teniendo en cuenta que se repite bajo la estandarización de distintas formas (EE. UU., EE. UU., Estados Unidos), encuentra un número de 5 estudios de los que se deriva una proporción del 20%, siendo el país con más estudios, una vez contabilizados los que se repiten. Colombia (2) y Japón (2) arrojan el mismo resultado (un 8% para cada país); España, Francia, Polonia, Reino Unido y Suecia sólo aportan una investigación cada uno, por lo que cada uno solo tiene un 4%. Finalmente, hay un estudio en el que no se detalla el país: este último genera también un 4% (Figura 2).

Figura2.
Frecuencia por país



Nota. Elaboración propia

El análisis del número de publicaciones por año indica que 2023 fue el período de mayor actividad investigadora, concentrando trece artículos procedentes de múltiples países y evidenciando un incremento sustancial del interés global en la detección y análisis de benzodiazepinas y otros fármacos; este comportamiento destaca especialmente la participación de China, que aportó tres estudios en dicho año, así como la de Italia, cuyos artículos —cuatro en total— se distribuyen entre 2023, 2024 y 2025, lo que sugiere no solo una contribución cuantitativamente significativa, sino también una continuidad investigativa que resulta consistente con la tradición analítica y toxicológica consolidada en dicho país.

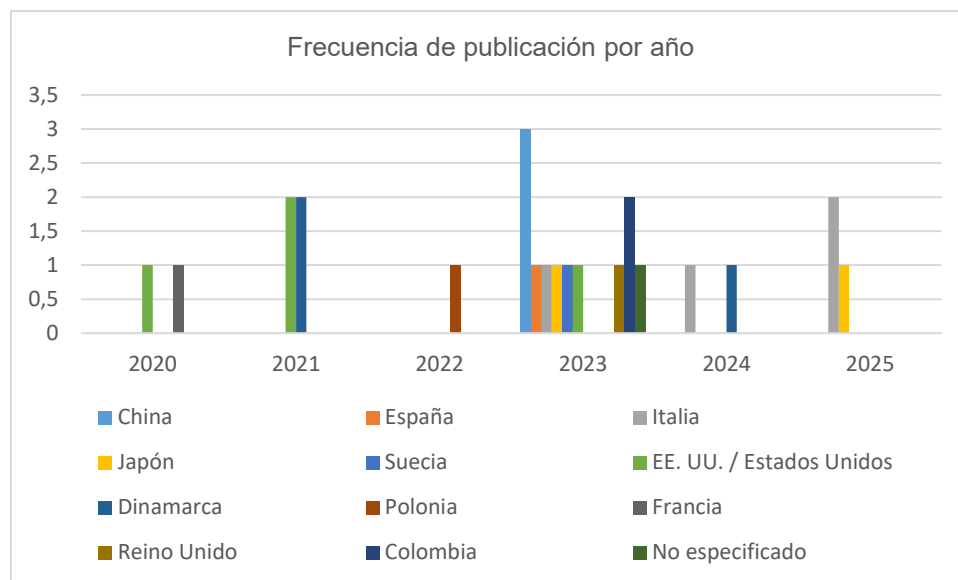
Italia, de hecho, se posiciona como el país con mayor volumen de publicaciones en todo el periodo evaluado, seguida por Estados Unidos, que registra artículos en 2020, 2021 y 2023; este patrón, caracterizado por años no consecutivos, podría interpretarse como un indicador de producción menos concentrada pero más estable, reflejando líneas de investigación que, aunque no generan un gran volumen anual, se mantienen activas y orientadas a la innovación metodológica; de manera similar, Dinamarca y Japón presentan dos artículos cada uno, distribuidos en años distintos, lo que revela una continuidad moderada pero sostenida que sugiere la existencia de grupos especializados con agendas de investigación estructuradas en ciclos prolongados.

Por otra parte, países como España, Suecia, Polonia, Francia, Reino Unido y Colombia muestran una participación más puntual, limitándose a uno o dos artículos publicados en un único año, lo cual parece vincularse más a estudios aislados, iniciativas específicas o colaboraciones ocasionales que a programas extensos de investigación

sistemática; esta distribución dispersa podría explicarse por la naturaleza ocasional de ciertos proyectos, por la disponibilidad de financiación o por la presencia de equipos pequeños cuya producción es necesariamente más esporádica; además, la identificación de un artículo sin país especificado evidencia la necesidad de fortalecer los procesos de registro, indexación y trazabilidad en determinadas bases de datos científicas, ya que estas carencias pueden afectar la correcta interpretación de los patrones globales de producción científica y dificultar los metaanálisis o revisiones sistemáticas que dependen de la integridad de esta información (Figura 3).

Figura3.

Frecuencia de publicación por año



Nota. Elaboración propia

Con el fin de analizar y evaluar un conjunto de técnicas bioanalíticas aplicadas a la detección y cuantificación de benzodiazepinas y otros fármacos en los ámbitos forense y clínico, fue necesario examinar no solo su rendimiento instrumental, sino también sus limitaciones operativas, sus requerimientos metodológicos y los contextos en los que demuestran mayor fiabilidad; en este sentido, la revisión de los estudios publicados permitió identificar las fortalezas y debilidades de cada técnica, así como las variaciones en sensibilidad, especificidad y capacidad de detección según la matriz biológica empleada, lo que posibilita una comprensión crítica y actualizada de la aplicabilidad práctica de los métodos y facilita la selección adecuada de estrategias analíticas ajustadas a las exigencias del análisis toxicológico, especialmente en escenarios donde la rapidez, la robustez o la precisión interpretativa son determinantes.

A partir de este análisis se constató que la matriz biológica utilizada influye de manera directa y sustancial en el rendimiento de las técnicas instrumentales y en la magnitud de las modificaciones que estas requieren para garantizar resultados fiables; así, la sangre —empleada sola o en combinación— estuvo presente en aproximadamente el 10% de los estudios, consolidándose como matriz principal debido a su capacidad para reflejar concentraciones reales y dinámicas de los fármacos en situaciones de intoxicación aguda y por su trayectoria de validación en protocolos estandarizados, aunque presenta limitaciones relevantes asociadas a su corta ventana de detección, a la posibilidad de interferencias químicas y a las dificultades inherentes a su interpretación en entornos postmortem.

La orina, identificada en nueve estudios, constituyó la matriz más utilizada gracias a su facilidad de obtención, a su mayor ventana temporal para la detección de metabolitos y a su utilidad en la caracterización de consumos prolongados o en el seguimiento clínico, aunque su interpretación en episodios de intoxicación aguda resulta

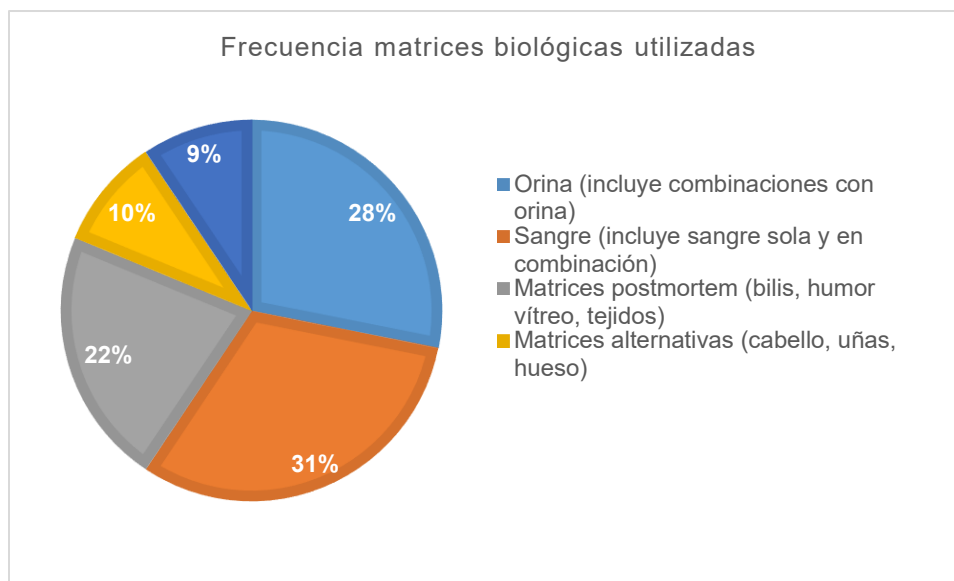
menos fiable debido a la falta de correlación directa entre concentración urinaria y efecto tóxico; por otra parte, las matrices postmortem —bilis, humor vítreo, tejidos blandos— aparecieron en siete estudios y son esenciales en reconstrucciones toxicológicas complejas, aunque su uso está condicionado por fenómenos de redistribución postmortem, procesos degradativos y variaciones bioquímicas que pueden generar imprecisiones si no se integran con la información del caso y con matrices complementarias.

Asimismo, algunas matrices alternativas —cabello, uñas y hueso— fueron identificadas en tres estudios y aportan una perspectiva cronológica valiosa, ya que permiten evaluar exposiciones a largo plazo, reconstruir patrones de consumo, estimar adherencia terapéutica o estudiar metabolitos de difícil detección en fluidos convencionales, aunque su empleo implica afrontar desafíos como la posible contaminación externa, las variaciones en la incorporación de analitos, la diversidad estructural de los tejidos queratínicos y la necesidad de protocolos de lavado y preparación altamente estandarizados; del mismo modo, se identificaron tres estudios de enfoque clínico general o bibliográfico, así como otros con múltiples matrices, que permitieron integrar comparaciones metodológicas y complementar la interpretación de los resultados.

En definitiva, el análisis demuestra que la elección de la matriz biológica y del método bioanalítico está profundamente condicionada por el contexto analítico y por la naturaleza del objetivo toxicológico, lo cual exige considerar simultáneamente los puntos fuertes de la combinación seleccionada y los problemas potenciales que puedan surgir durante el procesamiento y la interpretación, de modo que los resultados obtenidos sean clínicamente útiles, comparables con datos de referencia y adecuados para sustentar conclusiones sólidas en entornos clínicos, forenses y laboratoriales.

Figura4.

Matrices biológicas utilizadas



Nota. Elaboración propia

La evaluación de las distintas técnicas utilizadas en el análisis de matrices biológicas para fines forenses ha evidenciado la necesidad de considerar no solo el rendimiento analítico alcanzado, sino también sus limitaciones, su aplicabilidad contextual y el grado de estandarización existente, de modo que la selección de la matriz no se limite a un criterio operativo, sino que responda a un marco interpretativo robusto; en este sentido, la variabilidad entre sangre, orina, tejidos postmortem y matrices alternativas como cabello o hueso refleja la complejidad intrínseca del trabajo forense, así como la necesidad de adoptar metodologías adaptativas que integren el comportamiento farmacocinético de los analitos, los procesos postmortem y las restricciones técnicas del laboratorio.

Las diferentes matrices ofrecen ventajas específicas para optimizar la detección cuantitativa de los analitos de interés; sin embargo, también introducen desafíos que influyen de manera directa en la correcta interpretación de

los resultados, lo cual obliga a un análisis crítico y contextualizado; la sangre y la orina, por ejemplo, constituyen matrices de referencia debido a su elevada sensibilidad y a su precisión adecuada para aplicaciones clínicas y toxicológicas rutinarias, aunque presentan limitaciones importantes como ventanas de detección breves, susceptibilidad a la degradación química o interferencias derivadas de procesos postmortem; en contraste, matrices postmortem como la bilis, el humor vítreo o los tejidos blandos permiten ampliar significativamente la ventana de detección y resultan esenciales cuando la sangre se encuentra ausente, degradada o contaminada, aunque su interpretación requiere experiencia especializada debido a que los fenómenos de redistribución postmortem, la autólisis y las variaciones en el pH pueden distorsionar la concentración real de los compuestos analizados.

Las matrices alternativas —cabello, uñas, hueso— aportan un enfoque retrospectivo que posibilita reconstruir exposiciones crónicas o de larga data, lo que resulta especialmente útil en casos donde se debe determinar consumo habitual, adherencia terapéutica o exposición prolongada a sustancias ilícitas; sin embargo, su uso también implica afrontar dificultades técnicas relacionadas con la posible contaminación externa, la variabilidad biológica intra e interindividual, la necesidad de protocolos de lavado estandarizados y la heterogeneidad en la tasa de incorporación de los analitos, factores que pueden sesgar la interpretación si no se analizan de manera conjunta con la historia del caso y los hallazgos complementarios; adicionalmente, los análisis clínicos de rutina y la literatura especializada permiten delinear patrones de elección metodológica y tendencias analíticas, aunque es evidente que muchas pruebas requieren equipamiento avanzado, metodologías de alta resolución y personal altamente capacitado, lo que condiciona su implementación en determinados entornos forenses.

La siguiente tabla sintetiza los resultados y conclusiones más relevantes de los trabajos revisados, integrando las fortalezas, limitaciones y características distintivas de cada matriz biológica y de las técnicas analíticas asociadas, lo cual permite comprender de manera integrada las capacidades, desafíos y perspectivas actuales del análisis forense, especialmente en un contexto donde la precisión interpretativa y la adaptabilidad metodológica resultan determinantes para garantizar conclusiones sólidas y reproducibles.

Tabla3.

Resumen fortalezas debilidades y limitaciones

Categoría	Fortalezas principales	Limitaciones principales
Orina (incluye combinaciones)	Fácil recolección, amplia ventana de detección, permite monitorear diferentes fases de exposición, sensibilidad clínica para seguimiento, rapidez en pruebas clínicas	Interpretación limitada en intoxicación aguda, complejidad en análisis, requiere equipamiento sofisticado, interferencias, falsos negativos en cribado
Sangre (sola y combinaciones)	Alta sensibilidad y precisión, validada en múltiples estudios, resultados reproducibles, cobertura amplia, fácil implementación, alta precisión y confiabilidad	Ventana de detección corta, interferencias por degradación postmortem, limitaciones en extrapolación clínica, mayor complejidad analítica y costos
Matrices postmortem	Ampliación de ventana de detección postmortem, alternativa válida cuando no hay sangre, alta sensibilidad	Riesgo de interpretaciones erróneas por reacciones químicas postmortem, degradación, necesidad de validación continua
Matrices alternativas	Permite evaluación de consumo a largo plazo, análisis en exposiciones a largo plazo, permite evaluar interferencias en condiciones simuladas	Contaminación, variabilidad en crecimiento, complejidad en interpretación, resultados no siempre representativos
Clínico general / bibliográfico / múltiples	Alta eficiencia y reducción de tiempos, adaptable a rutina clínica, visión integral de técnicas, síntesis de múltiples estudios	Requiere equipamiento avanzado y personal especializado, variabilidad en disponibilidad y costos, no aporta datos empíricos directos

Nota. Elaboración propia

4. DISCUSIÓN

El examen de las técnicas de bioanálisis utilizadas para identificar y cuantificar benzodiazepinas y otros fármacos en matrices biológicas revela un panorama metodológico amplio, dinámico y altamente dependiente del contexto analítico; en efecto, la literatura demuestra de manera consistente que la elección de la matriz biológica es un factor determinante para el adecuado funcionamiento de los métodos instrumentales, pues influye directamente en la sensibilidad, la especificidad y la ventana de detección, elementos que, en conjunto, condicionan la interpretación clínica y forense; así, se confirma la postura ampliamente aceptada en la toxicología analítica según la cual el método bioanalítico debe adaptarse al tipo de muestra, al propósito de la prueba y al entorno operativo, desde situaciones urgentes de cribado rápido hasta análisis retrospectivos complejos propios de escenarios judiciales o de investigación especializada.

Los estudios revisados señalan que la sangre total continúa siendo la matriz de referencia para la correlación clínico-toxicológica, ya que refleja de manera fiable los niveles circulantes del fármaco en el momento de la toma de muestra; en este sentido, las técnicas basadas en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y en sus variantes de alta resolución, como LC-HRMS u Orbitrap, han mostrado una notable eficacia para la detección simultánea de múltiples compuestos, incluyendo benzodiazepinas y opioides sintéticos, proporcionando alta sensibilidad, especificidad y capacidad de análisis multicomponente a partir de volúmenes reducidos; adicionalmente, el método paralelo PRM descrito por Joye et al. (2020) destaca por su utilidad en casos periciales donde se requiere contemplar variantes estructurales con rapidez y precisión, lo que reafirma la relevancia de estas tecnologías tanto para el ámbito clínico como para el forense; no obstante, la necesidad de equipamiento altamente especializado, junto con la demanda de personal capacitado y condiciones de laboratorio estrictas, limita su implementación en escenarios con recursos restringidos, lo que evidencia una brecha técnico-operativa que afecta la equidad en el acceso a análisis avanzados.

Por otra parte, la orina continúa ocupando un lugar privilegiado como matriz ampliamente utilizada debido a su facilidad de recolección, su bajo costo y su ventana de detección prolongada, características que facilitan la identificación de exposición a fármacos mediante la concentración de metabolitos; así lo evidencian los trabajos de Masood y Veenstra (2020), quienes desarrollaron métodos LC-MS/MS en modo sMRM optimizados para paneles de analgésicos y benzodiazepinas; sin embargo, su utilidad en el ámbito postmortem se encuentra limitada, pues los metabolitos pueden sufrir degradación y redistribución post mortem, afectando la fiabilidad del análisis, tal como se observa en los resultados de Franzin et al. (2024); pese a ello, la combinación de un cribado inmunoquímico rápido con posterior confirmación mediante LC-MS/MS, como propone Helander & Villén (2021), constituye un enfoque equilibrado y eficiente, ya que integra rapidez diagnóstica, alta especificidad y capacidad confirmatoria, configurando así un esquema robusto para entornos clínicos, laborales y forenses.

En relación con matrices alternativas, el cabello y otros sustratos no convencionales —como bilis, humor vítreo, uñas o tejido óseo— añaden un valor analítico considerable en situaciones donde la sangre u orina no están disponibles o no permiten obtener información fiable; el cabello, en particular, presenta la ventaja de registrar la exposición crónica a benzodiazepinas, lo que resulta útil en investigaciones forenses, aunque su interpretación puede verse afectada por la contaminación externa y por factores ambientales o cosméticos, tal como destacan Wiart et al. (2020); la bilis y el humor vítreo comparten una notable estabilidad post mortem y permiten detectar exposiciones recientes o acumuladas, como lo demuestran Franzin et al. (2024) y Wachelko et al. (2022), siendo matrices de especial valor en casos de muerte súbita, descomposición avanzada o ausencia de sangre utilizable; por consiguiente, la diversificación de matrices contribuye a ampliar la capacidad diagnóstica y a solucionar limitaciones inherentes al estado de conservación del cuerpo o al tiempo transcurrido tras el fallecimiento.

Asimismo, las muestras secas, especialmente los *Dried Blood Spots* (DBS), han surgido como una innovación relevante en el campo de la toxicología forense y clínica, ya que facilitan la logística de transporte y almacenamiento, reduciendo costos y mejorando la accesibilidad en regiones remotas o con escasas infraestructuras; sin embargo, presentan limitaciones analíticas dependientes del tipo de tarjeta, la distribución del volumen aplicado y el solvente utilizado, generando variaciones en la concentración detectada, como reportan Moretti et al. (2021); aun así, los avances recientes en correcciones volumétricas y estandarización metodológica posicionan al DBS como una alternativa prometedora en programas de monitoreo y en escenarios donde las muestras líquidas no pueden conservarse adecuadamente.

En conjunto, la revisión evidencia que no existe una matriz ni una técnica universalmente superior para todas las situaciones; más bien, la práctica forense exige la combinación estratégica de métodos instrumentales y la selección razonada de matrices, teniendo en cuenta variables como el contexto del caso, el tiempo transcurrido desde la ingesta, la estabilidad del analito, la disponibilidad de recursos y los objetivos operativos, lo que implica evaluar constantemente el balance entre sensibilidad, especificidad, costo, tiempo de respuesta y aplicabilidad legal; en consecuencia, el uso articulado de técnicas modernas como LC-MS/MS, LC-HRMS y métodos alternativos constituye un avance significativo en la detección de benzodiazepinas y otros fármacos, aunque aún persisten desafíos vinculados a la estandarización internacional, la disponibilidad tecnológica, la capacitación del personal y el tratamiento adecuado de las muestras, aspectos que dificultan la plena implementación de los avances instrumentales en todos los sistemas forenses.

Finalmente, la imposibilidad de realizar comparaciones críticas homogéneas entre los estudios analizados —debido a diferencias metodológicas, variabilidad en la validación, diversidad de matrices y falta de estandarización entre laboratorios— se presenta como una oportunidad de mejora para la investigación futura; en este sentido, resulta prioritario promover estudios comparativos multicéntricos, desarrollar protocolos más uniformes y fortalecer las capacidades técnicas y operativas de los laboratorios clínicos y forenses, con el fin de consolidar un marco analítico más sólido, reproducible y aplicable a diversos escenarios, reforzando así la perspectiva pragmática y actualizada sobre la utilidad real de las técnicas estudiadas en la resolución de casos clínicos y periciales.

5. CONCLUSIONES

La revisión comparativa, respecto a los procedimientos utilizados para la detección e identificación de benzodiazepinas en muestras biológicas, ha recibido el impulso fundamental para una valoración crítica de su rendimiento, de la adecuación a diferentes situaciones en el ámbito forense (pericial) y de sus limitaciones. En la revisión realizada se ha observado que la elección de la matriz biológica utilizada, de la plataforma instrumental no solo determina la sensibilidad del análisis, sino el propio valor de la interpretación de los resultados, de acuerdo con la situación pericial.

En ese sentido las técnicas de análisis acopladas de espectrometría de masas a cromatografía líquida (especialmente LC-MS/MS, junto a sus estrategias avanzadas como HRMS, Orbitrap), constituyen los caminos de análisis más adecuados y confiables en la identificación de benzodiazepinas. Estas técnicas han demostrado el potencial en el análisis de múltiples compuestos en volúmenes mínimos de muestras, lo que resulta un hallazgo fundamental en toxicología forense, en donde la cantidad de matriz biológica es escasa y, en ocasiones, el objetivo es la detección de trazas durante etapas avanzadas de la descomposición. No obstante, su alto rendimiento hay que equilibrarlo frente a un análisis más costoso, a mayores requisitos técnicos, a tiempos de análisis que pueden representar una barrera, para laboratorios científicos con recursos limitados.

Con respecto a las matrices biológicas estudiadas, se concluye que la sangre total permanecerá siendo el estándar para correlaciones clínico-toxicológicas en virtud de su propiedad para reflejar concentraciones activas en el momento de la muerte o en el momento de producirse los hechos sobre los que se investiga. En cambio, la orina sigue siendo básica en los ámbitos clínica, laboral y de screening inicial por su mayor ventana de detección y simplicidad de obtención. En el contexto de la muerte, hemos visto que matrices biológicas como bilis, humor vítreo, cabello, uñas u huesos cobran mayor protagonismo o, incluso, cuando las matrices biológicas tradicionales no están presentes, son matrices buenas para la detección y el análisis de benzodiazepinas.

A pesar de las limitaciones que éstas presentan en cuanto a estandarización e interpretación cuantitativa, son eficaces en la detección de benzodiazepinas incluso en momentos de avanzados estados de descomposición. Así, se hace importantísima la identificación de métodos como Dried Blood Spots (DBS) u otras muestras secas que, si bien poseen una menor capacidad cuantitativa que las muestras líquidas, contribuyen a la logística y bioseguridad. La polivalencia metodológica se pone en evidencia, además, en el uso de matrices combinadas en estudios concretos, como la de realizar análisis en paralelo sangre/humor vítreo/orina, contribuyendo así a la ventana de detección y a su interpretación forense.

Esta revisión comprueba la necesidad de plantear enfoques integrativos y multidisciplinarios que reúnan conocimientos analíticos, clínicos y forenses para la correcta interpretación de los resultados representados. La

elección de la técnica y de la matriz debe estar dirigida por el tipo de caso, por el tiempo transcurrido desde la exposición, por la disponibilidad de la muestra y por la naturaleza de la sustancia investigada para obtener análisis más precisos, que pueden ser útiles para la reconstrucción de hechos y válidos a efectos judiciales. En conclusión, la aplicabilidad de los métodos para la detección de benzodiazepinas en toxicología forense no puede ser evaluada de manera aislada, sino que debe plantearse dentro de un enfoque integrativo que considere tanto las potencialidades como las limitaciones de cada combinación técnica-matriz. La innovación metodológica y la capacitación de los laboratorios forenses serán, por lo tanto, determinantes para poder hacer frente a los retos que ya han hecho su aparición y que continuarán haciéndolo para la identificación de sustancias psicoactivas.

6. AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a quienes hicieron posible la realización de este trabajo. A Dios y mi familia, a mis profesores y asesores que durante la carrera me ayudaron a tener las herramientas necesarias para culminar una carrera. A la Universidad Santiago de Cali por los espacios de formación y recursos que fueron fundamentales.

7. DECLARACION DEL USO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Yo, Alexis Adelmo Chiran Chuquizan, declaro que no he utilizado herramientas de inteligencia artificial (IA) en la creación, redacción ni análisis del presente artículo. Todo el contenido fue desarrollado a partir de mi revisión crítica, interpretación personal de la información académica y trabajo autónomo.

8. CONFLICTO DE INTERESES

Declaro que no tengo ningún conflicto de intereses que haya influido en el desarrollo del presente trabajo de grado.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alejo, H; García, M. (2021). *Drogas emergentes en el Distrito Capital*. Hallazgos del Sistema de Alertas Tempranas - nodo Bogotá. Observatorio Intersectorial de Drogas del Distrito (OID). <https://revistas.saludcapital.gov.co/index.php/BED/article/view/111>
- Al-Khafaji, M., Podbicanin, S., Ghaghda, D., Basi, S., & Punekar, S. (2021). Simultaneous multifocal intracranial haemorrhage (ICH) and subarachnoid haemorrhage (SAH) in the setting of long-term cocaine usage. *BMJ Case Rep*, 14(6), e241311. <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-241311>
- Barone, R., Giorgetti, A., Cardella, R., Rossi, F., Garagnani, M., Pascali, J. P., Mohamed, S., Fais, P., & Pelletti, G. (2023). Development and validation of a fast UPLC-MS/MS screening method for the detection of 68 psychoactive drugs and metabolites in whole blood and application to post-mortem cases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 228, 115315. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115315>
- Beltrán, K; Perdomo, F. (2022). *Caso forense NARCOS 2019 relación entre Steve y John*. <https://repository.unipiloto.edu.co/handle/20.500.12277/12101>
- Bequis, M; Puerto, A; Muñoz, J; Ramírez, E; Castiblanco, S; Restrepo, H. (2023). *Ideación y conducta suicida en estudiantes de enfermería: revisión sistemática exploratoria*. <https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/view/1308>
- Calderón, O. (2024). *Las Nuevas Sustancias Psicoactivas -NSP- y el Laboratorio de Sustancias Controladas del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala*. <http://revistasguatemala.usac.edu.gt/index.php/df/article/view/1937>
- Cedeño, R; Macias, D; Moreira, J; Lino, W. (2023). *Sensibilidad y especificidad de pruebas toxicológicas para diagnóstico de sustancias psicoactivas*. <https://www.investigarmqr.com/ojs/index.php/mqr/article/view/587>
- Corzo, G; Viloria, J; Arrieta, M; Rodríguez, J. (2023). *Análisis toxicológico y mortalidad asociada al Carfentanilo*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9608800>
- Cui, H.-Y., Lü, C.-X., Shi, Y.-H., Yuan, N., Liang, J.-H., An, Q., Guo, Z.-Y., & Yun, K.-M. (2023). Detection of carbamazepine and its metabolites in blood samples by LC-MS/MS. *Fa Yi Xue Za Zhi*, 39(1), 34–39. <https://doi.org/10.12116/j.issn.1004-5619.2021.310901>
- De la Guardia, M. (2024). *Seguridad en la toxicología forense*. <https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A8%3A11364520/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&>

id=ebsco%3Agcd%3A178980551&crl=c&link_origin=scholar.google.es

- Díaz, R; Camacho, Z; Ambrosio, J; Valencia, L. (2019). *La proteómica como una nueva herramienta en las ciencias forenses*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377473218300531>
- Franzin, M., Ruoso, R., Peruch, M., Stocco, G., D'Errico, S., & Addobbati, R. (2024). Quantification of 108 illicit drugs and metabolites in bile matrix by LC-MS/MS for the toxicological testing of sudden death cases. *Archives of Toxicology*, 98(1), 135-149. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03631-z>
- Frost, J., Mikkelsen, T., Andersen, M. N., Bjerke, H. A., Gundersen, P. O. M., & Aamo, T. O. (2024). Detoxification after use of new psychoactive substances purchased online. *Tidsskr Nor Laegeforen*, 144(4). <https://doi.org/10.4045/tidsskr.23.0668>
- García, C; Martínez, M. (2025). *Muertes en prisión: hallazgos toxicológicos en los casos analizados en el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses (Madrid) en el período 2021–2023*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377473224000476>
- Garzón, W; Parada, F. (2023). *Desarrollo de una metodología para el perfilamiento de drogas de síntesis y nuevas sustancias psicoactivas detectadas en Colombia*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/84237>
- Gómez, L. (2024). *Prevalencia del consumo de sustancias de abuso durante el embarazo en mujeres atendidas en el parto en el Nuevo Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca"*. <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/213147>
- González, J. (2024). *Drogas emergentes: detección mediante sensores electroquímicos*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28042023000100025&script=sci_arttext
- Hansen, S. L., Nielsen, M. K. K., Linnet, K., & Rasmussen, B. S. (2021). Simple implementation of muscle tissue into routine workflow of blood analysis in forensic cases - A validated method for quantification of 29 drugs in postmortem blood and muscle samples by UHPLC-MS/MS. *Forensic Science International*, 325, 110901. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073821002218>
- Helander, A., & Villén, T. (2021). Drug use and drug trends in Sweden 2010-2020 - results from urine drug testing in the workplace. *Lakartidningen*, 118, 21056. "
- Hernández, C. (2022). *La caries rampante en cuatro condiciones para la identificación de personas*. <https://recif.unam.mx/index.php/revista/article/view/27>
- Hinostroza, P; Suaste, D; Hurtado, K. (2024). *Método neutrosófico para el control de perfiles de víctimas de violencia sexual con presencia de sustancias psicoactivas*. https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A16%3A30577904/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A181747244&crl=c&link_origin=scholar.google.es
- Hooshfar, S., Tchu, S., Yun, C., & Lynch, K. L. (2022). Development of a high-throughput differential mobility separation-tandem mass spectrometry (DMS-MS/MS) method for clinical urine drug testing. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Laboratory*, 23, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.jmsacl.2021.12.008>
- Joye, T., Rocher, K., Déglon, J., Sidibé, J., Favrat, B., Augsburger, M., & Thomas, A. (2020). Driving Under the Influence of Drugs: A Single Parallel Monitoring-Based Quantification Approach on Whole Blood. *Frontiers in Chemistry*, 8, 626. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00626>
- Kjær, T. L., Hindersson, P., Bentzen, J. R., Rasmussen, H. H., & Breindahl, T. (2025). Drug use during incarceration: A comprehensive quality and prevalence study in three Danish prisons. *Substance Use & Misuse*, 60(2), 155-167. <https://doi.org/10.1080/10826084.2024.2421813>
- López, A. (2021). *Evaluación de la exposición prenatal a tabaco, psicofármacos y nuevas sustancias psicoactivas (NPS) mediante el análisis de meconio*. <https://minerva.usc.es/entities/publication/037ddf5a-e051-482f-92f5-d29fc4603b2a>
- Lozano, G; Perdomo, N. (2022). *Escenario de investigación forense "Narcos 2019"*. <https://repository.unipiloto.edu.co/handle/20.500.12277/11512>
- Lund, K., Menlyadiev, M., Lee, K., Kelner, M. J., Fitzgerald, R. L., & Suhandynata, R. T. (2023). Comparison of two highly sensitive benzodiazepine immunoassay lab developed tests for urine drug testing in clinical specimens. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Laboratory*, 28, 91-98. <https://doi.org/10.1016/j.jmsacl.2023.02.010>
- Martínez, J. (2022). Guía de almacenaje temporal de indicios biológicos en el laboratorio forense. <https://revmedforense.uv.mx/index.php/RevINMEFO/article/view/3000>
- Masood, M. A., & Veenstra, T. D. (2020). LC-MS-SMRM method development and validation of different classes of

- pain panel drugs and analysis of clinical urine samples. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 127(6), 533-550. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13519>
- Matey, J. (2024). Prospectives in the forensic investigation of new psychoactive substances. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/dctes?codigo=327391>
- Morales, C; Ramírez, A; Valencia, E. (2021). *Deterioro progresivo de las Funciones Ejecutivas en sujetos consumidores de Nuevas Sustancias Psicoactivas*. <https://repository.uniminuto.edu/server/api/core/bitstreams/6ea0ecb6-dc33-43a0-9fd9-21a13faf6ed9/content>
- Moretti, M., Manfredi, A., Freni, F., Previderé, C., Osculati, A. M. M., Grignani, P., Tronconi, L., Carelli, C., Vignali, C., & Morini, L. (2021). A comparison between two different dried blood substrates in determination of psychoactive substances in postmortem samples. *Forensic Toxicology*, 39(2), 385-393. <https://doi.org/10.1007/s11419-020-00567-2>
- Navarro, E; Vega, C; Bañon, R; Díez, N. (2023). *Presencia de sustancias psicoactivas en las víctimas de violencia sexual en la provincia de Alicante (España) durante los años 2016-2020*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377473222000372>
- Nitta, A., Shima, N., Kamata, H., Wada, M., Matsumoto, K., Kakehashi, H., Nakano-Fujii, S., Matsuta, S., Kamata, T., Katagi, M., Sato, T., & Nishioka, H. (2025). Incorporation of suvorexant and lemborexant into hair and their distributions after a single intake. *Forensic Toxicology*, 43(1), 97–107. <https://doi.org/10.1007/s11419-024-00700-5>
- Nozawa, H., Minakata, K., Hasegawa, K., Yamagishi, I., Miyoshi, N., Suzuki, M., Kitamoto, T., Kondo, M., Watanabe, K., & Suzuki, O. (2023). Quantification of olanzapine and its three metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in human body fluids obtained from four deceased, and confirmation of the reduction from olanzapine N-oxide to olanzapine in whole blood in vitro. *Forensic Toxicology*, 41(2), 318-328. <https://doi.org/10.1007/s11419-023-00662-0>
- Núñez, M. (2022). *Identificación de 3, 4-Metilendioximetanfetamina (MDMA) por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS)*. https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/27318_21.
- Orozco, Y. (2022). *Factores que Inciden en el Consumo de Sustancias Psicoactivas en los Jóvenes que Laboran en el Centro de Abastecimiento de Santander de Quilichao*. <https://fupvirtual.edu.co/repositorio/files/original/73fbf435ba97b3f3d3f5621909b1b7d31f657e4d.pdf>
- Pérez Orts, M., van Asten, A., & Kohler, I. (2023). The evolution toward designer benzodiazepines in drug-facilitated sexual assault cases. *Journal of Analytical Toxicology*, 47(1), 1–25. <https://doi.org/10.1093/jat/bkac017>
- Pinzón, M. (2019). *Prevalencia de hurto y delito sexual asociado a sustancias depresoras, en Bogotá D.C. 2014-2015* –Datos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76576>
- Quijano, A; Castillo, L; Bravo, M. (2022). *Nuevas sustancias psicoactivas: un reto para la química y la toxicología forense*. <https://recif.unam.mx/index.php/revista/article/view/4>
- Rangel, M. (2025). *Virtopsia y espectrometría de masa como auxiliar en la medicina forense*. <https://revistas.umecit.edu.pa/index.php/saluta/article/view/1647>
- Rodríguez, I; Fonseca, G; Aramburú, G. (2020). *Estrés Académico en Alumnos Ingresantes a la Carrera de Odontología en la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2020000400639&script=sci_arttext&tlng=pt
- Romero, D; Tovar, L; Oyola, P. (2019). *Influencia de la inteligencia artificial en la computación forense*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7383552>
- Rossi, B., Freni, F., Vignali, C., Stramesi, C., Collo, G., Carelli, C., Moretti, M., Galatone, D., & Morini, L. (2021). Comparison of Two Immunoassay Screening Methods and a LC-MS/MS in Detecting Traditional and Designer Benzodiazepines in Urine. *Molecules*, 27(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules27010112>
- Rygaard, K., Linnet, K., & Johansen, S. S. (2021). A systematic review of metabolite-to-drug ratios of pharmaceuticals in hair for forensic investigations. *Metabolites*, 11(10), 686. <https://doi.org/10.3390/metabo11100686>
- Sacco, M. A., Gualtieri, S., Spiliopoulou, C., Tarallo, A. P., Verrina, M. C., & Aquila, I. (2025). The role of toxicology investigations in overdose deaths. *Cureus*, 17(2), e79352. <https://doi.org/10.7759/cureus.79352>
- Silva, G; Cabrera, J; Domínguez, M. (2022). *La Bioinformática en las Ciencias Forenses*. <https://recif.unam.mx/index.php/revista/article/view/80>

- Soria, M. (2023). *Avances en toxicología forense y su papel en el proceso forense (I)*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037747322200030X>
- Wachelko, O., Szpot, P., Tusiewicz, K., Nowak, K., Chłopaś-Konowalek, A., & Zawadzki, M. (2022). An ultra-sensitive UHPLC-QqQ-MS/MS method for determination of 54 benzodiazepines (pharmaceutical drugs, NPS and metabolites) and z-drugs in biological samples. *Talanta*, 251, 123816. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123816>
- Walton, S. E., Krotulski, A. J., & Logan, B. K. (2022). A forward-thinking approach to addressing the new synthetic opioid 2-benzylbenzimidazole nitazene analogs by liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry (LC-QQQ-MS). *Journal of Analytical Toxicology*, 46(3), 221-231. <https://doi.org/10.1093/jat/bkab117>
- Wang, L., Ren, X., He, Y., Cui, G., Liu, J., Jia, J., Cao, J., Liu, Y., Cong, B., Wei, Z., & Yun, K. (2022). Pharmacokinetics of diazepam and its metabolites in urine of Chinese participants. *Drugs in R&D*, 22(1), 43–50. <https://doi.org/10.1007/s40268-021-00375-y>
- Wiat, J.-F., Hakim, F., Andry, A., Eiden, C., Drevin, G., Lelièvre, B., Rougé-Maillart, C., Decourcelle, M., Lemaire-Hurtel, A.-S., Allorge, D., & Gaulier, J.-M. (2020). Pitfalls of toxicological investigations in hair, bones, and nails in extensively decomposed bodies: illustration with two cases. *International Journal of Legal Medicine*, 134(4), 1339-1341. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02267-3>
- Wu, D., & Fu, L. (2023). Recent findings and advancements in the detection of designer benzodiazepines: a brief review. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. <https://doi.org/10.2478/aiht-2023-74-3771>
- Yafout, M., Aït Mouss, R., Bouchafra, H., Zarayby, L., & Sbai El-Otmani, I. (2023). Overview of the bioanalytical methods used for the determination of benzodiazepines in biological samples and their suitability for emergency toxicological analysis. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 123, 107294. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2023.107294>
- Yaguargos, A. (2024). *Optimización de la respuesta en emergencias: integración estratégica de la toxicología forense en los protocolos de laboratorio clínico*. <https://repositorio.uta.edu.ec/items/6e257aba-935d-43d7-9de2-6880a7149e9e>