

Métodos instrumentales para la determinación de benzodiacepinas en muestra de orina: revisión sistemática de literatura

Instrumental methods for the determination of benzodiazepines in urine samples: a systematic review of the literature

Mónica Pilar Pala Tuapanta*
Universidad Nacional de Chimborazo
Riobamba - Ecuador
mppala.fslc@unach.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0006-7297-0171>

Wilson Edwin Moncayo Molina
Universidad Nacional de Chimborazo
Riobamba - Ecuador
wmoncayo@unach.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-2584-1861>

*Correspondencia:
mppala.fslc@unach.edu.ec

Cómo citar este artículo:
Pala, M., & Moncayo, W. (2026). Métodos instrumentales para la determinación de benzodiacepinas en muestra de orina: revisión sistemática de literatura. *Esprint Investigación*, 5(1), 157-180.
<https://doi.org/10.61347/ei.v5i1.241>

Recibido: 12 de diciembre de 2025
Aceptado: 15 de enero de 2026
Publicado: 22 de enero de 2026

Copyright: Derechos de autor 2026 Mónica Pilar Pala Tuapanta, Wilson Edwin Moncayo Molina.



Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0.

Resumen: La detección de benzodiacepinas en orina constituye un desafío analítico que exige métodos instrumentales robustos y estandarizados debido a su diversidad estructural, a la presencia de metabolitos conjugados y a las interferencias inherentes a la matriz urinaria. El objetivo de esta revisión sistemática fue analizar los métodos instrumentales para la detección de esta sustancia en muestras de orina, identificando su desempeño analítico y los factores que influyen en su selección. En cuanto a la metodología, se realizó una revisión sistemática de la literatura que siguió el protocolo PRISMA; además, se aplicaron criterios PICOS para estructurar claramente las preguntas de investigación. Se analizaron 484 estudios previos publicados entre 2020 y 2025, de las bases de datos científicas Scopus y Web of Science, se incluyeron trabajos científicos de revistas en cuartiles Q1 y Q2, se aplicaron herramientas de revisión de riesgo AMSTAR-2, SANRA, AXIS Y ROBINS-I. Posteriormente, se incluyeron 43 estudios primarios cuyos resultados mostraron que la elección del método depende de los recursos disponibles, la capacitación del personal y el contexto de uso, priorizándose la rapidez en los entornos clínicos, así como la sensibilidad y selectividad en toxicología forense. En conclusión, la LC-MS/MS se considera el método ideal para la detección precisa de benzodiacepinas, mientras que los inmunoensayos se limitan a su uso en cribado inicial debido a su limitada sensibilidad.

Palabras clave: Análisis forense, benzodiacepinas, cromatografía líquida, espectrometría de masas, hidrólisis enzimática, inmunoensayos, orina, revisión sistemática, toxicología clínica.

Abstract: The detection of benzodiazepines in urine represents an analytical challenge that requires robust and standardized instrumental methods due to their structural diversity, the presence of conjugated metabolites, and the interferences inherent to the urine matrix. The objective of this systematic review was to analyze instrumental methods for the detection of this substance in urine samples, identifying their analytical performance and the factors influencing their selection. The methodology involved a systematic review of the literature following the PRISMA protocol and applying PICOS criteria to clearly structure the research questions. A total of 484 previous studies published between 2020 and 2025 from the scientific databases Scopus and Web of Science were analyzed, including scientific papers from journals in the Q1 and Q2 quartiles. Risk review tools AMSTAR-2, SANRA, AXIS, and ROBINS-I were applied. After the selection process, 43 primary studies were included, and their results show that the choice of method depends on available resources, personnel training, and the context of use, prioritizing speed in clinical settings and sensitivity and selectivity in forensic toxicology. In conclusion, LC-MS/MS is considered the ideal method for the accurate detection of benzodiazepines, while immunoassays are limited to their use in initial screening due to their limited sensitivity.

Keywords: Benzodiazepines, clinical toxicology, enzyme hydrolysis, forensic analysis, immunoassays, liquid chromatography, mass spectrometry, systematic review, urine.

1. Introducción

La detección de benzodiazepinas en muestras de orina sigue siendo un desafío analítico debido a la amplia diversidad de compuestos disponibles, la similitud estructural entre sus metabolitos, las bajas concentraciones en las que se excretan y las interferencias propias de la matriz urinaria. Estos factores afectan la confiabilidad de los resultados tanto en entornos clínicos como forenses, donde se requiere alta sensibilidad, precisión y métodos estandarizados. La ausencia de protocolos uniformes y las limitaciones de algunos procedimientos tradicionales resaltan la necesidad de optimizar las técnicas instrumentales para asegurar mediciones precisas y reproducibles (Clivillé-Cabré et al., 2024).

Estos son fármacos psicotrópicos utilizados comúnmente para el tratamiento de problemas de salud mental, como la ansiedad, trastorno del sueño, depresión y dolor crónico (Brandt et al., 2024; Lape et al., 2022), actúan sobre el sistema nervioso central como moduladores del receptor $GABA_A$ ($GABA_{RS}$) para regular la señalización sináptica inhibitoria, produciendo efectos sedantes, hipnóticos, ansiolíticos y anticonvulsivos (Goldschen-Ohm, 2022). Dada su liposolubilidad, tienen un alto volumen de distribución en el cuerpo, que se traduce en concentraciones tisulares más altas que en la sangre. Después de su efecto, se metabolizan principalmente en el hígado y se excretan por conjugación (Edinoff et al., 2021).

En el ámbito clínico, toxicológico y forense, la identificación precisa de estas sustancias es determinante para evaluar intoxicaciones, monitorear tratamientos, documentar interacciones farmacológicas y prevenir sobredosis. Asimismo, su detección es relevante en investigaciones legales, muertes sospechosas o delitos que involucran administración no consentida de sustancias. La posibilidad de cuantificarlas en matrices biológicas como sangre, saliva u orina permite establecer relaciones entre exposición y eventos adversos, aportando evidencia relevante en procesos periciales (Qriouet et al., 2019).

La mayoría de estos fármacos se absorben completamente tras la administración oral y alcanzan sus concentraciones séricas máximas entre 30 minutos y 2 horas. El inicio de acción es casi inmediato con la administración intravenosa de alta potencia, como el midazolam y el diazepam (Dubovsky & Marshall, 2022). El metabolismo de las mismas también varía, la mayoría se oxidan por el citocromo P450 (CYP) 3A4 y 2C19, con frecuencia a metabolitos activos. Estos metabolitos luego pueden hidroxilarse a otro metabolito activo. Por ejemplo, el diazepam, el clordiazepóxido y el clorazepato se oxidan a desmetildiazepam, que tiene una vida media de eliminación de 120 horas que, a su vez, se hidroxila a oxazepam (Aly et al., 2024; Dubovsky & Marshall, 2022; Dujardin et al., 2020).

En este contexto, el análisis de orina adquiere un papel crucial para diferenciar entre el uso médico legítimo, la desviación terapéutica y el uso no supervisado, facilitando la evaluación de adherencia al tratamiento y la identificación de patrones de consumo inadecuados (Glover & Allen, 2009). La orina, por su facilidad de obtención, su carácter no invasivo y su elevada concentración de metabolitos durante periodos prolongados, se ha convertido en una matriz fundamental en toxicología clínica, monitoreo terapéutico y análisis pericial. Estas características permiten obtener resultados rápidos y confiables, aspectos clave para la toma de decisiones en distintos escenarios (Jain et al., 2024b).

Los métodos instrumentales para su determinación han evolucionado notablemente. Tradicionalmente, se empleaban técnicas como inmunoensayos (ELISA, FPIA) o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (Qriouet et al., 2019), pero en los últimos años han ganado terreno métodos más avanzados como la cromatografía líquida tandem con espectrometría de masas (LC-MS/MS) y otras variantes de espectrometría, debido a su mayor sensibilidad, especificidad y capacidad para cuantificar múltiples compuestos simultáneamente (Gqamana & Zhang, 2024; Rossi et al., 2022).

Un aspecto clave en la selección del método instrumental más adecuado es el metabolismo de estos fármacos, pues una gran parte se excreta en forma de conjugados glucurónidos. Por ejemplo, el lorazepam glucurónido representa alrededor del 75% del total excretado, mientras que temazepam y oxazepam alcanzan el 73% y 61%, respectivamente. En consecuencia, la hidrólisis con β -glucuronidasa es indispensable para liberar los metabolitos y mejorar la sensibilidad del análisis (Rossi et al., 2021).

Estas particularidades metabólicas influyen en el rendimiento de los distintos métodos analíticos. En inmunoensayos como EMIT o ARKTM HS Benzodiazepine II, los conjugados pueden afectar la sensibilidad, por lo cual es necesario validar su capacidad de detección tras la hidrólisis (Matsuo et al., 2024). En técnicas cromatográficas como LC-MS/MS, la liberación enzimática y la optimización del volumen de muestra, permiten obtener límites de detección más bajos y mayor especificidad. Por ello, los métodos instrumentales deben incorporar procesos de hidrólisis eficientes y garantizar suficiente selectividad, para distinguir entre formas libres y conjugadas, especialmente en contextos clínicos y forenses (Rossi et al., 2021).

La preparación de la muestra es igual de determinante, debido a que la matriz urinaria contiene componentes que pueden interferir en la detección. Técnicas como la extracción de líquido-líquido (LLE), la extracción en fase sólida (SPE), QuEChERS o la microextracción en fase sólida (SPME) permiten concentrar los analitos, eliminar interferentes, aumentar la recuperación y reducir la variabilidad asociada a la matriz (Westland & Dorman, 2013).

Pese a los avances instrumentales, se evidencian retos persistentes. Por ejemplo, los inmunoensayos pueden dar falsos negativos si no incluyen hidrólisis de metabolitos conjugados, como ocurre con algunos kits comerciales (Ge et al., 2024). Asimismo, la aparición de nuevas moléculas sedantes de diseño requieren métodos actualizados para su detección, dado que no todos los laboratorios han adaptado sus paneles analíticos a estas estructuras emergentes (Wu & Fu, 2023).

Por lo expuesto, el presente estudio tiene como objetivo analizar sistemáticamente cómo se seleccionan, aplican y desempeñan los métodos instrumentales utilizados para la detección de benzodiazepinas en muestras de orina en contextos clínicos y forenses, considerando tanto sus implicaciones operativas como su relevancia diagnóstica.

Las preguntas de investigación que guían esta investigación son: (1) ¿Cuáles son los métodos instrumentales predominantes para la detección de estos fármacos en muestras de orina?; (2) ¿Qué factores influyen en la elección y uso de un método instrumental, incluyendo la disponibilidad de recursos, la formación del personal y la percepción de confiabilidad?; y (3) ¿Cuál es el desempeño comparativo de los principales métodos instrumentales en términos de ventajas, limitaciones y pertinencia según las necesidades analíticas de distintos entornos laborales?

2. Metodología

El presente estudio correspondió a una Revisión Sistemática de Literatura (SLR), siguiendo las directrices de la declaración *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA 2020). Este conjunto de normas ayudó a organizar el proceso y a presentar la información de manera clara y transparente (Page et al., 2021).

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron artículos publicados en inglés y español entre 2020 y 2025, hasta la fecha de consulta (24 de noviembre de 2025). Los estudios seleccionados y analizados se centraron en métodos instrumentales para la detección en muestras de orina. Se excluyeron aquellas publicaciones con alto

riesgo de sesgo, como revisiones narrativas, series de casos con menos de 20 participantes, editoriales, cartas al editor, resúmenes de congresos y estudios que presentaban datos duplicados o con conflictos de interés significativos. Para guiar la búsqueda y la organización de la información, se utilizó el método PICOS, detallado en la Tabla 1.

Tabla 1

Criterios considerados para cada componente PICOS

Característica	Descripción
P (Población)	Estudios solo en muestras de orina.
I (Intervención)	Métodos instrumentales analíticos aplicados para la detección y cuantificación.
C (Comparador)	No se estableció como criterio obligatorio. Sin embargo, se admitieron investigaciones que compararan métodos instrumentales entre sí.
O (Resultados)	Exactitud diagnóstica, operatividad, sensibilidad, especificidad y aplicabilidad clínica/forense

Estrategia de búsqueda

La búsqueda bibliográfica se realizó en las bases de datos Scopus y Web of Science debido a su relevancia científica y su amplia cobertura médica. Los términos de búsqueda se estructuraron en tres bloques conceptuales: compuesto químico (*benzodiazepines*); métodos analíticos (*instrumental method, analytical method, chromatograph*); muestra biológica (*urine*). La sintaxis fue adaptada a las particularidades de cada base de datos centrándose en los campos de título, resumen y palabras clave. En la Tabla 2 se presentan las bases de datos científicas, la cadena de búsqueda empleada y el número de estudios previos encontrados.

Tabla 2

Bases de datos y estrategias de búsqueda

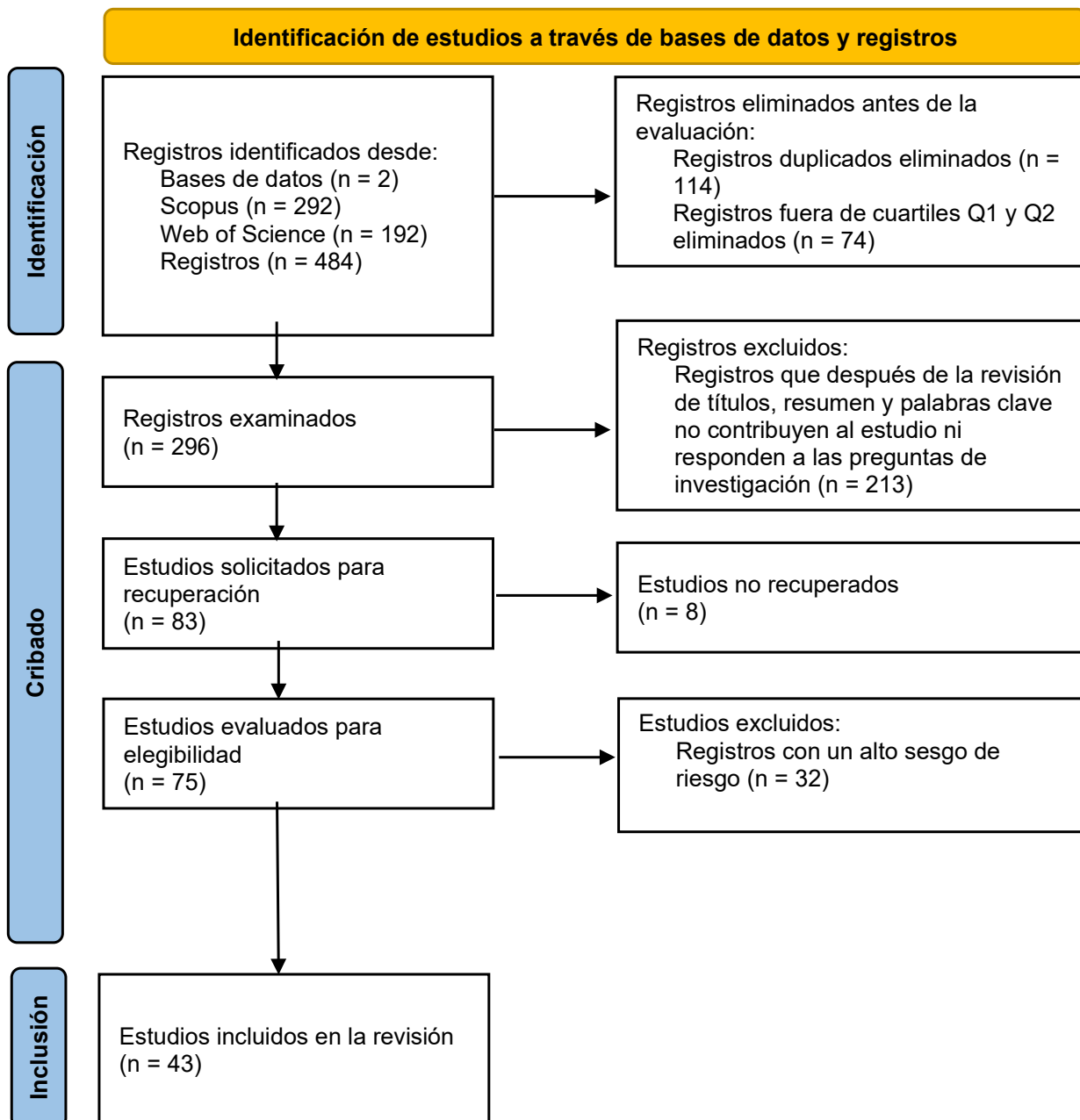
Base de datos	Cadena de búsqueda	Número de estudios
Scopus	(TITLE-ABS-KEY ("benzodiazepin*") AND TITLE-ABS-KEY ("instrumental analysis" OR "instrumental method*" OR "analytical technique*" OR "chromatograph*" OR "GC-MS" OR "GC/MS" OR "LC-MS" OR "LC-MS/MS" OR "LC/MS/MS" OR "HPLC" OR "UHPLC" OR "mass spectrometr*" OR "immunoassay*" OR "enzyme immunoassay" OR "ELISA" OR biosensor OR "electrochemical sensor*") AND TITLE-ABS-KEY ("urine" OR "urinary")) AND PUBYEAR > 2019 AND PUBYEAR < 2026 AND (LIMIT-TO (DOCTYPE , "ar") OR LIMIT-TO (DOCTYPE , "re"))	292
WoS	TS=("benzodiazepin*") AND TS=("instrumental analysis" OR "instrumental method*" OR "analytical technique*" OR chromatograph* OR "GC-MS" OR "GC/MS" OR "LC-MS" OR "LC-MS/MS" OR "LC/MS/MS" OR HPLC OR UHPLC OR "mass spectrometr*" OR immunoassay* OR "enzyme immunoassay" OR ELISA OR biosensor OR "electrochemical sensor*") AND TS=(urine OR urinary)	192
Total de estudios		484

Selección de estudios

La figura 1 detalla el proceso de selección de estudios PRISMA, que permitió evaluar progresivamente la evidencia disponible hasta obtener un conjunto sólido y relevante para la revisión. En la fase de identificación se recuperaron 484 registros provenientes de Scopus y Web of Science, de los cuales se eliminaron 114 duplicados y 74 estudios de cuartiles inferiores a Q1 y Q2. Tras la depuración inicial, luego de la revisión de títulos, resúmenes y palabras clave, 296 artículos avanzaron a la fase de cribado, donde se excluyeron 213, por no responder a las preguntas de investigación o no aportar a los objetivos del estudio. De los 83 artículos seleccionados para recuperación del texto completo, 8 estudios no fueron posibles recuperarlos, por lo cual 75 estudios fueron evaluados en detalle para determinar su elegibilidad. Finalmente, se excluyeron 32 por presentar alto riesgo de sesgo metodológico, resultando en 43 estudios incluidos en la revisión sistemática.

Figura 1

Diagrama de flujo PRISMA 2020



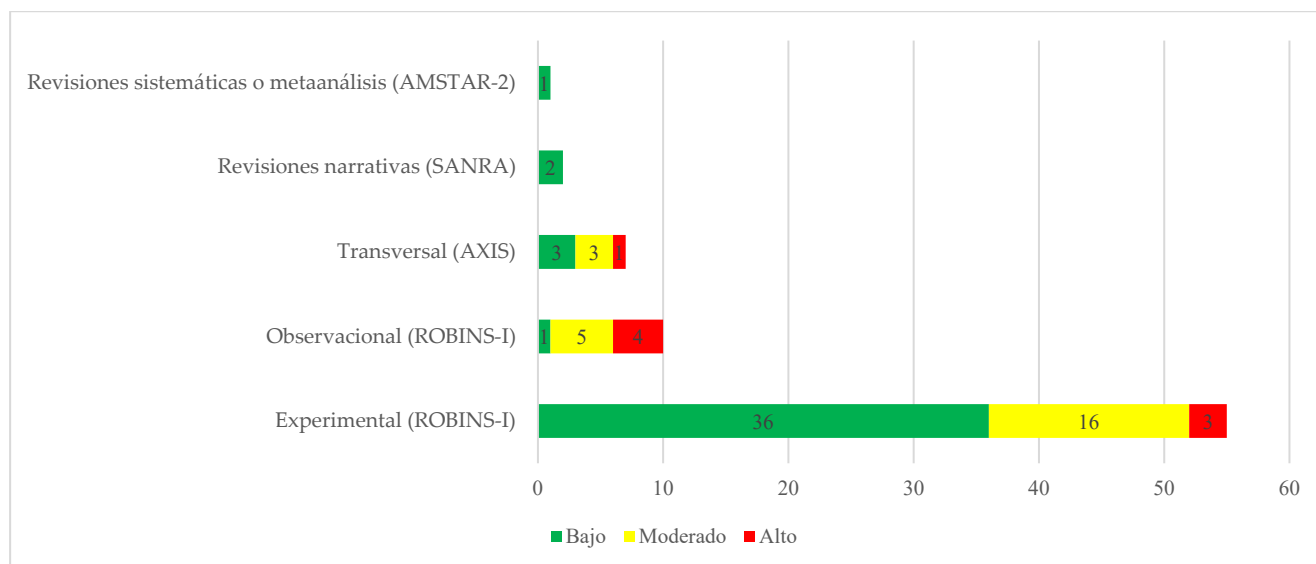
Evaluación del riesgo de sesgo

La evaluación del riesgo de sesgo se llevó a cabo mediante herramientas metodológicas especializadas según el diseño de cada estudio. Para los estudios experimentales y observacionales, se utilizó la herramienta ROBINS-I. En este grupo, los 55 estudios experimentales mostraron un predominio de bajo riesgo de sesgo (36 estudios), mientras que 16 presentaron riesgo moderado y solo 3 fueron catalogados con alto riesgo. En los estudios observacionales se identificó una distribución más heterogénea, con solo un trabajo científico clasificado con bajo riesgo, cinco con riesgo moderado y cuatro con alto riesgo.

La figura 2 muestra una perspectiva sintetizada sobre los resultados de la evaluación del riesgo de sesgo en los estudios. En cuanto, a los estudios transversales, la evaluación se desarrolló mediante la herramienta AXIS, adecuada para diseños de investigación de corte transversal que requieren valorar la validez del diseño, la claridad de objetivos, la representatividad de la muestra y la calidad del análisis estadístico. En este grupo, tres estudios demostraron bajo riesgo de sesgo, tres con riesgo moderado y uno fue clasificado con alto riesgo. Para las revisiones narrativas se empleó la herramienta SANRA, la cual evalúa aspectos como justificación del tema, claridad argumentativa, amplitud de la literatura revisada y calidad de la presentación. En este caso, las dos revisiones narrativas incluidas fueron calificadas con bajo riesgo de sesgo. Finalmente, la revisión sistemática incluida fue evaluada mediante AMSTAR-2, un estándar reconocido para valorar la calidad metodológica de revisiones basadas en evidencia, este estudio obtuvo una calificación de bajo riesgo.

Figura 2

Evaluación del riesgo de sesgo



Métodos de síntesis

Para la síntesis de la información, se aplicó un enfoque combinado de síntesis cualitativa y categorización temática. Inicialmente, se procedió a una extracción sistemática de datos mediante una matriz diseñada bajo el marco PICOS, incorporando variables clave como tipo de muestra, técnica instrumental, analitos evaluados, parámetros de rendimiento y aplicaciones clínicas o forenses. Posteriormente, se realizó una agrupación comparativa de los estudios según el método instrumental predominante, permitiendo identificar patrones en el uso de tecnologías analíticas y su grado de adopción en la práctica rutinaria. Finalmente, se efectuó una síntesis narrativa integrativa, en la que se

contrastaron las características metodológicas, el rigor analítico y las contribuciones prácticas de cada estudio, facilitando la interpretación de los resultados en relación con las preguntas de investigación.

3. Resultados

Características de los estudios

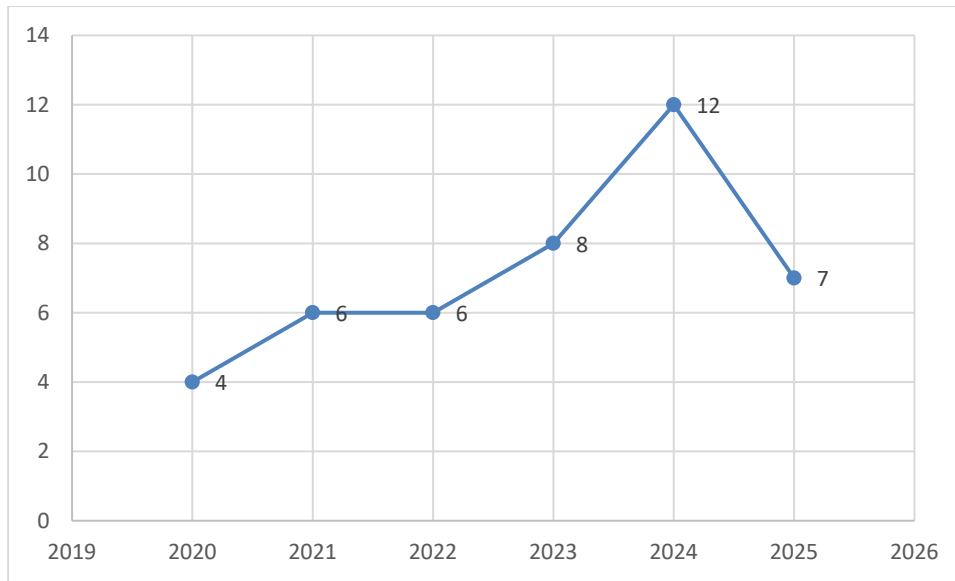
La Tabla 3 muestra que la mayor proporción de estudios corresponde a publicaciones de la editorial Elsevier, con 24 estudios, seguida de John Wiley and Sons, MDPI y la Society of Forensic Toxicologists también con 4 contribuciones cada uno. Springer aportó tres estudios, mientras que Blackwell Publishing Ltd, Oxford University Press, Churchill Livingstone y Lippincott Williams and Wilkins participaron cada uno con un estudio. Esta distribución editorial demuestra que la evidencia sintetizada procede principalmente de plataformas con altos estándares de revisión por pares.

Tabla 3

Distribución editorial de los estudios incluidos en la revisión

Publisher	Source	Cuartil	Número de estudios
Elsevier	Scopus	Q1	14
		Q2	6
	WoS	Q1	2
		Q2	2
MDPI	Scopus	Q1	3
	WoS	Q2	1
John Wiley and Sons	Scopus	Q1	1
		Q2	2
	Wos	Q2	1
Society of Forensic Toxicologists	Scopus	Q1	4
Springer	Scopus	Q1	2
		Q2	1
Blackwell Publishing Ltd	Scopus	Q2	1
Churchill Livingstone	Scopus	Q1	1
Lippincott Williams and Wilkins	Scopus	Q2	1
Oxford University Press	Scopus	Q2	1
Total			43

Respecto a la distribución temporal, la Figura 3 muestra un incremento progresivo en las publicaciones relacionadas el tema de investigación. En 2020 se seleccionaron cuatro estudios, en 2021 y 2022 se incluyeron seis estudios por cada año. La producción aumentó durante 2023 con ocho investigaciones y alcanzó su mayor representación en 2024, con doce estudios, consolidándose como el año de mayor aporte científico dentro del periodo analizado. Finalmente, para el año 2025 se incluyeron siete estudios.

Figura 3*Distribución temporal de los estudios*

La Tabla 4 presenta los resultados estructurados bajo el marco PICOS, que sintetiza de manera sistemática la evidencia obtenida de los 43 estudios incluidos en esta revisión. Se integra los elementos metodológicos fundamentales de cada investigación, tipo de estudio, características de la población y muestra analizada, técnicas instrumentales aplicadas, comparadores empleados y principales resultados analíticos junto con las aplicaciones clínicas y forenses reportadas. Su estructura permite identificar patrones comunes, contrastar el desempeño de los diferentes métodos instrumentales y contextualizar sus ventajas y limitaciones operativas.

Tabla 4

Matriz de resultados

Autor	Tipo de estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Rausgaard et al. (2024)	Transversal	Dinamarca; 1.903 mujeres embarazadas. Muestras de orina hidrolizadas con NaOH.	LC-MS/MS; análisis multiplex con capacidad de diferenciar compuestos y minimizar interferencias.	No se menciona comparador directo, se evaluó el desempeño frente a tiras inmunoquímicas (como referencia conceptual).	Sin valores numéricos explícitos de sensibilidad o especificidad. Técnica con alta selectividad, reducción de falsos positivos y negativos, detección eficiente incluso con múltiples fármacos. Limitación en orinas muy diluidas (creatinina baja). Útil para vigilancia de consumo durante el embarazo, confirmación de screening, evaluación en contextos de confiabilidad limitada del autorreporte y análisis forense de exposición prenatal
Stelmaszczyk et al. (2024)	Experimental	Polonia; voluntarios sanos, orina congelada	CE-MS.	Comparado conceptualmente con LC-MS/MS, GC-MS y LC-MS (métodos de referencia)	Precisión <13%, recuperación >80%. LOD entre 3.1 y 15 ng/mL; LOQ común de 25 ng/mL. Buen rendimiento en selectividad, precisión y linealidad; menor sensibilidad comparado con LC-MS/MS. Útil en análisis de drogas en muestras clínicas y post-mortem; aplicable en entornos con recursos limitados por bajo consumo de reactivos y rapidez del análisis.
Almofti et al. (2023)	Experimental	España; 10 voluntarios (6 con benzodiazepinas; 2 consumidores de cannabis; 2 sanos); orina sometida a hidrólisis enzimática	SUPRAS-LC-MS/MS basado en solventes supramoleculares verdes.	No se menciona comparador directo.	Precisión intra/interdia 4-13.7%. Recuperación 70-120%. MLOD 0.06-0.30 ng/mL; MLOQ 0.20-1.00 ng/mL. Alta especificidad y sensibilidad; efectos de matriz significativos para lorazepam y clorazepato. Adecuado para monitoreo clínico, detección ampliada en DFSA y aplicaciones forenses por su capacidad para recuperar múltiples compuestos con mínima preparación.
An et al. (2022)	Experimental	China; Voluntarios sanos (tamaño no especificado); orina preparada por microextracción magnética (MSPE).	UHPLC-MS/MS	Comparado con LC-MS/MS, LC-MS, GC-MS, HPLC-DAD (comparación conceptual con técnicas previas).	Recuperación 88-108%. Precisión 2.4-15.2%. LLOQ 0.05-0.1 ng/mL; LOD 0.02-0.05 ng/mL. Alta sensibilidad; efecto matriz entre 0.91-1.03. Ideal para urgencias médicas, screening forense rápido y contextos donde se requiere alta sensibilidad con volúmenes mínimos de muestra.
Masood & Veenstra (2020)	Experimental	Muestras clínicas de orina desidentificadas; orina hidrolizada vs. orina "dilute and shoot".	LC-MS-sMRM	Comparación explícita entre análisis con y sin hidrólisis enzimática.	Recuperación 70-80%; imprecisión ±15%. LOQ definido por CV<20%, sesgo ±20%, S/N≥10. Riesgo elevado de falsos negativos sin hidrólisis. Gold standard para toxicología forense y clínica; imprescindible para cuantificación completa de analitos conjugados; permite monitoreo terapéutico y screening confirmatorio de alto rendimiento.

Autor	Tipo de estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Keung et al. (2023)	Experimental	Estados Unidos; Pacientes en programas rutinarios de detección de drogas y manejo del dolor; orina.	LC-MS/MS	Inmunoensayo (IA) y versión previa del método LC-MS/MS.	LLMI 0.05 µg/mL. Mayor sensibilidad y especificidad que IA; capacidad multiplex que reduce tiempo analítico (de 30 min a 6.7 min). Ampliación de panel, idóneo para pruebas definitivas en manejo del dolor, detección de sustancias emergentes y análisis confirmatorio superior a inmunoensayo.
Pope et al. (2021)	Experimental	Australia; 217 muestras de orina (pacientes psiquiátricos, emergencias, referrals).	LC-QTOF	CEDIA (inmunoensayo) y GC-MS.	LC-QTOF identificó BDZ en 94% de positivos por CEDIA vs. GC-MS solo 21%. LOD entre 1-10 µg/L; LOI ~25 µg/L. Capaz de detectar metabolitos glucurónidos y sustancias no previstas. Excelente para confirmación toxicológica en entornos clínicos y forenses; útil para investigaciones retrospectivas por recuperación del full-scan.
Magura et al. (2023)	Transversal	Estados Unidos; 1089 individuos en tratamiento con metadona; orina.	HEIA como screening + confirmación por LC-MS/MS.	IA + confirmación vs. prueba directa a definitiva (LC-MS/MS sin screening previo).	LOQ 120 ng/mL. LC-MS/MS mostró mayor sensibilidad, eliminó falsos negativos e identificó BDZ específicas que IA no detecta. Aplica para decisiones clínicas en tratamiento de adicciones, epidemiología del uso de este compuesto e investigaciones forenses donde IA es insuficiente.
Skov et al. (2024)	Experimental	Dinamarca; 38 muestras de orina; orina hidrolizada y sometida a PPT.	UHPLC-MS/MS	Cumplimiento comparado con estándares SOFT; relación con métodos LC-TOF-MS (conceptual).	LOD 0.0001-2 mg/L; la mayoría en rango bajo. Eficiencia de hidrólisis 97%. Interferencia endógena en algunos analitos; ciertos LOD no cumplían SOFT. Cribado DFSA, toxicología de amplio espectro, confirmación forense, análisis simultáneo sangre-orina con automatización.
Farley et al. (2021)	Experimental	Estados Unidos; 28 muestras de competencia y 705 muestras de orina clínica, conservadas con 0.01% de azida de sodio	LC-MS/MS; preparación por precipitación de proteínas y filtración.	Evaluado frente a los requisitos de sensibilidad para DUID según NSC-ADID y ANSI/ASB.	LODs entre 1-10 ng/mL según analito; estabilidad >80% hasta 12 h; tiempo de corrida de 8 min; alta sensibilidad para concentraciones bajas. Algunas drogas no se detectaron por estar por debajo del LOD administrativo. Análisis forense de drogas (DUID), DFSA, monitoreo de tendencias de policonsumo, pruebas post-mortem y análisis de laboratorio de alto rendimiento por su panel ampliado y eficiencia.
Sofalvi et al. (2020)	Experimental	Estados Unidos; Orina sometida a hidrólisis enzimática (β-glucuronidasa); sangre completa para análisis cuantitativo (casos forenses).	LC-MS/MS; alta eficiencia de hidrólisis (>95%).	Sin comparador directo formal; discusión metodológica frente a estándares previos.	Detección simultánea en sangre y orina; hidrólisis altamente eficiente; capacidad para discriminar entre fármaco padre y metabolito; útil para identificar análogos y sustancias emergentes. Casos post-mortem, DFSA, DUID y análisis toxicológico integral, permitiendo interpretación detallada del metabolismo y detección de sustancias novedosas.

Autor	Tipo de estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Caballero-Casero et al. (2022)	Experimental	España; 13 voluntarios (5 hombres, 8 mujeres; 25-79 años); orina real y orina fortificada con hidrólisis enzimática.	Extracción con SUPRAS-RAM + LC-MS/MS	Sin comparador directo	Precisión 2-6% (intra) y 3-8% (inter); recuperación 84-105%; MDL 0.21-0.85 ng/mL; MQL 0.67-2.79 ng/mL; eliminación de efectos de matriz; método rápido de un paso. Investigación forense, confirmación toxicológica, análisis rápido con alta sensibilidad y mínima preparación.
Pérez Orts et al. (2023)	Revisión	Síntesis de métodos (LC-MS, HRMS, CE-TOF, GC-MS).	Comparación de técnicas instrumentales.	Inmunoensayos vs LC-MS/MS vs HRMS vs GC-MS.	LC-MS/MS y HRMS son los métodos más sensibles y específicos; IA produce falsos positivos/negativos; HRMS permite análisis retrospectivo. Limitaciones: falta de estándares y dificultades metabólicas. Forense (DFSA, DUID), clínica, análisis retrospectivo, detección de nuevos compuestos.
Ge et al. (2024)	Experimental	Estados Unidos; 258 muestras clínicas de orina congelada.	IA Roche Benz II comparado con LC-MS/MS; hidrólisis en muestras según ensayo.	Roche Benz II, Roche Benz Plus y un LDT validado.	Sensibilidad y especificidad 100% (Roche Benz II) en esta cohorte; CV 0.54-1.12%; corte 200 ng/mL; IA sin hidrólisis produce falsos negativos por glucurónidos. Monitoreo clínico y detección.
Li et al. (2025)	Experimental	Estados Unidos; 200 pacientes con sobredosis no fatal	LC-MS/MS (dilute-and-shoot)	Sin comparador directo.	Recuperación 75-126%; CV 0.3-17%; LOQ 0.1-15 ng/mL; supresión iónica notable en 22 analitos; alta sensibilidad general. Útil en urgencias, vigilancia epidemiológica toxicológica, análisis rápido multianalito.
Zhang et al. (2024)	Experimental	China; Muestras de orina enriquecidas de voluntarios sanos.	MSPE con aerogel MOF-199 + LC-MS/MS	SPE, SPME, MEPS y otros métodos magnéticos.	Recuperación 73.9-114.1%; precisión 1.9-7.8%; LOD 0.02-0.11 µg/L; LOQ 0.06-0.33 µg/L; alta sensibilidad y reutilización del sorbente. Análisis forense y clínico; ideal para laboratorios que requieren métodos "verdes" y económicos.
Liu et al. (2023)	Experimental	China; 8 sujetos sanos.	LC-MS/MS con dilución simple	Sin comparador directo	Precisión <15%, exactitud ±15%; LLOQ 1-5 ng/mL; ausencia de interferencias; inestabilidad del metabolito M1 en alto metanol. Estudios farmacocinéticos, biodisponibilidad, monitoreo terapéutico, uso potencial en toxicología ocupacional o deportiva.
García et al. (2021)	Revisión sistemática	Estudios de DFSA y DFC	Evaluación de IA, GC-MS, LC-MS/MS y LC-DAD.	Sistemas inmunoquímicos vs técnicas cromatográficas.	GC-MS y LC-MS/MS son los métodos más selectivos y sensibles; inmunoensayos fallan a bajas concentraciones y generan falsos positivos; necesidad de confirmación obligatoria. Forense (DFSA), emergencia clínica, investigación toxicológica integral.
Arndt et al. (2024)	Observacional	Estados Unidos; 1454 casos médico-legales (autopsias); orina post-mortem.	Tiras reactivas UDS comparadas con ELISA y MS.	UDS (tiras), ELISA, MS.	Sensibilidad 60-85%, especificidad 98.6-99.4%; cutoff 300 ng/mL; UDS no predice concentraciones sanguíneas; alta tasa de falsos negativos. Triaje rápido en patología forense; no recomendable como confirmación toxicológica.

Autor	Tipo de estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Lund et al. (2023)	Experimental	Estados Unidos; 347 muestras clínicas de orina (sobrantes).	IA (Roche HS LDT y Thermo HS LDT) vs LC-MS/MS.	Ensayos Roche vs Thermo vs LC-MS/MS.	Sensibilidad 92.1% (Roche) y 100% (Thermo); especificidad >99%; estabilidad del reactivo de Roche por 60 días; Thermo requiere recalibraciones frecuentes. Pruebas clínicas de cumplimiento y monitoreo terapéutico.
Tolan et al. (2024)	Experimental	Estados Unidos; 295 muestras de urgencias y 191 de monitoreo de cumplimiento	IA (BNZ2, BENZ Plus) vs LC-MS/MS.	LC-MS/MS considerado gold standard.	Sensibilidad BNZ2 = 73.4%; especificidad = 95.1%; IA falla en detección de clonazepam/lorazepam; posible interferencia de BDZ de diseño. Adecuado en urgencias, insuficiente para monitoreo de adherencia en pacientes crónicos.
Hsu et al. (2023)	Experimental	Taiwán; Pacientes bajo tratamiento (número no especificado)	Extracción LLE + MSS-CZE	Comparado con CZE convencional, LC-MS y GC-MS.	Recuperación 66.1–88.9%; precisión <6.10%; LOD 2–56 ng/mL; método económico y con 123–235× más sensibilidad que CZE tradicional. Monitoreo toxicológico, entorno clínico de bajo presupuesto.
An et al. (2023)	Experimental	China; Muestras clínicas de orina y plasma (urgencias).	SPE con nanofibras + LC-MS/MS	LLE y métodos SPE previos.	Recuperación 85.1–110.9%; precisión <16%; LOD 0.005–0.05 ng/mL; ausencia de interferencias significativas. Emergencias clínicas, análisis toxicológico forense, detección rápida de drogas críticas.
Abduljabbar et al. (2024)	Experimental	Egipto; Muestras de orina de pacientes bajo tratamiento	Hidrólisis enzimática + extracción LLE (diclorometano, isopropanol, NH ₄ OH) + espectrofotometría UV-Vis (colorimetría con MBTH)	Desempeño estadísticamente comparado con LC-MS/MS (sin diferencias significativas).	Recuperación 98.24–101.94%; precisión <1.5% RSD; LLOQ 0.2 µg/mL; selectividad adecuada sin interferencias. Análisis clínico de rutina en entornos con recursos limitados.
Laffafchi et al. (2022)	Experimental	Irán; Muestras de orina de voluntarios sanos	MSPE con creatina SiO ₂ - Fe ₃ O ₄ + HPLC-UV	Sin comparador directo	Recuperación 92–98%; RSD 3.2–6.2%; LOD 0.36 µg/L; LOQ 0.90 µg/L; factor de enriquecimiento 79.8. Monitoreo en muestras biológicas clínicas.
Tanaka et al. (2021)	Experimental	Japón; 356 muestras de orina de autopsias.	Kits de IA in situ (Triage, Status, DF8) comparados con GC-MS/LC-MS.	Desempeño cruzado entre kits y contra MS.	Sensibilidad baja 0.52–0.59; especificidad 0.99–1.0; reactividad cruzada presente; buena rapidez operativa. Triage forense rápido en escena o en autopsias.
Tanaka et al. (2020)	Experimental	Japón; 340 muestras de orina post-mortem.	IA DRIVEN-FLOW M7-II y Triage DOA vs GC-MS/LC-MS/MS.	DFM7II vs Triage	Exactitud 0.88; sensibilidad 0.53–0.56; especificidad 0.99–1; mejores resultados en muestras antiguas con DFM7II. Cribado preliminar forense para determinación de causa de muerte.

Autor	Tipo de estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Jinlei et al. (2020)	Experimental	China; Orina y sangre de 2 voluntarios sanos y orina blanca de 8 voluntarios.	Extracción SUPRAS + GC-MS/MS.	LLE y SPE tradicionales.	Recuperación 81–103%; precisión <10%; LOD 0.06–1.5 ng/mL; LOQ 0.2–5 ng/mL. Toxicología clínica y forense.
Clivillé-Cabré et al. (2024)	Experimental	España; 11 pacientes mujeres en programa de desintoxicación.	SPE (SCX) y DLLME + LC-MS/MS	SPE vs DLLME.	Recuperación variable (SPE 9–107%, DLLME 14–86%); MDL 0.1–5 ng/mL; MQL 1.25–5 ng/mL. Control toxicológico en rehabilitación y análisis forense.
An et al. (2021)	Experimental	China; orina blanca y muestras fortificadas.	SPE basada en nanofibras en jeringa + HPLC-DAD	LLE, SPE convencional, microextracción.	Recuperación 90–113%; RSD 1.3–15%; LOD 0.2–0.4 µg/mL; LOQ 0.4–1 µg/mL; selectividad confirmada. Monitoreo clínico y detección de abuso.
Jain et al. (2024c)	Experimental	India; Voluntarios sanos y casos post-mortem.	Extracción In-tip-FPSE + GC-MS	SPE, LLE, SPME, DLLME.	Recuperación 85–110%; RSD <10%; LOQ 33–41 µg/L; excelente linealidad ($R^2 >0.998$). Toxicología forense, análisis post-mortem, TDM, extracción in-situ.
Yang et al. (2020)	Experimental	China; 10 pacientes tratados con diazepam.	SPE MOF-808-SiO ₂ + HPLC-VWD	Sorbentes C18 y comerciales.	Recuperación 81–96%; RSD 3–9%; MDL 0.4–0.6 ng/mL; LOQ 1.5–2 ng/mL. Análisis farmacéutico y forense.
Abad et al. (2023)	Experimental	Irán; muestra de 2 voluntarios sanos.	DµSPE magnética MOF-on-MOF + HPLC-UV.	Fe-MOF, Co-MOF@Fe-MOF, LC-MS/MS.	Recuperación 88–98%; RSD 3–7%; LOD 0.26–0.35 ng/mL; LOQ 0.9–1.2 ng/mL; factor de preconcentración >600. Análisis forense, clínico y ambiental.
Fu et al. (2025)	Experimental	China; 16 muestras de orina de pacientes medicados más orina blanca.	SPE con biocarbón + LC-MS/MS.	SPE (PCX, HLB, MIP) y µSPE.	Recuperación 78–106%; RSD 0.7–11%; LOD 0.01–0.08 ng/mL; LOQ 0.03–0.26 ng/mL; efecto matriz mínimo. Monitoreo clínico y confirmación forense.
Li et al. (2020)	Experimental	China; muestra de pacientes tratados.	DSPE con ZIF-8 HAP + HPLC-VWD.	LLE, SPE, PT-µ-SPE.	Recuperación 89–102%; RSD 2–12%; LOD 0.7–1.4 ng/mL; LOQ 2.5–5 ng/mL. Detección en clínica y toxicología.
Rossi et al. (2021)	Experimental	Italia; 501 muestras de orina auténticas (clínicas y post-mortem).	IA ARK™ HS y EMIT® II vs LC-MS/MS.	ARK vs EMIT.	Especificidad >0.99; sensibilidad >0.90; EMIT genera más falsos negativos. Laboratorios clínicos y forenses, confirmación toxicológica.
Kamal et al. (2025)	Experimental	Kuwait; 48 muestras de orina.	LLE con metanol + LC-MS/MS (Shimadzu).	Sin comparador directo	Exactitud 80–120%; RSD ≤15%; LOQ 6 ng/mL; LOD 2 ng/mL; linealidad $r^2 \geq 0.99$. Confirmación forense, screening y vigilancia epidemiológica.
Du et al. (2021)	Experimental	China; voluntarios medicados con midazolam más orina blanca.	SPE ZIF-8 Dt-COOH + HPLC-DAD.	Sorbentes comerciales (PLS, CX, C18).	Recuperación 80–99%; RSD 1.4–8%; LOD 0.3–0.4 ng/mL; LOQ 1.0–1.3 ng/mL. Cribado clínico y criminalístico.

Autor	Tipo de estudio	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Le et al. (2025)	Transversal	Francia; 154 pacientes hospitalizados en unidad de adicciones.	Desproteínización simple + LC-HRMS (Orbitrap Exploris 120).	LC-HRMS vs inmunoensayo.	Detecta 60–71% más moléculas que IA; LOI 1–10 ng/mL; alta especificidad y capacidad para NPS. Gestión de adicciones y monitoreo terapéutico.
Ibarra et al. (2025)	Revisión	Orina en múltiples condiciones (centrifugada, diluida, LLE, con hidrólisis).	RRLC-MS/MS, UHPLC-MS/MS, GC-QQQ-MS, MECC.	Técnicas LC, GC, electroforéticas y electroquímicas.	LOD 0.01–0.5 ng/mL (RRLC); recuperación 80–98%; DLLME-GC-QQQ LOD 1–3 ng/mL para BDZ de diseño. Toxicología clínica, forense, DFSA, DUI, análisis post-mortem y detección de NPS.
Jain et al. (2024a)	Experimental	India; Muestras post-mortem (sangre y orina).	Extracción con papel giratorio (RPD) + GC-MS.	SPE-GC-MS clásico.	Exactitud 87–105%; RSD <10%; LOD 0.017–0.025 µg/mL; LOQ 0.056–0.082 µg/mL; EF 67–99%. Toxicología post-mortem y análisis de rutina.
Wachelko et al. (2022)	Experimental	Polonia; 25 casos forenses (múltiples fluidos).	LLE + UHPLC-QqQ-MS/MS.	Comparación metodológica con GC/LC previos.	LLOQ 10–50 pg/mL; precisión <15%; exactitud ±15%; sensibilidad ultra-traza. Toxicología forense, casos de DUI/DWI, análisis post-mortem.
Huppertz et al. (2024)	Experimental	Alemania; Orina enriquecida con drogas y marcadores PEG.	LLE, perlas magnéticas, precipitación de proteínas, SPE + LC-MS/MS.	Cuatro técnicas de preparación.	Efecto en cuantificación <15% con estándares isotópicos; LOD 0.3–0.5 ng/mL para diazepam/oxazepam; interferencias relacionadas con PEG. Validación toxicológica en control de abstinencia y contextos forenses.

La Figura 5 muestra un claro dominio de las técnicas basadas en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, particularmente LC-MS/MS y sus variantes de alta resolución, las cuales concentran más del 60% de los estudios incluidos y se consolidan como el estándar confirmatorio tanto en entornos clínicos como forenses debido a su elevada sensibilidad, especificidad y capacidad multianalito. Las técnicas GC-MS/MS mantienen una presencia significativa, especialmente en aplicaciones forenses y post-mortem, donde su selectividad para compuestos volátiles y termolábiles sigue siendo una ventaja operativa. Los inmunoensayos, aunque ampliamente empleados para el cribado rápido, representan apenas el 11.6% de los estudios y muestran limitaciones importantes, particularmente frente a metabolitos glucurónidos y benzodiazepinas emergentes. Técnicas alternativas como HPLC con detectores ópticos o métodos espectrofotométricos ocupan un lugar minoritario y están vinculadas a laboratorios con restricciones tecnológicas o estudios orientados a optimizar procedimientos.

Tabla 5*Métodos instrumentales predominantes*

Método instrumental	Estudios mencionados	Porcentaje	Aplicación predominante	Nota relevante
LC-MS/MS y variantes (UHPLC-MS/MS, RRLLC-MS/MS, LC-QTOF, LC-HRMS)	27	62.8%	Clínico y forense	Alta sensibilidad; detecta glucurónidos y benzodiazepinas de diseño; gold standard confirmatorio.
GC-MS / GC-MS/MS / GC-QQQ-MS	6	14%	Forense (post-mortem)	Gran selectividad; útil para metabolitos volátiles; algunos métodos emergentes (FPSE-GC-MS, RPD-GC-MS).
Inmunoensayos (IA, ELISA, CEDIA, HEIA, kits rápidos)	5	11.6%	Clínico (cribado), forense rápido	Alta especificidad, pero baja sensibilidad para benzodiazepinas conjugadas; requieren confirmación por LC-MS/MS.
HPLC con detectores ópticos (UV, DAD, VWD)	3	7.0%	Clínico	Menos sensibles; combinados con SPE/MSPE; útiles en laboratorios con recursos limitados.
Métodos electromigratorios (CE-MS, CZE, MECC) y Espectrofotometría / colorimetría (UV-Vis)	3	7.0%	Clínico, en entornos con recursos limitados, investigativo	Sensibilidad intermedia; alternativas económicas; menor uso rutinario.

Los inmunoensayos (IA) y pruebas rápidas (Dipsticks) son métodos básicos en muchos laboratorios debido a su bajo costo y rapidez. Permiten un alto rendimiento de muestras y automatización, requiriendo menos formación técnica especializada y equipamiento menos costoso que la espectrometría de masas (Keung et al., 2023). Sin embargo, la limitación más severa es la baja reactividad cruzada con metabolitos glucurónidos. El lorazepam, oxazepam y temazepam se excretan principalmente como glucurónidos y los inmunoensayos estándar a menudo no detectan estos metabolitos, resultando en altas tasas de falsos negativos (Ge et al., 2024; Tolan et al., 2024).

LC-MS/MS supera las limitaciones de los IA y es esencial para la confirmación y cuantificación precisa. Ofrece una sensibilidad superior, con límites de detección (LOD) en el rango de pg/mL o ng/mL bajos, lo cual es crucial para detectar el uso de dosis únicas o exposiciones pasadas (Keung et al., 2023; Wachełko et al., 2022). Permite la identificación inequívoca de sustancias específicas (no solo la clase de droga) y distingue entre el fármaco padre y sus metabolitos, lo cual es vital para interpretar el momento del consumo y el metabolismo (Kamal et al., 2025)

A diferencia de los métodos "dilute-and-shoot" (diluir e inyectar) que pueden fallar al detectar drogas conjugadas, la LC-MS/MS combinada con hidrólisis enzimática (usando beta-glucuronidasa) revela concentraciones significativamente más altas y frecuencias de detección mayores al convertir los metabolitos glucurónidos a su forma libre (Li et al., 2025; Masood & Veenstra, 2020). Es capaz de detectar simultáneamente docenas de analitos, incluyendo benzodiazepinas clásicas, drogas Z (como zolpidem) y nuevas sustancias psicoactivas en una sola corrida analítica (Farley et al., 2021; Li et al., 2025).

La elección del método depende del equilibrio entre la necesidad de precisión clínica o forense y la disponibilidad de recursos. En entornos clínicos y de urgencias, se necesita rapidez para la toma de decisiones médicas inmediatas. Aunque los IA son rápidos, su alta tasa de falsos negativos (especialmente con lorazepam y clonazepam) puede llevar a diagnósticos erróneos o mala gestión del paciente (Keung et al., 2023; Tolan et al., 2024). La implementación de inmunoensayos de "alta sensibilidad" (con hidrólisis integrada) se recomienda para urgencias, porque mejora la detección sin sacrificar la rapidez del flujo de trabajo automatizado. Sin embargo, para pacientes en coma inexplicable o con toxidromas no claros, la LC-MS/MS sigue siendo superior para identificar agentes específicos que los IA pierden (An et al., 2023).

En toxicología forense y delitos facilitados por drogas (DFSA), es preciso maximizar la sensibilidad para detectar trazas de drogas administradas en dosis únicas (a menudo con ventanas de detección cortas) y defensa legal de los resultados. La LC-MS/MS es indispensable. En casos de asalto sexual facilitado por drogas (DFSA), las concentraciones en orina pueden ser muy bajas debido al tiempo transcurrido desde el incidente. Los IA fallan frecuentemente en estos escenarios debido a su baja sensibilidad para dosis únicas de flunitrazepam o triazolam (Pérez Orts et al., 2023). Además, la capacidad de la LC-MS/MS para detectar benzodiazepinas de diseño que no están en los paneles estándar de IA es crítica para la resolución de casos modernos (Keung et al., 2023).

Para hacer la LC-MS/MS más accesible y sostenible ("química verde"), se están desarrollando métodos de microextracción que reducen el uso de solventes y el tiempo de preparación, manteniendo alta sensibilidad. Uso de nanofibras de poliestireno, biochar (carbón biológico) y marcos orgánicos metálicos (MOFs) para la extracción en fase sólida (SPE), permitiendo límites de detección ultra bajos (pg/mL) y reutilización de cartuchos (An et al., 2021, 2023; Fu et al., 2025). Técnicas como la microextracción en punta de pipeta (In-tip FPSE) permiten la extracción in situ y reducen la manipulación manual, mejorando la precisión y reduciendo riesgos biológicos (Jain et al., 2024c).

La elección y el uso de un método instrumental para la detección en orina están determinados por un equilibrio complejo entre la precisión analítica necesaria, los recursos operativos disponibles y el contexto clínico o forense de la prueba. La Tabla 6 detalla los factores críticos basados en los estudios analizados.

Tabla 6.

Factores que influyen en la aplicación de un método instrumental

Categoría	Factores críticos	Descripción
Percepción de confiabilidad, sensibilidad y selectividad	Limitaciones de los inmunoensayos (IA).	Riesgos significativos de resultados falsos negativos y positivos.
	Superioridad de la espectrometría de masas (LC-MS/MS).	Se considera el "estándar de oro" debido a su sensibilidad y especificidad superiores.
	Necesidad de hidrólisis.	La confiabilidad depende críticamente del pretratamiento de la muestra.
Disponibilidad de recursos y eficiencia de costos	Costo y tiempo.	Los inmunoensayos son preferidos para el cribado inicial porque son rápidos, menos costosos y permiten un alto rendimiento de muestras.
	Consumo de solventes y sostenibilidad.	Existe una creciente presión para adoptar métodos de "química verde" que reduzcan el uso de solventes orgánicos tóxicos y costosos.
Formación del personal y complejidad técnica	Requisitos de habilidad.	Los inmunoensayos y las pruebas rápidas (como las tiras reactivas) requieren poca capacitación técnica y no dependen de instrumentos complejos.
	Alta especialización para MS.	La implementación de flujos de trabajo de LC-MS/MS requiere personal altamente calificado para el desarrollo, validación y resolución de problemas de los ensayos.
Contexto de aplicación (Clínico Vs. Forense)	Entornos de Emergencia.	Se prioriza la rapidez (tiempo de respuesta), por lo que a menudo se aceptan los inmunoensayos a pesar de sus limitaciones de sensibilidad.
	Monitoreo de cumplimiento y forense.	Se requiere alta sensibilidad para detectar niveles bajos de drogas y alta especificidad para fines legales.

4. Discusión

Los resultados de esta revisión sistemática evidencian que los métodos instrumentales empleados para la detección de benzodiazepinas en muestras de orina han mantenido una tendencia evolutiva constante, marcada por el fortalecimiento de las plataformas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas (García et al., 2021; Pérez Orts et al., 2023). Esta perspectiva focalizada revela que más del 60% de los estudios clínicos y forenses recientes utilizan LC-MS/MS como método principal de confirmación, lo cual coincide con las conclusiones teóricas de revisiones previas, pero añade evidencia empírica actualizada y sistemáticamente evaluada que no había sido reportada.

En cuanto al desempeño comparativo de los métodos instrumentales, los hallazgos coinciden en que los inmunoensayos, pese a su rapidez y bajo costo operativo, presentan limitaciones importantes

cuando se analizan metabolitos conjugados como lorazepam, oxazepam o temazepam. Este fenómeno, ampliamente descrito por Ge et al. (2024) y Tolan et al. (2024), se explica por la baja reactividad cruzada de los IA con los glucurónidos, lo que compromete su sensibilidad clínica. Estudios como los de Magura et al. (2023) y Rossi et al. (2021) resaltan que la ausencia de hidrólisis conduce a interpretaciones erróneas y subdiagnóstico, situación particularmente crítica en servicios de urgencias, programas de manejo del dolor y monitoreo terapéutico. En contraste, la LC-MS/MS demuestra un rendimiento superior en prácticamente todos los escenarios evaluados, con límites de detección que oscilan entre el rango picogramo y nanogramo, como lo evidenciaron Wachełko et al. (2022), Farley et al. (2021) y Li et al. (2025).

Asimismo, los resultados revelan avances significativos en las técnicas de preparación de muestras, donde métodos emergentes como MSPE, SUPRAS, biocarbón y sorbentes MOF contribuyen a mejorar la extracción y reducir los efectos de matriz. Investigaciones como las de An et al. (2021), Fu et al. (2025) y Caballero-Casero et al. (2022) demuestran que estas estrategias aumentan la recuperación, disminuyen interferencias y permiten límites de detección ultra bajos, incluso cuando se busca cuantificar estos compuestos de diseño o analitos en concentraciones traza. Además, estudios como los de Hsu et al. (2023) y Stelmaszczyk et al. (2024) muestran que técnicas electromigratorias y métodos alternativos pueden constituir opciones válidas en entornos con recursos limitados, aunque su sensibilidad global continúa siendo inferior frente a la espectrometría de masas.

Por último, los factores que influyen en la elección del método instrumental reflejan un equilibrio entre recursos disponibles, formación técnica, confiabilidad esperada y contexto de aplicación. En entornos clínicos y de urgencias, la rapidez es prioritaria, lo que explica el uso persistente de inmunoensayos (Lund et al., 2023; Tanaka et al., 2021). Sin embargo, en toxicología forense, análisis post-mortem y delitos facilitados por drogas, la sensibilidad y selectividad son cruciales, lo que hace imprescindible el uso de LC-MS/MS o LC-HRMS, tal como reportaron Le et al. (2025) y Pope et al. (2021). Además, la aparición de benzodiazepinas de diseño exige métodos más robustos, dado que los IA no reconocen adecuadamente estas moléculas (Pérez Orts et al., 2023; Wu & Fu, 2023).

En este sentido, la contribución de esta revisión radica en sintetizar el estado del arte y ofrecer un marco comparativo robusto para fundamentar decisiones metodológicas en el análisis de benzodiazepinas en orina, así como para evaluar la brecha entre la capacidad analítica regional y los estándares internacionales. Aunque la mayoría de los métodos identificados requieren plataformas instrumentales de alta complejidad con disponibilidad limitada en la región, la sistematización de enfoques emergentes y alternativos proporciona opciones accesibles para laboratorios con recursos restringidos. Además, la revisión evidencia la necesidad de fortalecer la infraestructura analítica y promover redes de referencia para confirmación por espectrometría de masas, lo que resulta clave en toxicología clínica, manejo de emergencias y peritaje forense.

Asimismo, se presentan varias limitaciones que deben ser consideradas al interpretar los resultados. En primer lugar, aunque se empleó una estrategia de búsqueda en bases de datos de alto impacto, la inclusión exclusiva de artículos ubicados en cuartiles Q1 y Q2 pudo haber excluido estudios pertinentes publicados en revistas de menor impacto, limitando potencialmente la diversidad metodológica. Además, la revisión se centró exclusivamente en muestras de orina, lo que, si bien permite una evaluación específica y profunda, limita la generalización de los hallazgos hacia otros tipos de matrices biológicas. A pesar de estas restricciones, se ofrece una síntesis amplia, actualizada y metodológicamente rigurosa del estado del arte en la detección instrumental de estos fármacos.

5. Conclusiones

Los resultados de esta investigación indican que las plataformas basadas en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas siguen siendo los métodos instrumentales predominantes para la detección de benzodiazepinas. Los inmunoensayos tienen un uso extendido únicamente como estrategias iniciales de cribado. Aunque persisten alternativas como GC-MS, métodos electromigratorios y técnicas ópticas, su aplicación se encuentra restringida a contextos específicos o a laboratorios con capacidades tecnológicas particulares.

Los factores que influyen en la elección y aplicación de un método instrumental son la disponibilidad de recursos, el nivel de capacitación del personal y el contexto en el que se usa la tecnología. En entornos clínicos de alta demanda se prioriza la rapidez operativa, mientras que en toxicología forense y monitoreo especializado prevalece la necesidad de sensibilidad y selectividad elevadas.

En cuanto al desempeño comparativo de los principales métodos instrumentales, los hallazgos muestran que la superioridad analítica de LC-MS/MS frente a los inmunoensayos es consistente en todos los escenarios clínicos y forenses evaluados, especialmente en la detección de metabolitos glucurónidos, compuestos de diseño y concentraciones traza. Los inmunoensayos ofrecen ventajas operativas, pero su limitada sensibilidad y su incapacidad para discriminar analitos específicos reducen su utilidad más allá del cribado preliminar. Por lo tanto, la confirmación con métodos cromatográficos es indispensable cuando se requiere precisión diagnóstica, interpretación toxicológica o validez legal.

En conjunto, los hallazgos confirman que la selección del método depende de un equilibrio entre recursos, complejidad técnica y fines clínicos o forenses, estableciendo a LC-MS/MS como el estándar confirmatorio indispensable para asegurar mediciones precisas, reproducibles y legalmente válidas.

Referencias

- Abad, M. O. K., Masrournia, M., & Javid, A. (2023). Synthesis of novel MOF-on-MOF composite as a magnetic sorbent to dispersive micro solid phase extraction of benzodiazepine drugs prior to determination with HPLC-UV. *Microchemical Journal*, 197, 109797. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109797>
- Abduljabbar, M. H., Alnemari, R. M., Althobaiti, Y. S., Almutairi, F. M., Aldawsari, M. F., Alqarni, A. M., Serag, A., & Almalki, A. H. (2024). A novel colorimetric probe for urinary 7-aminoclonazepam analysis: Method development and optimization using factorial design. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 462, 116213. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2024.116213>
- Almofti, N., González-Rubio, S., Ballesteros-Gómez, A., Girela, E., & Rubio, S. (2023). Green nanostructured liquids for the analysis of urine in drug-facilitated sexual assault cases. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415, 2025–2035. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04358-z>
- Aly, S., Hennart, B., Gaulier, J., & Allorge, D. (2024). Effect of CYP2D6, 2C19, and 3A4 Phenoconversion in Drug-Related Deaths. *Toxics*, 12(4), 260. <https://doi.org/10.3390/toxics12040260>
- An, J., Dong, Z., Zhang, W., Yan, Y., Kang, W., & Lian, K. (2021). Development of a simple nanofiber-based solid phase extraction procedure coupled with high performance liquid chromatography analysis for the quantification of eight sedative-hypnotic drugs in human urine samples. *Microchemical Journal*, 168, 106475. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106475>

- An, J., Fan, L., Zhi, X., & Dong, Z. (2023). Quantification of sedative-hypnotics in human urine and plasma via polystyrene-based solid phase extraction-LC-MS/MS analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 236, 115753. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115753>
- An, J., Wang, X., Song, H., Zhao, T., Ren, H., Kang, W., Dong, Z., Niu, L., & Shi, H. (2022). Simultaneous determination of four sedative-hypnotics in human urine based on dendritic structured magnetic nanomaterials. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(12), 104363. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104363>
- Arndt, C., Huestis, M. A., Jarvis, H. C., & Gray, T. R. (2024). Assessment of urine drug screen utility at autopsy to predict laboratory postmortem blood toxicology. *Journal of Forensic Sciences*, 69(5), 1815–1825. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.15561>
- Brandt, J., Bressi, J., Lê, M., Neal, D., Cadogan, C., Witt-Doerring, J., Witt-Doerring, M., & Wright, S. (2024). Prescribing and deprescribing guidance for benzodiazepine and benzodiazepine receptor agonist use in adults with depression, anxiety, and insomnia: An international scoping review. *eClinicalMedicine*, 70, 102507. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2024.102507>
- Caballero-Casero, N., Mihretu, L. D., & Rubio, S. (2022). Interference-Free Method for Determination of Benzodiazepines in Urine Based on Restricted-Access Supramolecular Solvents and LC-MS-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 46(3), 285–294. <https://doi.org/10.1093/jat/bkab023>
- Clivillé-Cabré, P., Rosendo, L. M., Borrull, F., Aguilar, C., & Calull, M. (2024). A comparative study of SPE- and DLLME-based methods for the determination of opioids and benzodiazepines in urine samples using LC-MS/MS. *Microchemical Journal*, 208, 112354. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112354>
- Du, L., Xu, S., Wu, H., Zhao, T., Wang, X., & Wang, M. (2021). Facile Fabrication of Diatomite-Supported ZIF-8 Composite for Solid-Phase Extraction of Benzodiazepines in Urine Samples Prior to High-Performance Liquid Chromatography. *Molecules*, 26(17), 5209. <https://doi.org/10.3390/molecules26175209>
- Dubovsky, S. L., & Marshall, D. (2022). Benzodiazepines Remain Important Therapeutic Options in Psychiatric Practice. *Psychotherapy and Psychosomatics*, 91(5), 307–334. <https://doi.org/10.1159/000524400>
- Dujardin, S., Pijpers, A., & Pevernagie, D. (2020). Prescription Drugs Used in Insomnia. *Sleep Medicine Clinics*, 15(2), 133–145. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2020.02.002>
- Edinoff, A. N., Nix, C. A., Hollier, J., Sagrera, C. E., Delacroix, B. M., Abubakar, T., Cornett, E. M., Kaye, A. M., & Kaye, A. D. (2021). Benzodiazepines: Uses, Dangers, and Clinical Considerations. *Neurology International*, 13(4), 594–607. <https://doi.org/10.3390/neurolint13040059>
- Farley, M., Tran, H., Towler, S., Gevorkyan, J., Pearing, S., & Rodda, L. N. (2021). A Single Method for 127 Recommended and Additional DUID Drugs in Blood and Urine by LC-MS-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 46(6), 658–669. <https://doi.org/10.1093/jat/bkab075>
- Fu, S., Wang, B., Li, Y., Huang, Z., Shi, Z., Zuo, G., Zhao, J., Xu, H., & Wang, M. (2025). Ecofriendly and biocompatible biochars derived from waste-branches for direct and efficient solid-phase extraction of benzodiazepines in crude urine sample prior to LC-MS/MS. *Microchimica Acta*, 192, 66. <https://doi.org/10.1007/s00604-024-06912-1>
- García, M. G., Pérez-Cárceles, M. D., Osuna, E., & Legaz, I. (2021). Drug-facilitated sexual assault and other crimes: A systematic review by countries. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 79, 102151. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2021.102151>

- Ge, M., Alabi, A., Kelner, M. J., Fitzgerald, R. L., & Suhandynata, R. T. (2024). Evaluation of a Benzodiazepine Immunoassay for Urine Drug Testing in Clinical Specimens. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*, 9(6), 964–976. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfae083>
- Glover, S. J., & Allen, K. R. (2009). Measurement of benzodiazepines in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Confirmation of samples screened by immunoassay. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 47(2), 111–117. <https://doi.org/10.1258/acb.2009.009172>
- Goldschen-Ohm, M. P. (2022). Benzodiazepine Modulation of GABAA Receptors: A Mechanistic Perspective. *Biomolecules*, 12(12), 1784. <https://doi.org/10.3390/biom12121784>
- Gqamana, P. P., & Zhang, Y. V. (2023). High-Throughput Quantitative LC-MS/MS Analysis of Benzodiazepines in Human Urine. *Methods in Molecular Biology* (pp. 103–111). Uttam Garg. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3541-4_10
- Hsu, W., Chen, C., Liang, H., Chiang, T., Lin, H., & Lin, Y. (2023). Innovative analysis of diazepam, zolpidem and their main metabolites in human urine by micelle-to-solvent stacking in capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 239, 115898. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115898>
- Huppertz, B., Möller-Friedrich, S., & Baum, K. (2024). Matrix Effects of Urine Marker Substances in LC-MS/MS Analysis of Drug of Abuse. *Therapeutic Drug Monitoring*, 46(1), 118–126. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000001127>
- Ibarra, I. S., Vázquez-Garrido, I., Islas, G., & Flores-Aguilar, J. F. (2025). New Trends in the Methodologies of Determination of Benzodiazepine Residues in Biological Samples. *Separations*, 12(4), 95. <https://doi.org/10.3390/separations12040095>
- Jain, B., Jain, R., Kaur, S., Haque, S. K. M., Sharma, S., Ghoneim, M. M., & Al-Khateeb, L. A. (2024a). Multi-drug extraction using octanol supported rotating cellulose paper disc (RPD) device from complex biological matrices: Fabrication and application in forensic case work. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 41, 101724. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101724>
- Jain, B., Jain, R., Nowak, P. M., Ali, N., Ansari, M. N., Kabir, A., Chandravanshi, L. P., & Sharma, S. (2024b). Comparison of various sample preparation methods for benzodiazepines in terms of the principles of white analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 171, 117524. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117524>
- Jain, R., Jain, B., Ghosh, A., Basu, D., Kabir, A., Ali, N., AlAsmari, A. F., & Sharma, S. (2024c). In-tip-fabric phase sorptive extraction (In-tip-FPSE): A proof of concept study for on-site and in-laboratory sample preparation of antidepressants and benzodiazepines. *Microchemical Journal*, 203, 110851. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110851>
- Jinlei, L., Wurita, A., Xuejun, W., Hongkun, Y., Jie, G., & Liqin, C. (2020). Supramolecular solvent (SUPRASs) extraction method for detecting benzodiazepines and zolpidem in human urine and blood using gas chromatography tandem mass spectrometry. *Legal Medicine*, 48, 101822. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2020.101822>
- Kamal, H., Gandhi, V., Akil, L., Al-Tannak, N. F., Rattray, N. J. W., & Khadra, I. (2025). Development and Validation of an LC-MS/MS Method for the Simultaneous Determination of Alprazolam, Bromazepam, Clonazepam, Diazepam and Flunitrazepam in Human Urine and Its Application to Samples from Suspected Drug Abusers. *Molecules*, 30(17), 3451. <https://doi.org/10.3390/molecules30173451>

- Keung, K., Moore, A. J., Hoofnagle, A. N., Baird, G. S., & Liao, H. (2023). Benzodiazepine analysis by an improved LC-MS/MS method illustrates usage patterns in Washington State. *Clinica Chimica Acta*, 543, 117274. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117274>
- Laffafchi, F., Tajbakhsh, M., Sarrafi, Y., Ghani, M., & Maleki, B. (2022). Creatine@SiO₂@Fe₃O₄ nanocomposite as an efficient sorbent for magnetic solid-phase extraction of escitalopram and chlordiazepoxide from urine samples through quantitation via HPLC–UV. *Journal of Separation Science*, 45(15), 3005–3013. <https://doi.org/10.1002/jssc.202200305>
- Lape, E. C., Powers, J. M., Hooker, J. E., Edwards, R. R., & Ditre, J. W. (2022). Benzodiazepine Use and Dependence in Relation to Chronic Pain Intensity and Pain Catastrophizing. *The Journal of Pain*, 24(2), 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2022.09.019>
- Le, E., Helesbeux, M., Biering, V., Aquizerate, A., Rousselet, M., Barrangou-Pouey-Darlas, M., Verholleman, A., Dailly, E., Grégoire, M., Victorri-Vigneau, C., & Duval, M. (2025). Enhancing addiction care: Benefits of urinary screening with LC-HRMS (liquid chromatography-high resolution mass spectrometry) for psychoactive substances and drugs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 141, 111465. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2025.111465>
- Li, Z., Zhang, Z., Zhao, T., Meng, C., Zhang, Q., & Wang, M. (2020). In-situ fabrication of zeolite imidazole framework@hydroxyapatite composite for dispersive solid-phase extraction of benzodiazepines and their determination with high-performance liquid chromatography-VWD detection. *Microchimica Acta*, 187, 540. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04517-y>
- Li, Z., Lee, S., & Kannan, K. (2025). Simultaneous analysis of stimulants, opioids, gabapentin, xylazine, benzodiazepines, cannabinoids, and novel stimulants/hallucinogens in human urine. *Journal of Chromatography A*, 1763, 466461. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2025.466461>
- Liu, M., Wang, X., Zhang, D., Zhang, L., Pan, C., & Liu, H. (2023). Development and validation of LC–MS/MS methods for the determination of EVT201 and its five metabolites in human urine: Application to a mass balance study. *Journal of Chromatography B*, 1223, 123723. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2023.123723>
- 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 Lab*, 28, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jmsacl.2023.02.010>
- Magura, S., Lee-Easton, M. J., Abu-Obaid, R., Reed, P., Allgaier, B., Amaratunga, P., Lorenz-Lemberg, B., Levitas, M., & Achtyes, E. D. (2023). Comparing Presumptive with Direct-to-Definitive Drug Testing in Oral Fluid vs. Urine for a U.S. National Sample of Individuals Misusing Drugs. *Drug and alcohol dependence*, 250, 110894. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2023.110894>
- 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>
- Matsuo, T., Ogawa, T., Iwai, M., Kubo, K., Kondo, F., & Seno, H. (2024). Development of an LC–MS/MS method for the determination of five psychoactive drugs in postmortem urine by optimization of enzymatic hydrolysis of glucuronide conjugates. *Forensic Toxicology*, 42, 181–190. <https://doi.org/10.1007/s11419-024-00685-1>

- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
- Pérez, M., van, 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>
- Pope, J. D., Black, M. J., Drummer, O. H., & Schneider, H. G. (2021). Urine toxicology screening by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry in a quaternary hospital setting. *Clinical Biochemistry*, 95, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.05.004>
- Qriouet, Z., Qmichou, Z., Bouchoutrouch, N., Mahi, H., Cherrah, Y., & Sefrioui, H. (2019). Analytical Methods Used for the Detection and Quantification of Benzodiazepines. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2035492. <https://doi.org/10.1155/2019/2035492>
- Rausgaard, N. L. K., Ibsen, I. O., Fruekilde, P. B. N., Nohr, E. A., Damkier, P., & Ravn, P. (2024). Screening of substance use in pregnancy: A Danish cross-sectional study. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 103(7), 1408–1419. <https://doi.org/10.1111/aogs.14862>
- 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>
- Skov, K., Johansen, S. S., Linnet, K., & Nielsen, M. K. K. (2024). Automated enzymatic hydrolysis of urine samples for improved systematic toxicological analysis of drug-facilitated sexual assault cases. *Drug Testing and Analysis*, 16(11), 1254–1270. <https://doi.org/10.1002/dta.3640>
- Sofalvi, S., Lavins, E. S., Kaspar, C. K., Michel, H. M., Mitchell-Mata, C. L., Huestis, M. A., & Apollonio, L. G. (2020). Development and Validation of an LC-MS-MS Method for the Detection of 40 Benzodiazepines and Three Z-Drugs in Blood and Urine by Solid-Phase Extraction. *Journal of Analytical Toxicology*, 44(7), 708–717. <https://doi.org/10.1093/jat/bkaa072>
- Stelmaszczyk, P., Białkowska, K., & Wietecha-Posłuszny, R. (2024). Paper-supported polystyrene membranes for micro-solid phase extraction of date-rape drugs from urine: A sustainable analytical approach. *Analytica Chimica Acta*, 1316, 342874. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2024.342874>
- Tanaka, T., Yoshida, K., Kasai, K., Yoshizumi, S., & Sato, H. (2021). Assessment of Triage DOA®, Status DS10, and DRIVEN-FLOW® M8-Z on-site drug screening kits for postmortem urine. *Legal Medicine*, 54, 101993. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2021.101993>
- Tanaka, T., Yoshizumi, S., Kasai, K., Yoshida, K., & Sato, H. (2020). Efficacy of DRIVEN-FLOW® M7-II, a new on-site drug screening kit in postmortem urine compared with Triage DOA®. *Legal Medicine*, 48, 101804. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2020.101804>
- Tolan, N. V., Uljon, S., Donnelly-Morell, M., Zhao, M., Mahowald, G. K., Snyder, M. L., Contella, L., Urwiller, E. D., Fernandes, M., Kang, P., & Melanson, S. E. F. (2024). Despite the improved clinical sensitivity of the Roche benzodiazepines II assay it cannot replace mass spectrometry in all patient populations. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab*, 33, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.jmsacl.2024.06.002>
- 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>

Westland, J. L., & Dorman, F. L. (2013). QuEChERS extraction of benzodiazepines in biological matrices. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(6), 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2013.04.004>

Wu, D., & Fu, L. (2023). Recent findings and advancements in the detection of designer benzodiazepines: A brief review. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 74(4), 224–231. <https://doi.org/10.2478/aiht-2023-74-3771>

Yang, H., Li, L., Cao, H., Zhang, Z., Zhao, T., Hao, Y., & Wang, M. (2020). Silica supported metal organic framework 808 composites as adsorbent for solid-phase extraction of benzodiazepines in urine sample. *Microchemical Journal*, 157, 105062. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105062>

Zhang, S., Liu, H., Fu, D., Zhao, H., Zhang, D., & Lü, T. (2024). Spherical cellulose/chitosan aerogel-supported MOF-199 for the magnetic solid-phase extraction of benzodiazepines from urine. *Journal of Chromatography A*, 1735, 465347. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2024.465347>

Transparencia

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés de naturaleza alguna como parte de la presente investigación.

Fuente de financiamiento

Los autores financiaron completamente la investigación.

Contribución de autoría

Mónica Pilar Pala Tuapanta: Conceptualización, metodología, software, validación, análisis formal, investigación, visualización, redacción - preparación del borrador original, redacción - revisión y edición, financiamiento, administración del proyecto, recursos, supervisión.

Wilson Edwin Moncayo Molina: Conceptualización, metodología, validación, análisis formal, investigación, gestión de datos, redacción - preparación del borrador original, redacción - revisión y edición, financiamiento, recursos.

Los autores contribuyeron activamente en el análisis de los resultados, revisión y aprobación del manuscrito final.