JULIANA GALLOTTINI DE MAGALHÃES

**Análise de substâncias psicoativas em amostras de urina e de fluido
oral de motoristas de caminhão**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vilma Leyton

São Paulo
2020

JULIANA GALLOTTINI DE MAGALHÃES

**Análise de substâncias psicoativas em amostras de urina e de fluido
oral de motoristas de caminhão**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vilma Leyton

**São Paulo
2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Magalhães, Juliana Gallottini de
Análise de substâncias psicoativas em amostras de
urina e de fluido oral de motoristas de caminhão /
Juliana Gallottini de Magalhães. -- São Paulo, 2020.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Fisiopatologia Experimental.
Orientadora: Vilma Leyton.

Descritores: 1.Drogas ilícitas 2.Benzodiazepinas
3.Antidepressivos tricíclicos 4.Acidentes de trânsito
5.Saliva 6.Estradas

USP/FM/DBD-077/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família, que me incentiva a aprender sempre, e em especial à minha mãe, sem a qual ele não seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Professora Vilma Leyton pela oportunidade, orientação e ensinamentos.

Ao Professor Maurício Yonamine pelas aulas de Toxicologia e a colaboração.

Aos meus pais por me guiarem até aqui.

À minha irmã pelo exemplo de amor à ciência.

Ao meu noivo Daniel pelo companheirismo.

Aos colegas de laboratório pela amizade que tornou tudo mais fácil.

Ao Henrique e a Helena que me ajudaram muito, principalmente quando as coisas saíram erradas.

Ao Dr. Marcelo Filonzi pela assistência e disponibilidade em ajudar.

À Polícia Rodoviária Federal por viabilizar a coleta das amostras e entrevistas.

À CAPES por financiar o estudo.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

- Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).
- Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.
- Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	iv
Agradecimentos.....	v
Normalização adotada	vi
Lista de abreviaturas, símbolos e siglas	ix
Resumo	x
Abstract.....	xi
1. Introdução	1
1.1. Objetivos.....	3
2. Revisão da literatura	4
2.1. Década do trânsito da Organização da Nações Unidas 2011-2020 (ONU). 4	
2.2. Acidentes de trânsito no Brasil	5
2.3. Uso de substâncias psicoativas como fator de risco	7
2.4. Drogas de abuso	10
2.4.1. Anfetamina.....	10
2.4.2. Cocaína.....	12
2.4.3. Maconha	13
2.5. Medicamentos psicoativos.....	14
2.5.1. Benzodiazepínicos.....	15
2.5.2. Antidepressivos tricíclicos	18
2.6. Legislação brasileira.....	21
2.7. Urina e fluido oral para detecção de substâncias	22
3. Materiais e Métodos.....	25
3.1. Materiais.....	25
3.1.1. Equipamentos	25

3.1.2.	Reagentes e outros materiais	25
3.2.	Métodos.....	26
3.2.1.	Aspectos éticos	26
3.2.2.	Casuística	26
3.2.1.	Aplicação do questionário	26
3.2.2.	Coleta de materiais biológicos	27
3.2.3.	Triagem.....	28
3.2.4.	Confirmação.....	29
3.2.5.	Análise estatística	30
4.	Resultados	31
4.1.	Dados epidemiológicos e prevalência	31
4.1.1.	População	31
4.2.	Triagem	35
4.3.	Confirmação	35
4.4.	Análise estatística.....	37
5.	Discussão.....	40
5.1.	Perfil demográfico e dados da entrevista.....	40
5.2.	Drogas de abuso	41
5.3.	Medicamentos	43
6.	Conclusão	47
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa (Protocolo nº 005/16).....	48
	ANEXO B – Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa (Protocolo nº 006/16).....	49
	Anexo C – Questionário.....	50
	Anexo D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	51
	Referências bibliográficas*	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

ADT	Antidepressivo tricíclico
BZD	Benzodiazepínico
CG-EM	Cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas
CNT	Confederação Nacional de Transportes
CONTRAN	Conselho Nacional de Trânsito
CSR	Comandos de Saúde nas Rodovias
DP	Desvio Padrão
FDA	“U. S. Food and Drug Administration”
GABA	Ácido gama-aminobutírico
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
IPEA	Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada
LD	Limite de detecção
OMS	Organização Mundial de Saúde
PRF	Polícia Rodoviária Federal
SNC	Sistema nervoso central
SNGPC	Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UNODC	United Nations Office on Drugs and Crime

RESUMO

Magalhães JG. *Análise de substâncias psicoativas em amostras de urina e de fluido oral de motoristas de caminhão* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Acidentes de trânsito são responsáveis por cerca de 1,2 milhão de mortes ao ano na população geral, sendo principal causa mundial de morte entre pessoas jovens (15-29 anos). Um dos principais fatores de risco para ocorrência de acidentes de trânsito é o consumo de álcool e outras substâncias psicoativas pelo condutor. Entre essas substâncias psicoativas pode-se destacar drogas de abuso e alguns medicamentos. Estudos preliminares detectaram a presença de alguns desses compostos em amostras de urina de motoristas profissionais de caminhão. No entanto, o fluido oral tem sido mais utilizado como amostra em estudos de prevalência, por ser uma matriz biológica que possui relação direta com a presença de substâncias no sangue, além de sua coleta ser fácil e não invasiva. O objetivo desse estudo foi estudar a prevalência de uso de medicamentos (benzodiazepínicos e antidepressivos tricíclicos) e drogas de abuso (anfetamina, cocaína e maconha) através da análise de urina e fluido oral de motoristas profissionais de caminhão e comparar os resultados das análises toxicológicas em ambas as matrizes. Foram coletadas e analisadas 513 amostras de urina e 504 amostras de fluido oral. As amostras de urina apresentaram uma proporção maior de positividade para as substâncias analisadas (7,8%) quando comparadas às amostras de fluido oral (6,0%). Para as amostras de urina, 3,3% apresentaram resultado positivo para cocaína e 3,1% para anfetaminas. Para as amostras de fluido oral, a maioria apresentou resultados positivos para cocaína (3,8%), seguidos por anfetamina (1,4%). A ocorrência de resultados positivos para indicação de uso de maconha foi pequena. Nenhuma amostra de urina ou fluido oral apresentou resultados positivos para antidepressivos tricíclicos ou benzodiazepínicos na etapa de confirmação. Não foram observadas mudança nos hábitos de uso de drogas ilícitas dos motoristas, em comparação com estudos anteriores. O uso de antidepressivos tricíclicos e benzodiazepínicos não é comum nessa população. A urina e fluido não refletem a mesma informação e podem ser utilizadas em conjunto nos estudos para uma melhor compreensão do padrão de uso de substâncias psicoativas por motoristas de caminhão.

Descritores: Drogas ilícitas; Benzodiazepinas; Antidepressivos tricíclicos; Acidentes de trânsito; Saliva; Estradas.

ABSTRACT

Magalhães JG. *Analysis of psychoactive substances in urine and oral fluid samples from truck drivers* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

Traffic accidents are the leading cause of death worldwide among young people (15-29 years), accounting for about 1.2 million deaths a year in overall population. One of the major risk factors for traffic accidents is the use of alcohol and other psychoactive substances by drivers. Among these psychoactive substances, there are drugs of abuse and prescribed drugs, such as benzodiazepines and antidepressants, which can impair the driver's performance. Preliminary studies detected the presence of these medications in urine samples of professional truck drivers. Nevertheless, oral fluid has been used more frequently as sample in prevalence studies, since it is a biological matrix with direct relationship to the presence of substances in the blood, and has an easy and noninvasive collection. The aim of this study was to evaluate the prevalence of medications (benzodiazepines and tricyclic antidepressants) and drugs of abuse (amphetamine, cocaine and marijuana) in urine and oral fluid donated by professional truck drivers and to compare the results of toxicological analyzes in both matrices. Five hundred and thirteen urine samples and 504 oral fluid samples were collected and analyzed. Urine samples showed a higher proportion of positivity (7.8%) than those of oral fluid (6.0%). For urine samples, 3.3% tested positive for cocaine and 3.1% for amphetamines. For oral fluid samples, the majority showed positive results for cocaine (3.8%), followed by amphetamine (1.4%). The occurrence of positive results for indication of marijuana use was small. No urine or oral fluid sample tested positive for tricyclic antidepressants or benzodiazepines in the confirmation step. Compared to previous studies, there was no change in drivers' habits of illicit drug use. The use of tricyclic and benzodiazepine antidepressants is not common in this population. Urine and oral fluid do not reflect the same information and can be used together in studies to better understand the pattern of use of psychoactive substances by truck drivers.

Descriptors: Street drugs; Benzodiazepines; Antidepressive agents, tricyclic; Accidents, traffic; Saliva; Roads.

1. INTRODUÇÃO

Os acidentes de trânsito são um grave problema de saúde pública atual, principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. Além de estarem entre as principais causas de morte, os acidentes de trânsito podem causar lesões graves às vítimas e prejuízo patrimonial, o que acarreta um alto custo para a população. Os acidentes de trânsito são um problema de tamanha proporção que a Organização das Nações Unidas (ONU) declarou, em 2010, a Década de Ação para a Segurança no Trânsito (“Decade of Action for Road Safety 2011-2020”), com o objetivo de reduzir mundialmente em 50% o número de mortes por essa causa (WHO, 2015).

O primeiro passo para aplicação de políticas públicas para diminuir o número de acidentes de trânsito é reconhecer suas causas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) aponta como um dos principais fatores de risco para a ocorrência de acidente de trânsito, o consumo de substâncias psicoativas pelo motorista (WHO, 2015). Entre elas, destacam-se o álcool, drogas ilícitas como anfetaminas, maconha e cocaína, e medicamentos das classes dos benzodiazepínicos (BZDs), antidepressivos e opióides. Todas essas substâncias, por agirem no sistema nervoso central (SNC), podem alterar a capacidade motora e de percepção do usuário, comprometendo suas habilidades de execução de atividades como a direção (Drummer et al., 2004; Schulze et al., 2012).

Quando se trata de acidentes e consumo de substâncias psicoativas no trânsito, os motoristas de caminhão se enquadram como população de risco. Muitos deles fazem uso de drogas como alternativa para suportar as longas jornadas de trabalho necessárias para percorrer trechos longos em menor tempo. Além disso, em função das condições do trabalho, os motoristas de caminhão são mais propensos a apresentarem problemas como depressão e ansiedade, o que levaria a um tratamento com medicamentos psicoativos como antidepressivos e BZDs. No Brasil, os estudos de prevalência de uso de substâncias psicoativas são escassos, sendo que não há publicações quanto ao uso de medicamentos psicoativos por essa

parcela da população. Para conhecer a extensão do problema, é necessário, portanto, um estudo que avalie o uso de medicamentos como antidepressivos e BZDs capazes de alterar o desempenho dos motoristas de caminhão. (Giroto et al., 2014; Takitane et al., 2013; Leyton et al., 2012).

Os estudos de prevalência de uso podem ser realizados através de relatos em entrevistas ou de análise toxicológica de amostras biológicas doadas, sendo que elas são capazes de gerar resultados mais precisos, pois não dependem da veracidade da informação passada. A amostra de urina pode ser utilizada nesses estudos, uma vez que é facilmente coletada e de modo não invasivo. A urina, no entanto, não reflete se o indivíduo está sob o efeito da substância estudada no momento da coleta, uma vez que sua eliminação renal pode ocorrer após dias e até semanas depois do consumo dependendo do padrão de uso. Atualmente, o padrão ouro para determinar se um indivíduo está sob o efeito de alguma substância no momento da coleta é a análise toxicológica do sangue. Porém, por ser invasiva, a coleta do sangue implica em alta rejeição, além de necessitar de um profissional treinado para sua realização. Como alternativa, o fluido oral surge como amostra interessante e que tem sido cada vez mais usada. Além do fluido oral refletir a presença de substâncias no sangue, sua coleta é facilmente realizada e não invasiva, sendo, portanto, uma boa matriz de escolha para esse tipo de estudo (Gjerde et al., 2011; Drummer, 2006).

1.1.Objetivos

O objetivo desse trabalho é estudar a prevalência de uso de medicamentos (BZDs e antidepressivos tricíclicos) e drogas de abuso (anfetamina, cocaína e maconha) através da análise de urina e fluido oral de motoristas profissionais de caminhão, que transitam em rodovias federais localizadas no Estado de São Paulo, participantes de Comandos de Saúde nas Rodovias (CSR) promovidos pela Polícia Rodoviária Federal (PRF). Secundariamente, o trabalho visou comparar os resultados das análises toxicológicas no fluido oral com os resultados em amostras de urina coletadas dessa população.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Década do trânsito da Organização da Nações Unidas 2011-2020 (ONU)

Um relatório sobre segurança no trânsito da Organização Mundial de Saúde (OMS) publicado no ano de 2015 mostrou que ocorrem cerca de 1,2 milhão de mortes por ano ao redor do mundo em função de acidentes de trânsito, sendo uma das principais causas de morte. Para pessoas entre 15 e 29 anos, essa quantidade ultrapassa o número de mortes por suicídios, fazendo dos acidentes de trânsito a principal causa de morte (Figura 1) (WHO, 2015).

Figura 1 – Dez principais causas de morte entre pessoas jovens (15-29 anos de idade), em 2012. Adaptado de: WHO, 2015.

O número de mortes por acidentes de trânsito, além de ser elevado, tem crescido nos últimos anos. O relatório da OMS mais recente, publicado no ano de 2018, mostra que o número de mortes por acidentes de trânsito em número absoluto aumentou, passando para 1,35 milhão de mortes por ano, e a taxa de mortes proporcional ao número de habitantes continua estável. Segundo o relatório, as mudanças realizadas ao longo dos últimos anos para enfrentar esse

problema não foram suficientes para acompanhar o aumento da quantidade de veículos circulantes, principalmente em países pouco desenvolvidos e em desenvolvimento (WHO,2018).

Além de um grande número de mortes, os acidentes de trânsito também acarretam alto custo para as economias nacionais e para os sistemas de saúde, uma vez que afetam predominantemente a parcela ativa da população. Estima-se que as perdas econômicas relacionadas a mortes e lesões no trânsito chegam a 5% do PIB em países de média e baixa renda, grupo que inclui o Brasil (WHO,2015).

Considerando essa crescente epidemia que leva cada vez a um maior número de mortes ao redor do mundo, a ONU declarou em 2010 a Década de Ação para Segurança no Trânsito (“Decade of Action for Road Safety”), que teve início em 2011. O objetivo dessa iniciativa é reduzir o número de fatalidades em rodovias e no tráfego através de planos de ação adotados por diversos países. A meta estabelecida pela OMS é de uma redução de 50% das mortes por acidentes de trânsito no mundo até o fim de 2020 (WHO,2015; 2018).

2.2.Acidentes de trânsito no Brasil

No Brasil, os acidentes de trânsito foram responsáveis por cerca de 36 mil mortes em 2017 e mais de 204 mil vítimas de ferimentos graves em 2015, segundo dados do Ministério da Saúde (DATASUS, 2020). De acordo com a Confederação Nacional de Transportes (CNT) o sistema rodoviário ainda é o mais usado no país para o transporte de cargas e pessoas, com participação de 61% do total da movimentação (CNT, 2015), sendo que grande parte da frota nacional de veículos é composta por caminhões, contabilizando, em 2015, mais de 2,6 milhões de veículos (CNT, 2016).

As mortes por acidentes ocorridos em rodovias federais representam aproximadamente 20% do total, acumulando cerca de 6,2 mil mortes anuais (DATASUS, 2020). Um relatório publicado pelo Instituto de Pesquisa Econômica

Aplicada (IPEA, 2015) mostrou que, em 2014, ocorreram 169.163 acidentes em estradas federais por todo o país, levando a 8.227 mortes e 100 mil feridos. Os estados que apresentaram maiores índices na relação entre acidentes e quantidade de rodovias foram os estados de Espírito Santo, de Minas Gerais, do Paraná, do Rio de Janeiro, de Santa Catarina e de São Paulo (IPEA, 2015).

Em relação ao tipo de veículo envolvido em acidente, o mesmo relatório apontou que, em 2014, os automóveis apresentaram o maior índice de ocorrências (75,2%), seguido dos caminhões (33,4%) e motocicletas (18,6%) (Figura 2). Já em relação à gravidade dos acidentes ocorridos, o relatório mostra que as motocicletas são as maiores responsáveis por causar acidentes com vítimas fatais, ocorrendo morte em 7,3% dos casos. Nesse índice, os caminhões aparecem em terceiro lugar, apresentando 6,3% de mortes nos acidentes (Figura 3) (IPEA, 2015).

Figura 2 – Tipos de veículos envolvidos em acidentes com vítimas fatais e com lesões graves, em 2014 (em %).

Fonte: IPEA (2015).

Figura 3 – Número de feridos graves por mortes, número de acidentes por cada acidente com vítima fatal ou com lesão grave e porcentagem de mortes por acidente, classificados por tipo de veículo.

Fonte: IPEA (2015).

O relatório do IPEA também mostrou que o custo dos acidentes que ocorreram em rodovias federais no ano de 2014 foram altos, chegando a 12,3 bilhões de reais, incluindo danos às vítimas, como gastos em saúde e perda de produção, e aos veículos automotivos, como danos materiais e perdas de cargas. Foi estimado que, neste ano, gastou-se, em média, R\$ 72.705,31 por acidente, sendo que esse valor sobe para R\$ 646.762,94 em casos de acidentes com mortes (IPEA, 2015).

Considerando a grande quantidade de caminhões circulantes em rodovias federais e a alta taxa de acidentes envolvendo esse tipo de veículo, o estudo desse grupo quanto à segurança no trânsito é de suma importância.

2.3. Uso de substâncias psicoativas como fator de risco

Os fatores de risco para acidentes de trânsito podem estar associados ao condutor, ao veículo, como sua preservação, ou às condições do ambiente, como infraestrutura das estradas e condições climáticas. Autores sugerem que a maioria dos acidentes de trânsito estejam relacionados às condições do condutor (Lardelli-Claret et al., 2003).

Entre os fatores de risco associados ao condutor, destacam-se cinco pontos principais que devem ser considerados: velocidade, direção sob o efeito de álcool, não utilização de capacetes em motocicletas, cinto de segurança e equipamentos de segurança para crianças. Acredita-se que, controlando esses fatores, é possível diminuir drasticamente as taxas de mortes em acidentes de trânsito (WHO, 2015).

A associação do uso de substâncias psicoativas e direção possui grande destaque entre a classe de motoristas profissionais. As precárias condições de trabalho dos motoristas de caminhão, que incluem longas jornadas com poucas horas de sono para se chegar rapidamente ao destino, leva à propensão ao uso de algumas substâncias. No Brasil, as anfetaminas, a cocaína e a maconha também são as drogas ilícitas mais utilizadas por essa população, pois acabam sendo um meio de aliviar os incômodos que as longas horas de trabalho ininterruptas podem causar (Giroto et al., 2014; Takitane et al., 2013; Leyton et al., 2012). Estudos preliminares também detectaram a presença de medicamentos, principalmente antidepressivos tricíclicos e BZDs, em amostras de urina de motoristas de caminhão no Estado de São Paulo (Takitane et al., 2015). O uso dessas substâncias pode estar relacionado ao tratamento de condições psicológicas às quais esses profissionais estão mais susceptíveis, como depressão e ansiedade (Silva-júnior, 2009).

O álcool é a principal substância psicoativa estudada em casos de envolvimento em acidentes de trânsito, porém estudos também destacam a influência do uso de outras substâncias psicoativas por condutores de veículos no aumento dos riscos de acidentes (Drummer et al., 2001; Schulze et al., 2012). Entre as principais substâncias psicoativas capazes de alterar significativamente o desempenho na direção, destacam-se algumas drogas ilícitas que agem no SNC. As anfetaminas, a maconha e a cocaína foram as drogas mais identificadas em estudos com motoristas nos mais diversos países, como Dinamarca (Simonsen et al., 2012), Itália (Ricci et al., 2008), Espanha (Gómez-Talegón et al., 2012), Hungria (Insititóris et al., 2013) e Estados Unidos (Lacey, 2009). Esse padrão de consumo também é

observado em estudos realizados no Brasil (Boni et al., 2011; Pechansky et al., 2010; Takitane et al., 2013; Bombana et al., 2017).

Além do álcool e das drogas ilícitas, alguns medicamentos também podem alterar significativamente o desempenho do motorista e, portanto, a segurança na direção de um veículo. Na maioria dos estudos de prevalência, a classe de medicamentos mais encontrada em análises de amostras biológicas de condutores de veículos é a de BZDs (Schulze et al., 2012; Ricci et al., 2008; Gómez-Talegón et al., 2012; Insititóris et al., 2013; Lacey, 2009). Os BZDs são depressores do SNC e, portanto, causam letargia e sonolência, afetando o desempenho do motorista (Verster et al., 2004). Outras classes de medicamentos atuantes no SNC, como barbitúricos, antidepressivos, opiáceos e anti-histamínicos também podem causar como efeitos secundários letargia, sonolência e dificuldade de coordenação, atrapalhando uma direção segura (Schulze et al., 2012; Lacey, 2009).

Um estudo de meta-análise publicado em 2013 revisou artigos que correlacionavam acidentes de trânsito e uso de substâncias psicoativas e chegou à conclusão de que o uso de BZDs pelo condutor chega a dobrar o risco de envolvimento em acidente de trânsito fatal. Além disso, esse estudo também avaliou os riscos associados ao uso de outros medicamentos, como os antidepressivos, que elevam o risco de acidentes com lesão em 1,39 vezes (Elvik, 2013).

Há poucos estudos no Brasil que relacionam o uso de medicamentos psicoativos com acidentes e riscos no trânsito. Um deles foi um levantamento realizado entre os anos de 2008 e 2009 em vítimas fatais de acidentes de trânsito que foram necropsiadas no Departamento Médico Legal de Porto Alegre. Os exames toxicológicos dessas vítimas evidenciaram substâncias indicativas de uso de maconha em 5% e de cocaína em 3% dos casos analisados. A terceira classe de substâncias mais encontrada foi a dos BZDs, aparecendo em 2% dos casos (Pechansky et al., 2010). O mesmo grupo também realizou análises em amostras de motociclistas acidentados em salas de emergência de Porto Alegre e encontrou maior prevalência de uso das mesmas três substâncias: maconha em 13,5%,

cocaína em 9,2% e BZDs em 3,2% das vítimas (Breitenbach et al., 2011). Não foram encontrados trabalhos sobre o uso de antidepressivos por motoristas de veículos automotores em território nacional.

2.4. Drogas de abuso

2.4.1. Anfetamina

As anfetaminas são consideradas drogas sintéticas pois são fabricadas por sínteses químicas. O primeiro composto anfetamínico foi sintetizado no final do século XIX, no entanto começou a ser utilizado como fármaco apenas na década de 1920. As anfetaminas começaram então a ser utilizadas para o tratamento da obesidade, narcolepsia e em descongestionantes nasais. Também foram muito utilizadas na Segunda Guerra Mundial por militares para retardar a fadiga de soldados. Na década de 1940 surgiram os primeiros relatos de uso abusivo dessas substâncias (Drummer, 2001).

As anfetaminas atuam em receptores α e β -adrenérgicos como agonistas e como inibidores da enzima monoaminoxidase, agindo como estimulantes dos sistemas nervoso central e periférico. O consumo dessas substâncias em menores doses causa sensação de bem-estar, melhora do humor e redução da fadiga. Em doses maiores as anfetaminas podem causar tremores, hipertermia, aumento da pressão arterial, taquicardia e vômitos. Alguns compostos também podem levar a distúrbios psíquicos como alucinações e paranoia (Oga, 2008; Takitane, 2014).

Os compostos anfetamínicos formam um grupo de substâncias da classe das feniletilaminas e abrangem a anfetamina e seus derivados (Siegel, 2013). Sua estrutura química geral está representada na Figura 4, na qual os radicais R_1 a R_7 representam as substituições que dão origem aos diferentes compostos da classe (Takitane, 2014).

Administradas oralmente, na forma de comprimidos ou pós, os compostos anfetamínicos são rapidamente absorvidos no trato gastrointestinal. Os compostos sofrem biotransformação gerando como produto a anfetamina, porém cerca de 30%

da dose ingerida é excretada inalterada na urina. A meia vida dessa classe de compostos varia de acordo com as substituições dos radicais, indo de aproximadamente 11 a 15 horas (Drummer, 2001).

Figura 4 – Estrutura geral dos compostos anfetamínicos, na qual os radicais R_1 a R_7 representam as substituições que dão origem aos diferentes compostos da classe. No caso da anfetamina, todos os radicais são átomos hidrogênio, exceto o R_7 que é substituído por uma metila (CH_3).

Muitos compostos anfetamínicos são utilizados como medicamentos para tratamento de morbidades como Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade, alguns casos de depressão e obesidade (Takitane, 2014). No Brasil, a regulamentação dessa classe de substância em medicamentos foi sujeita a uma série de alterações ao longo dos anos. Em 2011, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária proibiu a produção e comercialização de inibidores de apetite contendo compostos que são metabolizados em anfetaminas, como o femproporex e a dietilpropiona. A proibição do femproporex durou até 2014, quando a sua produção e comercialização passaram a ser permitidas, desde que sua eficácia e a segurança fossem devidamente registradas (Brasil, 2014).

Apesar da restrição, esses medicamentos continuam sendo utilizados como estimulantes por indivíduos que visam se manter alertas por mais tempo, possuem potencial abusivo e podem causar dependência (Siegel, 2013).

2.4.2. Cocaína

A cocaína é um alcaloide presente nas folhas da *Erythroxylum coca*. Essa planta é nativa de regiões andinas da América de Sul e os primeiros relatos de sua utilização datam de 2500 anos a.C. Após a chegada dos espanhóis na região, o uso da folha de coca se popularizou e ainda hoje são mascaradas por nativos das regiões do Peru e Bolívia. No século XIX a cocaína passou a ser utilizada como “fármaco milagroso” para diversas enfermidades, como depressão e asma, e foi pela primeira vez isolada da planta como cloridrato de cocaína. Os efeitos nocivos da droga, como dependência e toxicidades passaram a ser relatados no início do século XX (Ferreira e Martini, 2001).

Além de ingerida, a cocaína pode ser administrada via respiratória por inalação do vapor da droga na forma de base livre, ou *crack*. Na forma de cloridrato de cocaína, como pó branco solúvel em água, a droga pode ser inalada ou injetada. Após administrada, a cocaína é rapidamente absorvida e seu efeito começa rapidamente, em cerca de um minuto para as formas inaladas e intravenosa. O efeito da droga dura de 30 minutos a 2 horas dependendo de sua via de administração (Prosser e Hoffman, 2015).

A cocaína age no SNC como estimulante sobre os transportadores de recaptura de monoaminas (dopamina, norepinefrina e serotonina), aumentando suas concentrações na fenda sináptica. Ela causa euforia e outros sintomas de ativação do sistema simpático como aumento das frequências cardíaca e respiratória (Howell e Kimmel, 2008).

A metabolização da cocaína se dá via hepática e por hidrólise espontânea. Os principais produtos de biotransformação da cocaína são a benzoilecgonina, a ecgoninamtiléster e a norcocaína (Figura 5), cujas eliminações se dão principalmente pela urina. Uma baixa porcentagem da droga é excretada na urina na forma inalterada (Prosser e Hoffman, 2015).

Figura 5 – Estruturas moleculares da cocaína e de seus principais produtos de biotransformação.

Atualmente, o uso abusivo de cocaína é considerado um problema de saúde pública. Segundo o III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira realizado em 2017, no Brasil, a cocaína em sua forma de sal e em base livre (*crack*) foram as segunda e terceira droga de abuso que mais foram relatadas como sido utilizadas nos últimos 12 meses e últimos 30 dias. (INPAD, 2017).

2.4.3. Maconha

A maconha é o nome popular brasileiro para a droga derivada de duas espécies de plantas do gênero *Cannabis*: *Cannabis indica* e *Cannabis sativa*. Ambas as espécies possuem uma série de compostos ativos, sendo os principais do grupo dos canabinóides: canabidiol e Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC). A maior diferença para os efeitos farmacológicos entre as duas espécies diferentes é a proporção desses dois compostos ativos. A *Cannabis indica* possui maior proporção na quantidade entre canabidiol e THC comparada à *Cannabis sativa*. O canabidiol é muito utilizado na terapêutica como fármaco para diversas patologias, como epilepsia e Alzheimer (Friedman, 2015). Já o THC (Figura 6) é conhecido por suas

propriedades psicotrópicas como sensação de bem-estar, alteração do humor e alucinação, efeitos desejados no uso recreacional da maconha (Dewey, 1986).

A maconha pode ser administrada via inalatória, através da queima dos fragmentos vegetais processados derivados da *Cannabis*, ou via oral. Quando absorvidos, os canabinóides atuam nos receptores do sistema endocanabinóide, causando distúrbios no SNC (Dewey, 1986; Friedman, 2015). O THC é metanolizado no fígado e, por ser lipofílico (log P), possui uma meia-vida longa, podendo chegar a mais de 10 dias. A maior parte de seus metabólitos não eliminados nas fezes, sendo uma pequena parte eliminada na urina (Grotenhermen, 2003).

De acordo com o III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira de 2017, a maconha é a droga ilícita mais utilizada no país. Cerca de 3,8 milhões de pessoas entre 12 e 65 anos de idade relataram ter feito uso de maconha nos últimos 12 meses. Dessa mesma população, 2,2 milhões de pessoas relatara, ter usado a droga nos últimos 30 dias (INPAD, 2017).

Figura 6 – Estrutura molecular do Δ^9 -tetrahydrocannabinol, principal princípio psicoativo da maconha.

2.5. Medicamentos psicoativos

Segundo dados do Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados (SNGPC), o consumo no Brasil de alguns medicamentos controlados, como os BZDs e antidepressivos tricíclicos citados anteriormente, tem crescido a

uma taxa elevada nos últimos anos (Figura 7). No último levantamento realizado pelo SNGPC em 2011, o BZD clonazepam apareceu como o medicamento controlado mais vendido no país (SNGPC, 2011). Um estudo mais recente sobre o uso de BZDs no Brasil publicado em 2016 mostrou que o uso desses medicamentos continuou crescente até o ano de 2012 (Azevedo, 2016).

Figura 7 – Evolução do consumo de quatro dos principais princípios ativos controlados vendidos no Brasil, entre os anos de 2007 e 2010. Adaptado de SNGPC, 2011. Dados de 2008 e 2009 da amitriptilina obtidos por projeção.

2.5.1. Benzodiazepínicos

Os BZDs foram introduzidos na terapêutica na década de 1960 e desde então se tornaram uns dos medicamentos mais utilizados no mundo (WHO, 1996). São fármacos ansiolíticos com atividade sedativa e hipnótica. Eles são utilizados para tratar transtornos de ansiedade, insônia e também como anticonvulsivantes, relaxantes musculares e pré-anestésicos (Kapczinski, 2011).

A ação depressora do SNC dos BZD se deve a sua interação com os receptores GABAérgicos presentes no SNC. A sua ligação com o receptor causa um aumento da afinidade do neurotransmissor GABA, e acaba levando a um maior influxo de íons cloreto e à hiperpolarização da membrana neuronal, o que leva à inibição da excitação celular. Por terem ação dependente do GABA, os BZD possuem uma maior margem de segurança do que outros fármacos com atividade similar, como

os barbitúricos, cuja ação independe da ligação do neurotransmissor e, por isso, acabam sendo mais prescritos (Almeida, 2008).

O nome dessa classe tem origem na molécula dos compostos que têm como estrutura comum um anel benzênico fundido a uma diazepina (heterocíclico de sete membros com dois nitrogênios) (Bernik, 1999), como pode ser observado nos exemplos ilustrados na Figura 8. Os BZDs possuem valores de pKa baixos, em torno de 2, correspondentes à protonação do nitrogênio da diazepina que faz dupla ligação, deixando a molécula com carga, o que faz com que sejam classificadas como bases fracas. Alguns deles, como o bromazepam, clonazepam e oxazepam, são anfóteros por apresentarem também característica ácida fraca, possuindo um segundo valor de pKa em torno de 11, correspondente à desprotonação da amina secundária da diazepina desses compostos. A maioria dos BZDs são levemente apolares, com o coeficiente de partição octanol/ água variando entre 2 e 3 (Ugland, 2003; Persona, 2015).

Figura 8 – Estrutura química, coeficiente de partição octanol/água (log P) e pKa de cinco BZDs: alprazolam, bromazepam, clonazepam, diazepam e oxazepam. (DrugBank, 2016; Persona, 2015)

Quando administrados oralmente, os BZDs são absorvidos no intestino, possuindo alta biodisponibilidade, e passam rapidamente a barreira hematoencefálica, atingindo o SNC. O tempo até a concentração plasmática máxima varia muito entre a classe, podendo ser atingida em minutos a até após algumas horas. Os BZDs apresentam um alto volume de distribuição e são altamente ligados a proteínas plasmáticas (82-99%), quando na circulação sistêmica (Riss, 2008). O tempo de eliminação e meia-vida dos BZDs também variam muito. De acordo com seu tempo de ação, eles podem ser classificados em três grupos: de ação curta (meia-vida de até 10 horas), como o alprazolam e o oxazepam; intermediária (meia-vida entre 10 e 24 horas), como o clonazepam e o bromazepam; ou longa (meia-vida de mais de um dia), que seria o caso do diazepam (UNODC, 1997).

A diferença do tempo de ação dos BZDs se deve principalmente aos seus produtos de biotransformação ativos e respectivas meias-vidas. A biotransformação dos BZDs se sucede em duas fases. A primeira ocorre no fígado, pelas enzimas do citocromo P450 e envolvem principalmente reações de oxidação. A maioria dos metabólitos oxidados é ativa. O diazepam, por exemplo, antes de ser eliminado, é metabolizado para o oxazepam que também é comercializado como fármaco original. Após a oxidação, os metabólitos sofrem conjugação com o ácido glucurônico por enzimas específicas e são excretados (Mandrioli, 2008). Os principais produtos de biotransformação dos cinco BZDs ilustrados acima e suas vias estão representados na Figura 9.

Figura 9 – Principais vias de biotransformação de cinco BZDs: alprazolam, clonazepam, bromazepam, diazepam e oxazepam (Mandrioli, 2008).

2.5.2. Antidepressivos tricíclicos

O uso de antidepressivos tricíclicos (ADTs) para o tratamento da depressão começou no final da década de 50, com a introdução da imipramina no mercado europeu. Em 1961, a amitriptilina foi aprovada pelo “*Food and Drug Administration*” (FDA) e começou a ser comercializada nos EUA, seguida de diversos outros ADTs. Até a década de 90, antes dos inibidores seletivos da recaptura de serotonina, os ADTs eram o padrão ouro para o tratamento da depressão, porém ainda continuam sendo muito utilizados não apenas como antidepressivos, mas também no tratamento de transtornos obsessivos compulsivos e tratamento de dores (Fangmann, 2008). A amitriptilina estava entre os medicamentos mais prescritos nos EUA em 2002 e, no Brasil, em 2010, aparecia como o quarto medicamento controlado mais vendido (Fangmann, 2008; SNGPC, 2011).

O efeito terapêutico dos ADTs se dá pelo bloqueio da recaptura de monoaminas nos respectivos receptores pré-sinápticos de norepinefrina e serotonina (5-HT) do SNC. Os ADTs também agem em receptores pós-sinápticos muscarínicos,

histaminérgicos 1 e α_2 , β -adrenérgicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos. A ação pós-sináptica está diretamente relacionada com os efeitos adversos dessa classe de medicamentos. A ação anti-histamínica, por exemplo, causa efeitos muito comuns como sonolência, fadiga, sedação e tontura. (Moreno; Moreno; Soares, 1999; Meister, 2016)

Essa classe de medicamentos recebe esse nome em função da estrutura química dos compostos. Como pode ser observado na Figura 10, as moléculas são compostas por dois anéis benzênicos separados por um anel de sete membros. Além do sistema tricíclico, esses antidepressivos possuem uma porção alifática com uma amina terciária ou secundária. Essa amina pode ser protonada, conferindo características básicas a essa classe, que possui valores de pK_a variando entre 9 e 10. Os ADTs são relativamente apolares, com coeficientes de partição octanol/água ($\log P$) em torno de 5.

Figura 10 – Estrutura química, coeficiente de partição octanol/água ($\log P$) e pK_a de quatro antidepressivos tricíclicos: amitriptilina, clomipramina, imipramina e nortriptilina. (DrugBank, 2016)

Os ADTs são facilmente absorvidos no intestino delgado quando administrados oralmente, atingindo o pico de concentração plasmática entre 2 e 6 horas, sendo que a concentração terapêutica no plasma deve estar entre 30 e 500 ng/mL. São altamente ligados a proteínas plasmáticas (90-95%) e possuem alto volume de distribuição (Gillman, 2007). A metabolização dos ADTs também ocorre principalmente no fígado e é dividida em duas fases. A primeira delas envolve reações de desmetilação das aminas alifáticas terciárias e de hidroxilação nos anéis aromáticos, catalisadas pelas enzimas do citocromo P450, que acabam gerando produtos de biotransformação ainda ativos (Figura 11). Alguns desses produtos de biotransformação, como a nortriptilina e a desipramina, originados da amitriptilina e imipramina respectivamente, também são vendidos como medicamentos próprios. Após essas biotransformações, os produtos sofrem conjugação com o ácido glucurônico para eliminação renal, sendo que menos de 5% das moléculas são eliminadas de forma inalterada. A meia-vida de eliminação dos ADTs é de aproximadamente um dia (Rudorfer e Potter, 1999).

Figura 11 – Principais vias de metabolização de cinco antidepressivos tricíclicos: amitriptilina, nortriptilina, imipramina, desipramina e clomipramina (Rudorfer e Potter, 1999).

2.6. Legislação brasileira

O Código de Trânsito Brasileiro estabelece, de acordo com a Lei nº 12.760, de 20 de dezembro de 2012, conhecida como “nova lei seca”, como infração gravíssima “dirigir sob a influência de álcool ou de qualquer outra substância psicoativa que determine dependência”. A mesma lei estipula como crime, punível com pena de detenção, a condução de “veículo automotor com capacidade psicomotora alterada em razão da influência de álcool ou de outra substância psicoativa que determine dependência”. A concentração máxima de álcool permitida criminalmente para a condução de veículos é estipulada como 6 dg por litro de sangue ou 0,3 mg por litro de ar alveolar, no entanto, sinais que indiquem alteração na capacidade de dirigir do condutor também podem constatar o crime. A “nova lei seca” ainda determina que o consumo de álcool e outras substâncias que altere a capacidade de dirigir do motorista pode ser comprovado por vídeo e provas testemunhais, além dos testes de alcoolemia e exames periciais (Brasil, 2015).

Apesar da legislação brasileira incluir o termo “outras substâncias psicoativas” nos mesmos artigos que tratam do consumo de álcool, ela não determina especificamente as substâncias que devem ser consideradas. Além disso, não são estabelecidos limites de concentração que devem ser constatados e nem modos de detecção dessas substâncias para que se cumpra os dispostos nos artigos de crime e infração de trânsito (Brasil, 2015).

Ainda em relação ao uso de substâncias psicoativas, em 2 de março de 2015, foi publicada a Lei 13.103 que passou a exigir um “exame toxicológico de larga janela de detecção para consumo de substâncias psicoativas, exigido quando da adição e renovação da habilitação nas categorias C, D e E” (CONTRAN, 2015).

Apesar de tentar abranger o problema do uso de outras substâncias psicoativas por condutores de veículos, a Lei é controversa e apresenta muitas implicações. O exame toxicológico que deverá ser exigido no caso é a detecção de algumas substâncias em amostras de cabelo e, quando não for possível, de unha ou pelos, de modo a possuir a larga janela de detecção. Além desse tipo de teste ser caro,

ele possui muitas limitações, como influência do meio ambiente e da composição biológica dos fios de cabelo (Leyton, et al. 2015; 2018).

Ao contrário do Brasil, os países que possuem uma política de fiscalização do uso de substâncias no trânsito adotam legislações que possuem uma abordagem de testes toxicológicos para uso recente de drogas, utilizando outras matrizes biológicas, como urina, sangue e fluido oral. Para a aplicação dessa abordagem de detecção de drogas *per se* é necessário estabelecer limites legais de concentração e métodos de detecção de diversas substâncias, como é estipulado para o álcool no atual Código de Trânsito Brasileiro (DuPont et al., 2012; Veisten et al., 2013).

2.7. Urina e fluido oral para detecção de substâncias

Grande parte dos estudos epidemiológicos que envolvem a análise toxicológica de substâncias utilizaram a urina como matriz de escolha (Takitane, 2014). A urina é uma boa matriz de escolha, pois a maioria das substâncias exógenas são eliminadas via renal, inalteradas ou biotransformadas (Oga et al., 2008). A amostragem da urina também é simples e não invasiva, e sua manipulação em laboratório bem como preparação amostral são fáceis e baratas. No entanto, amostras de urina são mais facilmente adulteradas, principalmente se sua coleta não for assistida (Siegel et al., 2013).

Desde o começo do século XXI, o fluido oral tem ganhado destaque como matriz biológica para a detecção do uso de drogas de abuso e outras substâncias psicoativas em estudos de prevalência (Gjerde et al., 2001, 2010). O fluido oral também foi a matriz de escolha em projetos grandes sobre o uso de substâncias psicoativas no trânsito, como o “National Roadside Survey of Alcohol and Drug Use by Drivers” realizado em 2007 nos EUA (Lacey et al., 2009), o projeto DRUID – Driving Under Influence of Drugs - de 2012 que envolveu diversos países europeus (Schulze et al., 2012) e o estudo brasileiro publicado pelo SENAD em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul em 2010 (Boni et al., 2011).

Apesar de o exame toxicológico em amostras de sangue ser o padrão ouro para comprovação do uso de substâncias em termos legais, o fluido oral tem sido a principal matriz de escolha em estudos recentes de prevalência por suas diversas vantagens, sumarizadas no Quadro 1. Ao contrário do sangue, a coleta de fluido oral não é invasiva e, portanto, é menos rejeitada por voluntários, e é realizada mais facilmente (Gjerde et al., 2011; Drummer, 2006). Além disso, a detecção de uma substância nessa matriz está diretamente relacionada com sua presença no sangue e, portanto, com o fato de o indivíduo estar sob sua influência no momento da coleta (Gjerde et al., 2014; Vindenes et al., 2012). Isso ocorre, pois, as glândulas salivares, produtoras do maior componente do fluido oral, são altamente perfundidas, permitindo uma rápida transferência de molécula do sangue para a saliva (Cone; Huestis, 2007).

Quadro 1 – Comparação entre diversas matrizes biológicas para identificação do uso de substâncias psicoativas (Gjerde et al., 2011; Drummer, 2006).

	Sangue	Fluido oral	Urina	Cabelo
Janela de detecção	Horas	Horas	Dias	Meses
Invasão/ intrusão	Sim	Não	Sim	Sim
Potencial de adulteração	Baixo	Baixo	Alto	Médio
Taxa de Recusa	Alta	Baixa	Média	Média
Potencial para falso negativo	Baixo	Médio	Baixo	Médio
Preparo da amostra	Difícil	Fácil	Médio	Difícil
Custo analítico	Médio	Baixo	Baixo	Alto

Se comparada à urina, o fluido oral possui muitas vantagens em relação à dificuldade de adulteração, em função da facilidade de vigilância durante o ato da coleta. Além disso, não são conhecidos adulterantes eficientes e as condições externas como consumo de comidas e bebidas não parecem alterar significativamente o estado do fluido oral quanto à presença das substâncias (Wong et al., 2005). O fluido oral também apresenta maior aceitabilidade pelos indivíduos submetidos à testes toxicológicos, se comparado à urina e cabelo, por sua coleta ser mais rápida, fácil e não invadir a privacidade (Maccall et al., 2013; Fendrich et al., 2004).

Apesar de ser menos susceptível a alterações externas, a concentração de substâncias no fluido oral pode variar de indivíduo para indivíduo em decorrência de fatores fisiológicos, como o pH, e da própria substância, como pKa e lipofilicidade (Drummer, 2006; Cone, Huestis, 2007). Também foram observadas variações de concentrações em função da utilização de estímulos para salivação durante a coleta (Drummer, 2006). Isso dificulta a determinação de uma razão entre concentrações para estimar a quantidade exata de determinada substância no sangue a partir da análise no fluido oral (Gjerde; Verstraete, 2011). No entanto, análises semi-quantitativas no fluido oral são eficientes e capazes de detectar as drogas de abuso ou substâncias psicoativas presentes no sangue (Gjerde, Verstraete, 2011; Vindenes et al., 2012). Algumas substâncias, inclusive, são detectáveis mais facilmente na sua forma inalterada no fluido oral do que na urina, como é o caso dos BZDs (Allen, 2011).

O fluido oral, portanto, é uma boa opção de matriz biológica, podendo substituir a urina, principalmente para estudos e controle do uso de substâncias psicoativas no trânsito, uma vez que as amostras nesses casos são coletadas facilmente em locais com pouca infraestrutura (Vindenes et al., 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

3.1.1. Equipamentos

- Leitor de microplaca SpectraMax® M2/M2, da Molecular Devices;
- Cromatógrafo a gás modelo GC 2010 acoplado a espectrômetro de massas quadrupolo modelo QP 2010, marca Shimadzu;
- Agitador magnético com aquecimento, RT10 Power, marca IKA™.
- Cromatógrafo líquido acoplado a espectrômetro de massas em tandem modelo LCMS-8050, marca Shimadzu;

3.1.2. Reagentes e outros materiais

- Os coletores de fluido oral (Quantisal®) foram obtidos da Immunalysis (Pomona, Califórnia, EUA);
- Os kits de imunoensaios (ELISA) utilizados na etapa de triagem do fluido oral foram obtidos da Immunalysis (Pomona, Califórnia, EUA);
- Os kits de imunoensaio “MultiDrogas 10 Teste Rápido” utilizados na etapa de triagem da urina foram obtidos da “Inlab, Brasil”.
- Os padrões de referência de cocaína, benzoilecgonina, anfetamina, 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinoldiazepam, alprazolam, bromazepam, clonazepam, oxazepam, amitriptilina, nortriptilina, imipramina e clomipramina na concentração de 1 mg/mL de metanol foram obtidos da “Cerilliant Corporation” (Round Rock, Texas, EUA);
- Os padrões internos deuterados benzoilecgonina-d3, anfetamina d-5, 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol carboxílico-d-3, oxazepam-d5 e imipramina-d3 na concentração de 0,1 mg/mL foram obtidos da “Cerilliant Corporation” (Round Rock, Texas, EUA);

- Os solventes e sais foram obtidos da Merck (DarmstATC, Alemanha);

3.2. Métodos

3.2.1. Aspectos éticos

O projeto do presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em sessão do dia 17/02/2016, sob protocolo nº 005/16 (Anexo A). A análise e coleta de urina também foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob o protocolo nº 060/16 (Anexo B).

3.2.2. Casuística

As amostras analisadas nesse estudo foram coletadas durante os Comandos de Saúde em Rodovias (CSR), que ocorrem quatro vezes ao ano em datas e locais estipulados pela Polícia Rodoviária Federal (PRF). Em cada ação foram coletadas aproximadamente 100 amostras de urina e fluido oral. Os motoristas que não aceitaram responder ao questionário ou não doaram amostras de fluido oral foram excluídos da pesquisa e considerados como recusas.

3.2.1. Aplicação do questionário

Durante os CSR, após passarem por recomendações e exames de saúde, os motoristas eram encaminhados à nossa equipe que realizava a explicação do projeto de pesquisa e perguntava se o indivíduo estava interessado em participar. Em caso afirmativo, era realizada uma entrevista com os participantes com perguntas do questionário (Anexo B). Esse questionário foi elaborado para reunir informações socioeconômicas e de escolaridade, quanto ao serviço prestado de motorista profissional, e em relação ao consumo de drogas de abuso e medicamentos. Os dados coletados através dos questionários foram analisados estatisticamente, possibilitando a elaboração de um perfil detalhado dos motoristas.

3.2.2. Coleta de materiais biológicos

As amostras de urina e fluido oral dos participantes foram coletadas no mesmo momento, após a explicação do projeto e entrevista seguida da devida assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo C) após a explicação do projeto e entrevista. As amostras foram previamente numeradas para controle sem qualquer identificação do participante.

As amostras de urina foram coletadas por micção espontânea, em banheiro privativo, em frascos de polietileno de 50 mL. As coletas de fluido oral foram realizadas com a utilização do dispositivo Quantisal®, que é composto por uma haste de um material capaz de absorver o fluido oral ao ser inserida na boca do doador (Figura 12). A haste possui um indicador que adquire a coloração azul quando absorve cerca de 1 mL de fluido. Após a absorção, a haste contendo a amostra é conservada em 3 mL da solução tampão já presente no próprio dispositivo. As amostras de urina e fluido oral foram mantidas em geladeiras térmicas até a chegada ao laboratório, por até seis horas após a coleta, e, posteriormente, em freezer com temperatura de -12°C até o momento das análises toxicológicas.

Figura 12 – Ilustração do método de amostragem de fluido oral com o dispositivo Quantisal®.

3.2.3. Triagem

- **Urina**

As amostras de urina foram submetidas a uma etapa de triagem, com a utilização de um dispositivo de teste rápido imunocromatográfico (“Multi-Drogas One Step”). Os dispositivos forneciam resultados preliminares concomitantes de presença de Δ^9 -THC, cocaína (COC), anfetaminas (AMP), ADTs e BDZs, e respectivos metabólitos. Foi utilizado um dispositivo para cada amostra de urina. Os valores de cut-off utilizados nessa etapa foram: 11-nor- Δ^9 -THC-COOH — 50 ng/mL, benzoilecgonina — 300 ng/mL, anfetamina — 1000 ng/mL, BZDs – 300 ng/mL, e antidepressivos tricíclicos – 1000 ng/mL.

No dispositivo utilizado, a amostra é absorvida por capilaridade e o teste se baseia na ligação competitiva entre a substância de interesse e o conjugado, no anticorpo marcado presente na tira cromatográfica. Desse modo, caso a substância pesquisada esteja presente na amostra, não ficará visível a banda de marcação. Caso a amostra seja negativa para a substância, o anticorpo marcado presente na tira do dispositivo irá se ligar ao conjugado, formando uma banda visível.

- **Fluido oral**

Na etapa de triagem, cada amostra de fluido oral foi submetida a cinco ensaios imunoenzimáticos (ELISA) distintos para a presença de Δ^9 -THC, cocaína (COC), anfetaminas (AMP), ADTs e BDZs, e respectivos metabólitos. Os valores de cut-off utilizados para a triagem de amostras de fluido oral foram: Δ^9 -THC — 4 ng/mL; cocaína — 20 ng/mL; anfetamina — 50 ng/mL; antidepressivos tricíclicos – 5 ng/mL; BZDs – 5 ng/mL. .

Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços contendo anticorpos específicos para moléculas das duas classes de medicamentos e seus metabólitos. Primeiramente, foram adicionadas às placas as amostras e os controles e, em seguida, o antígeno (BZD ou ADT) conjugado com a enzima (peroxidase). Após incubação por 60 minutos na ausência de luz, os poços foram lavados 6 vezes com

água destilada e secos. Foi então adicionado o substrato TMB. Após uma segunda incubação, de 30 minutos, a solução de parada é adicionada. A absorbância de cada poço é lida em comprimentos de onda de 450 nm e 650 nm em um leitor de microplacas. A absorbância final considerada é a subtração da absorbância a 650 nm da obtida a 450 nm. Por ser uma técnica do tipo competitiva, o antígeno com a enzima não se fixa à placa na presença do analito, o que impede a reação do substrato e, portanto, a geração de cor (Figura 13).

Figura 13 – Ilustração das etapas do ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizado na triagem das amostras de fluido oral.

Sendo assim, a concentração da substância na amostra é inversamente proporcional à absorbância da solução resultante. No entanto, essa etapa de triagem foi apenas qualitativa e todas as amostras que apresentam um valor de absorbância menor à do cut-off foram consideradas positivas e submetidas à etapa de confirmação.

3.2.4. Confirmação

- **Urina**

As amostras de urina positivas na triagem para anfetamina, cocaína e THC foram confirmadas por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. As amostras de urina positivas na triagem para BZDs e ADTs foram confirmadas por cromatografia líquida de alta performance com detecção por espectrometria de massa no Núcleo de Toxicologia Forense da Superintendência

da Polícia Técnico-Científica do Estado de São Paulo (Yonamine & Silva, 2002; Yonamine et al., 2003; Panizza, 2020).

- **Fluido oral**

As amostras de fluido oral consideradas positivas na etapa de triagem foram confirmadas por cromatografia líquida de alta performance com detecção por espectrometria de massa Department of Forensic Sciences, Oslo University Hospital (Lund et al., 2011). A presença de THC nas amostras foi confirmada como um indicador do uso de *Cannabis sp.* ou THC sintético, e a presença de cocaína ou benzoilecgonina como indicadoras de qualquer tipo de uso de cocaína.

3.2.5. Análise estatística

Todos os dados obtidos durante o estudo foram analisados com os programas Excel 2013 para Windows. Após análise descritiva dos dados, os participantes foram agrupados de acordo com as substâncias identificadas nas amostras. Foram realizadas comparações entre os grupos por teste de Qui-quadrado de Pearson, ou por Teste Exato de Fisher para variáveis nominais, e pelo teste t de Student para variáveis de mensuração do tipo intervalar com distribuição normal e variância homogênea.

4. RESULTADOS

4.1. Dados epidemiológicos e prevalência

4.1.1. População

Foram entrevistados 524 motoristas profissionais de caminhão, todos do sexo masculino, na maioria brancos, naturais da região sudeste do Brasil, com idade média de 42,7 anos (Tabela 1). Cerca de 78% dos entrevistados se declararam casados ou amasiados e 18% solteiros. Apenas 37% deles completaram o ensino médio, sendo que 52% não chegaram a completar o ensino fundamental (menos de 7 anos de estudo).

Em relação ao perfil profissional (Tabela 2), os entrevistados possuíam uma média de 17,3 anos de profissão e a maioria (70%) declarou possuir vínculo empregatício e trabalhar como contratado em alguma empresa. Cerca de 80% deles faziam viagens longas, com duração de mais de um dia, não retornando para a casa ao final do turno, com uma média de 840 km de percurso. Além disso, a vasta maioria dos profissionais (88%) declarou viajar desacompanhado, sem uma dupla para revezar a direção. A rotina de trabalho dos motoristas incluiu, em média, mais de 10 horas de direção diária e 3 horas e meia de direção sem pausas e 7 horas e meia de descanso noturno. Cerca de 22% dos motoristas relataram já terem se envolvido em acidente com o caminhão.

Tabela 1 – Análise descritiva do perfil sociodemográfico dos motoristas de caminhão entrevistados durante os CSRs, em Rodovias Federais no Estado de São Paulo, de setembro a novembro 2016.

	Média/ Proporção (IC 95%)	Amplitude	DP	n
Idade (anos)	42,7 (0,9)	54,0	10,5	523
Estado Civil				524
Casado/ amasiado	77,9% (3,6%)			
Solteiro/ divorciado/ viúvo	21,9% (3,6%)			
Cor da pele				524
Branca	79,4% (3,5%)			
Parda	10,5% (2,7%)			
Negra	5,9% (3,1%)			
Naturalidade				524
Sul	37,8% (4,2%)			
Sudeste	52,3% (4,4%)			
Centro-oeste	1,7% (1,1%)			
Nordeste	6,9% (2,2%)			
Norte	1,0% (0,9%)			
Escolaridade				524
Menos de 4 anos	10,9% (2,7%)			
4 - 7 anos	41,4 % (4,3%)			
8 - 10 anos	10,9% (2,7%)			
Mais de 10 anos	36,8% (4,2%)			

IC 95%: Intervalo de Confiança de 95% para média/ proporção populacional; DP: Desvio Padrão; n: tamanho amostral.

Tabela 2 – Análise descritiva do perfil ocupacional dos motoristas de caminhão entrevistados durante os CSRs, em Rodovias Federais no Estado de São Paulo, de setembro a novembro 2016.

	Média/ Proporção (IC 95%)	Amplitude	DP	n
Tempo de profissão (anos)	17,3 (0,9)	53,8	10,7	524
Vínculo				524
Autônomo	30,2% (4,0%)	-	-	
Contratado	69,8% (4,0%)	-	-	
Realiza viagens longas	81,3% (3,4%)	-	-	
Distância da viagem (km)	839,9 (69,2)	4997,0	802,7	520
Viaja sozinho	88,0% (2,8%)	-	-	524
Descanso diurno (h)	0,6 (0,1)	4,0	0,4	421
Descanso noturno (h)	7,5 (0,2)	18,0	2,3	418
Dirige sem parar (h)	3,6 (0,2)	19,5	1,8	476
Dirige por dia (h)	10,6 (0,3)	17,5	2,9	498
Já sofreu acidente de trânsito	22,1% (3,6%)	-	-	524

IC 95%: Intervalo de Confiança de 95% para média/ proporção populacional; DP: Desvio Padrão; n: tamanho amostral.

Dos entrevistados, 21,8% disseram possuir algum problema de saúde, sendo, na maioria das vezes, “pressão alta” ou “diabetes”. A mesma proporção relatou fazer uso de algum medicamento diariamente. Quase 40% dos motoristas praticavam atividade física regularmente, 38% eram fumantes ou ex-fumantes e mais da metade (63%) disse consumir bebidas alcóolicas, em sua maioria, uma vez por semana. Vinte e oito por cento dos entrevistados admitiram já ter utilizado compostos anfetamínicos, popularmente chamados de “rebites”, para se manterem acordados enquanto dirigiam. Em relação às outras drogas, 17% já havia utilizado maconha e/ou cocaína, não havendo relato de outras drogas de abuso (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise descritiva do perfil de saúde e de uso de drogas dos motoristas de caminhão entrevistados durante os CSRs, em Rodovias Federais no Estado de São Paulo, de setembro a novembro 2016.

	Proporção (IC 95%)	n
Problemas de saúde	21,8% (3,6%)	524
Pressão alta	80,7% (7,4%)	114
Diabetes	27,2% (8,3%)	114
Tomam medicamento	21,8% (3,6%)	524
Praticam atividade física	37,21% (4,2%)	524
Fumam ou já fumaram	38,4% (4,2%)	524
Consomem bebida alcóolica	62,8% (4,2%)	524
2-3 vezes/ semana	26,52% (4,9%)	328
1 vez/ semana	51,22% (5,5%)	328
Usam ou já usaram “rebite”	27,9% (3,9%)	524
Usam ou já usaram outras drogas	17,4% (3,3%)	524
Maconha	42,9% (10,4%)	91
Cocaína	35,2% (10,0 %)	91
Maconha e cocaína	22,0% (8,7%)	91

IC 95%: Intervalo de Confiança de 95% para proporção populacional; n: tamanho amostral

Dentre os 524 entrevistados, 504 doaram amostras de urina e fluido oral durante três Comandos de Saúde nas Rodovias (CSR) que ocorreram no segundo semestre de 2016, de acordo com a Tabela 4. A quantidade de voluntários que participaram da pesquisa nos CSR foi satisfatória (504) e o número de recusas (7) considerado baixo. Treze indivíduos entrevistados não puderam doar amostras de fluido oral pois os dispositivos de coleta foram insuficientes na ocasião.

Tabela 4 – Relação dos CSRs nos quais foram coletadas amostras de urina e fluido oral de motoristas entrevistados em Rodovias Federais no Estado de São Paulo, de setembro a novembro 2016.

Data	Município	Rodovia	Entrevistas realizadas	Doações de urina	Recusas	Doações de fluido oral	Recusas
20/09/2016	Marília	Transbrasiliana (BR 153)	183	181	2	183	4
19/10/2016	Itapeceira da Serra	Régis Bittencourt (BR 116)	155	147	8	155	2
23/11/2016	Cachoeira Paulista	Régis Bittencourt (BR 116)	186	185	1	166	1
TOTAL			524	513	11	504	7

4.2. Triagem

Foram submetidas à triagem, 513 amostras de urina e 504 amostras de fluido oral. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 6.

As amostras consideradas positivas na etapa de triagem foram submetidas posteriormente às análises de confirmação para as respectivas substâncias.

Tabela 6 – Número de amostras consideradas positivas na etapa de triagem (total de 513 amostras de urina e 505 amostras de fluido oral).

SUBSTÂNCIA	URINA	FLUIDO ORAL
ANFETAMINA (ANF)	20	18
COCAÍNA (COC)	21	25
THC	3	4
ANF+COC	2	1
THC+COC	3	1
TCA	16	9
BZD	4	4

4.3. Confirmação

Na etapa de confirmação, a presença de Δ^9 -THC e 11-nor- Δ^9 -THC-COOH nas amostras foi considerada indicadora do uso de *Cannabis sp.* ou tetraidrocanabinol sintético e a presença de benzoilecgonina na urina foi considerada como indicador

do uso de qualquer forma da cocaína. No total, 40 das 513 amostras de urina (7,8%) e 30 das 504 amostras de fluido oral (6,0%) apresentaram resultados positivos na etapa de confirmação.

Nenhuma das amostras analisadas apresentou resultados positivos para antidepressivos tricíclicos ou BZDs pesquisados nas análises de confirmação.

Os resultados obtidos para as drogas ilícitas na etapa de confirmação estão representados na Tabela 7.

Tabela 7 – Drogas ilícitas confirmadas nas amostras de urina e fluido oral dos participantes do estudo.

DROGA	Urina			Fluido Oral		
	n	%*	%**	n	%*	%**
Anfetamina (ANF)	16	41,0	3,1	7	24,0	1,4
Cocaína (COC)	17	43,6	3,3	19	65,5	3,8
THC	2	5,1	0,4	1	3,4	0,2
ANF+COC	2	5,1	0,4	2	6,8	0,4
THC+COC	3	7,5	0,6	1	3,4	0,2
Total	40	100	7,8	30	100	6,0

* Porcentagem relacionada ao total de amostras positivas; ** Porcentagem relacionada ao total de amostras coletadas (urina: 513; fluido oral: 504).

Quando comparamos os diferentes tipos de amostras coletadas de cada indivíduo (Quadro 2), podemos observar que, de todos os indivíduos que apresentaram resultado positivo para presença de ANF na urina (n = 18), mais da metade (n = 10) apresentou resultado negativo para ANF no fluido oral. Houve apenas um caso em que o indivíduo testou negativo para ANF na urina, mas positivo no fluido oral.

Quando consideramos a presença de COC nas amostras, 18 indivíduos apresentaram resultado positivo em ambas as matrizes, 4 apresentaram resultado positivo apenas na urina e 2 apresentaram resultado positivo apenas no fluido oral. Também é importante notar que dois indivíduos que apresentaram resultado positivo para a presença de COC no fluido oral se recusaram a doar amostra de

urina. Dos indivíduos que apresentaram resultado positivo para THC na urina (n = 5), três apresentaram resultado negativo no fluido oral. Não houve indivíduo que tenha testado positivo para THC apenas no fluido oral.

Quadro 2- Comparação dos resultados das análises toxicológicas nas duas amostras de cada indivíduo com resultado positivo.

Amostra	Urina	Fluido Oral
5671	THC+COC	Negativo
5738	ANF	Negativo
5760	COC	Negativo
5805	COC	ANF+COC
5807	ANF	Negativo
5860	THC+COC	COC
5871	ANF+COC	Negativo
5877	ANF	Negativo
5885	ANF	Negativo
5891	ANF	Negativo
5900	Recusa	COC
5942	Recusa	COC
5962	Negativo	COC
5975	THC	Negativo
5977	ANF	Negativo
6014	ANF	Negativo
6091	Negativo	COC
6160	ANF	Negativo
6174	COC	Sem amostra

4.4. Análise estatística

Para a análise estatística, os indivíduos foram divididos em três grupos: indivíduos com resultado positivo para anfetamina, indivíduos com resultado positivo para cocaína, e indivíduos com resultados negativos. As análises foram feitas considerando separadamente as duas matrizes diferentes. Os grupos com resultados positivos apenas para THC e para mais de uma droga de abuso não foram considerados na análise, uma vez que suas representatividades eram muito baixas. Em relação às características sociodemográficas da população estudada, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas médias da idade e da distância percorrida relatadas, considerando a presença ou não de cocaína ou anfetamina para ambas as matrizes: urina e fluido oral. As outras variáveis não

apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Os resultados das análises que apresentaram interesse estão apresentados na Tabela 8.

Ao compararmos os grupos com os resultados da urina, a média de idade dos motoristas que apresentaram resultados positivos para COC e ANF é menor do que a média de idade dos motoristas cujos resultados foram negativos. Ao analisarmos os resultados do fluido oral, apenas a média do grupo cujo resultado foi positivo para COC pode ser considerada mais baixa que as dos demais. Na análise dos resultados da urina como matriz, os motoristas cujo resultado foi positivo para ANF relataram uma média de percurso maior do que os demais grupos. Essa diferença não foi estatisticamente significativa ao usarmos o fluido oral como matriz de análise.

Tabela 8 – Resultado das análises estatísticas de idade e distância percorrida dos diferentes grupos.

Matriz	Urina			Fluido Oral		
Resultado da análise	ANF	COC	Negativo	ANF	COC	Negativo
Idade (anos)						
Média	36,6	37,2	43,3	39,7	38,4	42,8
Desvio padrão	11,6	7,7	10,4	16,3	6,8	10,4
Nível de confiança (95,0%)	5,8	3,7	0,9	15,1	3,3	0,9
Distância Percorrida (km)						
Média	1274,7	644,2	817,9	1463,3	708,5	841,8
Desvio padrão	739,0	416,9	803,6	853,3	446,3	824,2
Nível de confiança (95,0%)	380,0	200,9	72,9	895,5	215,1	74,6

Também houve diferença significativa nas respostas referentes ao uso de “rebite” e outras drogas entre os grupos dos motoristas que testaram positivo para ANF e COC para ambas as matrizes. Esses resultados estão representados na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultado das análises estatísticas de declaração de uso de “rebite” e outras drogas dos diferentes grupos.

Matriz	Urina			Fluido Oral		
Resultado da análise	ANF	COC	Negativo	ANF	COC	Negativo
Já usou rebite?						
Sim	83%	53%	24%	86%	53%	26%
Não	11%	47%	75%	14%	47%	74%
Já usou outras drogas?						
Maconha	11%	21%	7%	14%	11%	7%
Cocaína	0%	16%	6%	0%	21%	5%
Maconha e cocaína	6%	26%	3%	0%	26%	3%
Não	78%	37%	84%	86%	42%	85%

5. DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstraram que as principais substâncias psicoativas, entre as pesquisadas nesse estudo, utilizadas pelos motoristas de caminhão que trafegam em rodovias Federais do Sudeste do país são compostos anfetamínicos e cocaína. Os resultados obtidos nesse estudo serão discutidos em três itens separados: o primeiro abordará os dados demográficos e aqueles obtidos na entrevista dos participantes, no segundo abordaremos a detecção das drogas de abuso e no terceiro, a detecção dos medicamentos.

5.1. Perfil demográfico e dados da entrevista

Dos 524 motoristas profissionais de caminhão incluídos nesse estudo, todos eram do sexo masculino, na maioria branca, com idade média próxima aos 40 anos de idade (Tabela 9). A maioria dos entrevistados se declarou casado ou amasiado. A taxa de indivíduos entrevistados que concluíram o ensino médio se mostrou abaixo da média populacional brasileira (42%). No entanto, a porcentagem de indivíduos com 4 anos ou menos de estudo ficou bem abaixo da nacional de 21% (IBGE, 2017), o que já era esperado, uma vez que o alfabetismo é necessário para obter a carteira de habilitação para veículos automotores.

A população entrevistada apresentou características sociodemográficas semelhantes às relatadas em estudos anteriores realizados com caminhoneiros do estado de São Paulo, sugerindo que é representativa e que permaneceu praticamente inalterada ao longo dos anos (Bombana et. Al., 2017; Takitane et. al., 2012).

Apesar dos regulamentos legais e políticas públicas, os caminhoneiros brasileiros, incluídos nesse estudo, relataram más condições de trabalho com jornadas exaustivas, apesar de a grande maioria (70%) possuir vínculo empregatício trabalhando como contratado de empresas. Oito em cada dez dos entrevistados disseram fazer apenas viagens longas, com duração de mais de um dia, sem retornar para a casa ao final do turno. Além disso, a maioria dos profissionais (88%) declarou viajar desacompanhada, sem outro motorista para

revezar a direção. Um trabalho anterior, realizado pelo nosso grupo de pesquisa (Sinagawa et al., 2015) mostrou que longas distâncias percorridas por caminhoneiros estavam associadas ao maior uso de anfetamina. Nossos resultados confirmaram esses achados. A distância percorrida pelos motoristas cujas amostras de urina acusaram a presença de anfetamina foi significativamente maior do que a distância percorrida por motoristas cujas urinas tiveram resultado negativo.

Os resultados também indicaram diferenças significativas nas porcentagens de motoristas com análises toxicológicas distintas que relataram já ter feito uso de “rebite”, medicamento à base de derivado da anfetamina, via de regra o femproporex, e uso de outras drogas. A grande maioria dos motoristas cujo resultado foi positivo para a presença de anfetaminas, tanto para urina quanto para fluido oral, relatou usar ou já ter usado “rebite”. Já para os indivíduos com resultados positivos apenas para outras drogas e negativos, a resposta de já ter usado ou usar o “rebite” foi de apenas metade e um terço do total, respectivamente. Entre os indivíduos com amostras positivas para anfetamina e negativas, a maioria relatou nunca ter feito uso de outras drogas, enquanto que, para os indivíduos com amostras positivas para cocaína, esse número cai para menos da metade. Esses dados mostram que a percepção dos usuários é diferente em relação ao uso de anfetaminas e cocaína. Enquanto muitos usuários de cocaína admitem fazer o uso de drogas de abuso, os usuários de anfetamina não, o que sugere que os usuários de compostos anfetamínicos não consideram a substância uma droga de abuso.

5.2. Drogas de abuso

As drogas de abuso, anfetamina, cocaína e maconha, foram pesquisadas na urina e no fluido oral. Nas amostras de urina, as maiores ocorrências foram de cocaína e anfetamina (3,3% e 3,1%, respectivamente). E nesse caso a porcentagem de identificação das duas drogas foi semelhante. Entretanto, nas amostras de fluido oral, houve maior prevalência na detecção de cocaína (3,8%) em relação à anfetamina (1,4%). Uma possível explicação para esse achado é o fato do fluido oral refletir a concentração sanguínea da substância enquanto que a urina por

apresentar uma janela de detecção maior, refletindo o uso da substância em horas e dias anteriores. Como a coleta de amostras foi realizada no período diurno, a maior presença de anfetamina na urina em relação ao fluido oral pode indicar um maior uso dessa substância durante a noite anterior.

A ocorrência de resultados positivos para a presença de combinações de THC e outras drogas de abuso teve a menor taxa nas duas matrizes. No entanto, a quantidade relativa de amostras positivas para THC ou THC + COC para urina (1,0%) foi superior à quantidade no fluido oral (0,4%). Estudos já relataram a dificuldade de detecção de THC no fluido oral (Montesano et al., 2005), o que pode explicar tal diferença. Essa dificuldade ocorre por diversos fatores, entre os quais a diminuição do fluxo salivar causado pelo THC e sua baixa concentração nessa matriz. Esses aspectos podem fazer com que essa forma de coleta do fluido oral não seja recomendada para detecção de maconha. Outras técnicas de coleta de fluido oral devem ser testadas em estudos futuros, antes de afirmarmos que o fluido oral em si, não seja uma matriz adequada.

Um estudo de Bombana et al. (2017) já havia analisado a presença das mesmas três drogas de abuso (anfetamina, cocaína e THC) no fluido oral coletado de caminhoneiros entre os anos de 2014 e 2015. Os autores encontraram 5,2% de positividade, sendo esse resultado semelhante ao encontrado no presente estudo (6,0%). A cocaína também foi a droga mais prevalente nas amostras de fluido oral coletadas no estudo de Bombana et al. (2017), seguida por anfetamina e THC. No entanto, nosso estudo foi pioneiro na comparação de taxas de detecção de drogas em duas matrizes diferentes, como fluido oral e urina, no mesmo momento de coleta e população. Nenhum estudo anterior com essa proposta, foi identificado, tornando nosso trabalho inovador nesse sentido.

Nossa expectativa de observar mais casos positivos na urina do que no fluido oral devido à janela de detecção, foi confirmado pelos nossos resultados. Enquanto um teste de urina pode levar a resultados positivos para substâncias consumidas até dias atrás, o fluido oral possui uma janela de detecção menor, refletindo a

presença da substância no sangue, consumida apenas horas antes (Gjerde et al., 2011; Drummer, 2006).

Dentre os 18 indivíduos que apresentaram resultado positivo para anfetamina na urina, mais da metade apresentou resultado negativo no fluido oral. Não observamos o mesmo comportamento para a detecção de cocaína, pois a maioria dos indivíduos que testou positivo para urina também testou positivo para fluido oral. Isso pode sugerir que a maioria dos caminhoneiros participantes desse estudo, usuários de cocaína, não apenas dirige sob sua influência, como também consome a droga constantemente, provavelmente por causa da meia-vida mais curta da droga. A meia-vida da cocaína é de aproximadamente uma hora, ao passo que a meia vida da anfetamina é de 10 horas, levando ao seu uso mais frequente para alcançar o efeito desejado de despertar (NCBI, 2019).

5.3. Medicamentos

Avaliamos a presença de BZDs e ADTs no fluido oral e na urina. O uso de antidepressivos foi relatado por dois dos 524 participantes desse estudo (0,4% da população estudada), e os medicamentos utilizados foram Assert® (cloridrato de sertralina) e Donaren® (cloridrato de trazadona). Nenhum deles relatou uso de ADTs. O uso de medicamento hipnótico / ansiolítico foi relatado por três motoristas, representando 0,5% da população entrevistada. Entre esses indivíduos, dois relataram o uso de Stilnox® (hemitartarato de Zolpidem) e Neozine® (maleato de levomepromazina) e apenas um relatou o uso de benzodiazepina (Somalium®-bromazepam).

No entanto, apesar do relato do consumo, os BZDs e antidepressivos tricíclicos não foram detectados durante as análises, e nenhuma amostra foi considerada positiva para nenhuma das substâncias. Apenas durante a fase de triagem, 16, 2 e 2 amostras de urina foram consideradas positivas para TCA, BDZ e ambas, respectivamente. Mas a confirmação das amostras por UPLC – MS/MS revelou que nenhuma das amostras foi positiva para os grupos de medicamentos incluídos neste estudo. Ainda na triagem, considerando as amostras de fluidos orais, 3 e 6

apresentaram resultados positivos para TCA e BZD, respectivamente, durante a fase de triagem. Quanto à análise de urina, nenhuma amostra de fluido oral foi positiva para TCA ou BZD na etapa de confirmação.

As respostas obtidas por meio dos questionários e os resultados das análises laboratoriais revelaram que é raro o uso de BZDs e antidepressivos pela população estudada. Em outros países, o uso de BZDs pelos motoristas é maior. Em um estudo de Logan, et al. publicado em 2018, 65 de 70 laboratórios nos EUA e no Canadá relataram que o alprazolam estava entre as 10 substâncias mais frequentemente detectadas em amostras de fluidos de motoristas, seguidos por outros BZDs. O THC estava entre as 10 substâncias mais detectadas em 63 laboratórios, cocaína em 46 e anfetamina em 36. Entre os antidepressivos tricíclicos, apenas a amitriptilina apareceu nas 10 substâncias mais comumente encontradas em 1 dos 70 laboratórios estudados e dois laboratórios relataram que a ciclobenzaprina estava entre as 10 substâncias detectadas mais frequentes.

A ocorrência de resultados positivos na triagem para os antidepressivos tricíclicos não confirmados posteriormente sugerem resultados falsos positivos. O imuno ensaio possui anticorpos específicos para certas porções da molécula do analito pesquisado. No caso dos ADTs, o anticorpo é específico para a porção tricíclica da molécula dessa classe de medicamento, o que pode gerar reação cruzada com outros medicamentos de estrutura semelhante. Como dito na introdução, os ADTs também atuam em receptores anti-histamínicos e, portanto, alguns medicamentos anti-histamínicos realizam reação cruzada em técnicas de imunoensaio (Figura 7). Esse fato ressalta a importância do teste de confirmação por técnica mais específica.

Para os BZDs, a ocorrência de falsos-positivos é mais rara, uma vez que essa classe possui moléculas com estrutura mais particular (Moeller; Lee; Kissack, 2008). É improvável que a divergência de resultados nesse caso, tenha se dado em função da estabilidade do composto, uma vez que as amostras foram mantidas sob congelamento desde o momento de sua coleta até a análise toxicológica final.

Estudos comprovam que a estabilidade dos BZDs é boa no fluido oral e continuam na amostra de fluido oral até 14 dias mesmo que em temperatura ambiente, apesar de sua concentração diminuir, com recuperação de aproximadamente 40% (Kempf J, et al. 2009; Gjerde, et al. 2014).

Outra explicação para os resultados falso positivos poderia ser a presença de um medicamento interferente nas amostras, como a ciclobenzaprina, por exemplo. A ciclobenzaprina é estruturalmente semelhante aos ADTs (Figura 14), diferindo da amitriptilina pela presença de uma ligação dupla, e foi relatado anteriormente como potencial interferente na determinação de ADTs em amostras biológicas em vários ensaios toxicológicos. Possui propriedades relaxantes musculares e é comumente usado em terapias para o tratamento da dor lombar para reduzir o espasmo muscular e como um complemento ao controle da dor, quando administrado com analgésicos não narcóticos (Toth & Urtis, 2004). A ciclobenzaprina tem fortes efeitos sedativos e mostra atividade anticolinérgica, levando a sinais e sintomas como sonolência, boca seca, náusea e tontura (Browning, Jackson, & O'Malley, 2001). Consequentemente, embora não tenhamos encontrado estudos capazes de correlacionar o uso da ciclobenzaprina com o comprometimento da direção, sabe-se que esse medicamento tem o potencial de alterar as funções cognitivas necessárias para uma direção segura (Tiscione, Alford, Miller, Shan, & Yeatman, 2019). No Brasil, este medicamento é vendido sem receita e é muitas vezes consumido sem orientação médica.

Um estudo preliminar realizado em nosso laboratório indicou a presença de ciclobenzaprina nas amostras de fluido oral consideradas positivas para ADTs na triagem, porém seriam necessárias maiores investigações e otimização de processos analíticos para sua detecção. Assim como os ADTs, um dos efeitos colaterais dessas classes de medicamentos é a sonolência excessiva e a fadiga, e seu consumo pode, portanto, comprometer a direção segura.

Figura 14 – Comparação entre as estruturas das moléculas de um ADT, um anti-histamínico tricíclico e o relaxante muscular. Destaque para a semelhança da porção tricíclica das estruturas.

6. CONCLUSÃO

Nossos resultados permitiram concluir que:

- A prevalência dos indicadores de consumo de drogas ilícitas na urina e no fluido oral de caminhoneiros brasileiros obtidas no presente estudo foi em torno de 3% para anfetamina e cocaína, sendo essa prevalência semelhante aos valores verificados em estudos anteriores.
- Nenhuma amostra de urina ou fluido oral coletada foi considerada positiva para os medicamentos incluídos neste estudo, sugerindo que o uso de TCA e BDZ por si só não consiste em um grande problema para essa população.
- O fato de várias amostras terem sido consideradas positivas para TCA durante a fase de triagem, principalmente para as amostras de urina, sugere a provável presença de um agente estruturalmente semelhante, como a ciclobenzaprina.
- A comparação entre as duas matrizes, urina e fluido oral, revelou que elas não refletem a mesma informação e podem ser utilizadas em conjunto para uma melhor compreensão do padrão de uso de substâncias psicoativas por motoristas de caminhão.
- É necessária maior informação acerca dos compostos anfetamínicos entre os motoristas de caminhão de modo a conscientizar sobre seu potencial abusivo e malefícios.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa (Protocolo nº 005/16) **APROVAÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 17/02/2016, APROVOU o Protocolo de Pesquisa nº 005/16 intitulado: “ANÁLISE DE BENZODIAZEPÍNICOS E ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS EM AMOSTRAS DE FLUIDO ORAL DE MOTORISTAS DE CAMINHÃO” apresentado pelo Departamento de MEDICINA LEGAL, ÉTICA MÉDICA, MEDICINA SOCIAL E DO TRABALHO

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/12, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Vilma Leyton

Pesquisador (a) Executante: Juliana Gallottini de Magalhães

CEP-FMUSP, 19 de Fevereiro de 2016.

Profa. Dra. Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO B – Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa (Protocolo nº 006/16) **APROVAÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 09/03/2016, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **060/16** intitulado: **“PREVALÊNCIA DO USO DE DROGAS ILÍCITAS E MEDICAMENTOS POR MOTORISTAS DE CAMINHÃO QUE TRAFEGAM EM RODOVIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO”** apresentado pelo Departamento de MEDICINA LEGAL, ÉTICA MÉDICA, MEDICINA SOCIAL E DO TRABALHO

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/12, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Vilma Leyton

Pesquisador (a) Executante: Helena do Nascimento Panizza

CEP-FMUSP, 10 de Março de 2016.

Profa. Dra. Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO C – Questionário

IDENTIFICAÇÃO

Número de Controle Laboratorial: _____		Entrevistador: _____	
Participante: () Aceitou participar () Recusou participar, motivo: _____			
Idade: _____		Sexo: Feminino () Masculino ()	
Naturalidade (Cidade/UF): _____ / _____			
Estado civil: Solteiro () Casado () Viúvo () Divorciado () Amasiado ()			
Etnia: Branca () Negro () Amarelo () Pardo ()			
Escolaridade: Nunca estudou () 2º grau () Outro: _____ 1º a 4º série () 2º Grau Incompleto () 5º a 8º série () Superior () Curso técnico () Superior Incompleto ()			
Tempo de Profissão: _____ anos			
Serviço: Contratado () Autônomo () Aposentado ()			
Percorso (Cidade/UF) Distância: _____ km		Horas totais da viagem: _____ h	
Origem: _____ / _____		Horas viajadas (até agora): _____ h	
Destino: _____ / _____		Dirige direto quantas horas _____ h	
Tempo de descanso: _____ h / noite _____ h		Média de horas dirigidas por dia (24h): _____ h	
Já se envolveu em AT? Sim () Não ()		Nº de ocupantes no veículo: _____	
Quantos? _____		Tipo de carga: _____	
Nos últimos 12 meses? Sim () Não ()			

INFORMAÇÕES SOBRE A SAÚDE

Pressão alta () Diabete () Estresse () Outro () Nenhum ()	
Atividade física Sim () Não () Frequência: _____ vez/semana Tempo _____ h/dia	
Medicamentos: Sim () Não () Qual? _____ Motivo: _____	
Faz uso de bebidas alcoólicas?	Sim () Não () Última vez? _____
	Local de consumo? Casa () Bar () Outro: _____
	Frequência nos últimos 12 meses (vezes por semana): () diariamente () 1 vez por semana () 2-3 vezes por semana () 4-5 vezes por semana
	Tipo de bebida: Cerveja () Destilados () Vinho () Outros: _____
Fumante?	Sim () Ex-fumante () Não () Tempo de uso: _____ Quantidade de cigarros por dia: _____
Usa rebite?	Sim () Já usei () Não () Qual? _____ Frequência (vezes por semana): () diariamente () 1 vez por semana () 2-3 vezes por semana () 4-5 vezes por semana Quando foi a última vez? _____ Onde adquiriu? () Posto de gasolina () Amigos () Outros _____ Motivo para uso? () Manter acordado () Outro motivo _____
Usa outro tipo de droga? Maconha () Crack () Cocaína () Outras ()	Uso () Nunca () Já usei () Frequência (vezes por semana): () diariamente () 1 vez por semana () 2-3 vezes por semana () 4-5 vezes por semana Quando foi a última vez? _____

Outras informações relevantes: _____

ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Departamento de Medicina Legal, Ética Médica e Medicina Social e do Trabalho

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA**

Nome:.....

Documento de Identidade: Sexo: () M () F

Data de nascimento: ____/____/____

Endereço:Nº: Apt:.....

Bairro: Cidade:

CEP: Telefone: (.....)

II – DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:****Uso de substâncias psicoativas por motoristas profissionais**

PESQUISADORA: Profa. Dra. Vilma Leyton

CARGO/FUNÇÃO: Professora Doutora

INSCRIÇÃO NO CONSELHO REGIONAL Nº 6.108

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Medicina Legal, Ética Médica e Medicina Social e do Trabalho

2.AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA

Sem Risco () Risco Mínimo (x) Risco Médio ()

Risco Baixo () Risco Alto ()

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 12 meses

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO SUJEITO DA PESQUISA SOBRE A PESQUISA

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos.

1. Esta pesquisa está sendo feita para avaliar o quanto os motoristas profissionais têm utilizado substância psicoativas, principalmente os “rebites” e medicamentos psicoativos, e explicar os riscos que essas substâncias podem acometer ao motorista e à sociedade como um todo.

2. O senhor (a) deverá responder a um questionário.

3. Será coletada uma amostra de urina e uma amostra de fluido oral.

4. O senhor (a) não será identificado (a).

5. Estamos coletando apenas informações sobre sua profissão e saúde (dados obtidos do questionário)

6. Mesmo que seu exame toxicológico seja positivo, o senhor (a) não será identificado (a) de forma nenhuma.

7. Não há desconfortos para a coleta das amostras biológicas e os riscos dessa pesquisa são mínimos.

8. Os benefícios deste tipo de pesquisa é ajudar a implantar políticas para um trânsito mais seguro.

IV. ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas. O principal pesquisador é a Profª Dra. Vilma Leyton, que pode ser encontrado no endereço: Av. Dr. Arnaldo, 455 – Cerqueira César, São Paulo – SP, tel: (11) 3061-8414. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 255 – 5º andar – tel: (11) 3069-6442, ramais 16,17,18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.

2. Liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo.

3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

V. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

_____, ____ de _____ de 20____.

Assinatura do sujeito da pesquisa

Assinatura do pesquisador

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Allen KR. Screening for drugs of abuse: which matrix, oral fluid or urine? *Ann Clin Biochem.* 2011;48:531-41.

Almeida MG, Lima IV. Barbitúricos e benzodiazepínicos. In: Oga e Batistuzzo. Fundamentos de Toxicologia. São Paulo: Editora Atheneu, 3ª edição p. 381-385, 2008.

Azevedo AJP, Araújo AA, Ferreira MAF. Consumo de ansiolíticos benzodiazepínicos: uma correlação entre dados do SNGPC e indicadores sociodemográficos nas capitais brasileiras. *Ciência e Saúde Coletiva.* 2016; 21(1): 83-90.

Bairros AV, Almeida RM, Pantaleão L, Barcellos T, Silva SM, Yonamine M. Determination of low levels of benzodiazepines and their metabolites in urine by hollow-fiber liquid-phase microextraction (LPM) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *J Chromatogr B.* 2015; 975: 24-33.

Bello-López MA, Ramos-Payán M, Ocaña-González JA, Fernández-Torres R, Callejón-Mochón M. Analytical Applications of Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction (HF-LPME): A Review. *Anal Letters.* 2012; 45(8): 804-830.

Bernik, MA. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. 1.ed. São Paulo: Edusp, 1999.

Bombana HS, Gjerde H, Santos MF, Jamt REG, Yonamine M, Rohlf WJC, Moñoz DR, Leyton V. Prevalence of drugs in oral fluid from truck drivers in Brazilian highways. *For Sci Int.* 2017; 273: 140-143.

Boni R, Bozzetti MC, Hilgert J, Sousa T, Von Diemen L, Benzano D, Menegon G, Holmer B, Duarte Pdo C, Pechansky F. Factors associated with alcohol and drug use among traffic crash victims in southern Brazil. *Accid Anal Prev.* 2011;43(4):1408-13.

Brasil. Leis etc. *Código de Trânsito Brasileiro*, lei nº 9.503, de 23 de setembro de 1997. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9503.htm>. Acesso em: 14 dez. 2015.

Breitenbach TC, Pechansky F, Benzano D, De Boni R. High rates of injured motorcycle drivers in emergency rooms and the association with substance use in Porto Alegre, Brazil. *Emerg Med J.* 2012; 29: 205-207.

CNT – Confederação Nacional de Transporte. Boletim Estatístico de Julho de 2015. Brasília, 2015.

CNT – Confederação Nacional de Transporte. Anuário CNT do Transporte: estatísticas consolidadas. Brasília, 2016.

Cone EJ, Huestis MA. Interpretation of Oral Fluid Tests for Drugs of Abuse. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1098: 51–103.

* De acordo com:

Adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP. Elaborado por Annelies e Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

CONTRAN. Resolução nº 517 de 29 de janeiro de 2015. Altera a Resolução CONTRAN nº 425 de 27 de novembro de 2012. Disponível em: <<http://www.denatran.gov.br/download/Resolucoes/Resolucao5172014.pdf>>. Acesso em: 14 dez. 2015.

DATASUS. Estatísticas do Ministério da Saúde. *Vias Seguras*. Disponível em: <http://vias-seguras.com/os_acidentes/estatisticas/estatisticas_nacionais>. Acesso em 3 de março de 2020>.

Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. *J Ethnopharmacol*. 1987;20(3):293-294.

DrugBank Database. Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, Gautam B, Hassanali M. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res*. 2008; 36: D901-906. Disponível em: <<http://www.drugbank.ca/>>. Acesso em: 16 de setembro de 2016.

Drummer OH, Gerostamoulos J, Batziris H, Chu M, Caplehorn J, Robertson MD, Swann P. The involvement of drugs in drivers of motor vehicles killed in Australian road traffic crashes. *Accid Anal Prev*. 2004;36(2):239-48.

Drummer OH. Drug Testing in Oral Fluid. *Clin Biochem Rev*. 2006; 27(3): 147–159.

Drummer OH, Odell M. The forensic pharmacology of drugs of abuse. London: Arnold, 2001. 462p.

DuPont RL, Voas RB, Walsh JM, Shea C, Talpins SK, Neil MM. The Need for Drugged Driving Per Se Laws: A Commentary. *Traffic Inj Prev*. 2012; 13(1): 31-42.

Elvik R. Risk of road accident associated with the use of drugs: A systematic review and meta-analysis of evidence from epidemiological studies. *Accid Anal Prev*. 2013; 60(14): 254-267.

Fangmann P, Assion H, Juckel G, González CA, López-Muñoz F. Half a century of antidepressant drugs: On the clinical introduction of monoamine oxidase inhibitors, tricyclics, and tetracyclics. Part II: Tricyclics and tetracyclics. *J Clinl Psychopharmacol*. 2008; 28(1): 1-4.

Fendrich M, Johnson TP, Wislar JS, Hubbell A. Drug test feasibility in a general population household survey. *Drug Alcohol Depend*. 2004; 73(3): 237-250.

Ferreira PEM, Martini RK. Cocaína: lendas, histórias e abuso. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2001; 23(2)96-9.

Friedman D, Devinsky O. Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy. *N Engl J Med*. 2015; 373:1048-1058.

Ghambarian M, Yamini Y, Esrafil A. Developments in hollow fiber based liquid-phase microextraction: principles and applications. *Microchimica Acta*. 2012; 177(3): 271-294.

Giroto E, Mesas AE, de Andrade SM, Birolim MM. Psychoactive substance use by truck drivers: a systematic review. *Occup Environ Med*. 2014; 71(1): 71-76.

Gjerde H, Christophersen AS, Moan IS, Yttredal B, Walsh JM, Normann PT, Mørland J. Use of alcohol and drugs by Norwegian employees: a pilot study using questionnaires and analysis of oral fluid. *J Occup Med Toxicol*. 2010; 5: 13.

Gjerde H, Verstraete AG. Estimating equivalent cutoff thresholds for drugs in blood and oral fluid using prevalence regression: A study of tetrahydrocannabinol and amphetamine. *Forensic Sci Int*. 2011; 212(1-3): e26-e30.

Gjerde H, Oiestad EL, Christophersen AS. Using biological samples in epidemiological research on drugs of abuse. *Norsk Epidemiologi*. 2011; 21(1): 5-14.

Gjerde H, Langel K, Favretto D, Verstraete AG. Detection of 4 Benzodiazepines in Oral Fluid as Biomarker for Presence in Blood. *Ther Drug Monit* 2014;36:252–256.

Gómez-Talegón T, Fierro I, González-Luque JC, Colás M, López-Rivadulla M, Javier Álvarez F. Prevalence of psychoactive substances, alcohol, illicit drugs, and medicines, in Spanish drivers: a roadside study. *Forensic Sci Int*. 2012; 223(1-3): 106-113.

Grotenhermen, F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(4):327-60.

Howell LL, Kimmel HL. Monoamine transporters and psychostimulant addiction. *Biochem Pharmacol*. 2008;75(1):196-217.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Distribuição das pessoas de 25 anos ou mais de idade, por grupos de anos de estudo - Brasil - 2007/2014. *Brasil em síntese*. Disponível em: <<http://brasilemsintese.ibge.gov.br/educacao/anos-de-estudo.html>>. Acesso em: 23 de março de 2017.

Institóris L, Tóth AR, Molnár A, Arok Z, Kereszty E, Varga T. The frequency of alcohol, illicit and licit drug consumption in the general driving population in South-East Hungary. *Forensic Sci Int*. 2013; 224(1-3): 37-43.

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. *Acidentes de Trânsito nas Rodovias Federais Brasileiras: caracterização, tendências e custos para a sociedade*. Relatório de Pesquisa, Brasília, 2015.

INPAD- Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas. III Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD). São Paulo: FIOCRUZ/ICICT; 2017.

Kapczinski F, Amaral OB, Madruga M, Quevedo J, Busnello JV, Lima MS. Use and misuse of benzodiazepines in brazil: a review. *Sust Use Misuse*. 2011; 36(8): 1053-1069.

Kempf J, Wuske T, Schubert R, Weinmann W. Pre-analytical stability of selected benzodiazepines on a polymeric oral fluid sampling device. *Forensic Sci Int*. 2009; 186(1-3):81-5. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.02.004.

Lacey JH. 2007 National Roadside Survey of Alcohol and Drug Use by Drivers: Drug Results. *NHTSA*, 2009.

Lardelli-Claret P, Luna-Del-Castillo JD, Jiménez-Moleón JJ, Rueda-Domínguez T, García-Martín M, Femia-Marzo P, Bueno-Cavanillas A. Association of Main Driver-dependent Risk Factors with the Risk of Causing a Vehicle Collision in Spain, 1990–1999. *Ann of Epidemiol*. 2003; 13(7): 509-517.

Leyton V, Sinagawa DM, Oliveira KC, Schmitz W, Andreuccetti G, De Martinis BS, Yonamine M, Munoz DR. Amphetamine, cocaine and cannabinoids use among truck drivers on the roads in the State of Sao Paulo, Brazil. *Forensic Sci Int*. 2012; 215(1-3): 25-27.

Leyton V, Andreuccetti G, Almeida RM, Muñoz DR, Walls HC, Greve JMD, Montal JHC, Adura FE, Yonamine M. Hair drug testing in the new Brazilian regulation to obtain professional driver's licence: no parallel to any other law enforcement in the world. *Addiction*. 2015; 110(7): 1207-1208.

Moeller KE, Lee KC, Kissack JC. Urine Drug Screening: Practical Guide for Clinicians. *Mayo Clinic Proceedings*. 2008; 83(1): 66-76.

Maccall CA, Ritchie G, Sood M. Oral fluid testing as an alternative to urine testing for drugs of abuse in inpatient forensic settings: giving patients choice. *Scott Med J*. 2013; 58(2): 99-103.

Mandrioli R, Mercolini L, Raggi MA. Benzodiazepine Metabolism: An Analytical Perspective. *Cur Drug Metab*. 2008; 9(8): 827-844.

Meister R, von Wolff A, Mohr H, Härter M, Nestoriuc Y, Hölzel L, Kriston L. Comparative Safety of Pharmacologic Treatments for Persistent Depressive Disorder: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016; 11(5): e0153380.

Montesano C, Simeoni MC, Curini R, Sergi M, Lo Sterzo C, Compagnone D. Determination of illicit drugs and metabolites in oral fluid by microextraction on packed sorbent coupled with LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(13):3647-58. doi: 10.1007/s00216-015-8583-8.

Moreno RA, Moreno DH, Soares, MBM. Psicofarmacologia de antidepressivos. *Rev Bras Psiquiatr*. 1999; 21: 24-40.

Ocaña-González JA, Fernández-Torres R, Bello-López MÁ, Ramos-Payán M. New developments in microextraction techniques in bioanalysis. A review. *Anal Chim Acta*. 2016; 905:8-23.

Oga S, Camargo MMA, Batistuzzo JAO. Fundamentos de toxicologia. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2008.

Panizza HN. Prevalência do uso de drogas ilícitas e medicamentos por motoristas de caminhão que trafegam em rodovias do estado de São Paulo [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2020.

Pechansky F, Duarte PCAV, Boni R. *Uso de bebidas alcoólicas e outras drogas nas rodovias brasileiras e outros estudos*. Porto Alegre: Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas, 2010.

Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Anal Chem*. 1999; 71(14): 2650-6.

Persona K, Madej K, Knihnicki P, Piekoszewski W. Analytical methodologies for the determinations of benzodiazepines in biological samples. *J Pharm Biomed Anal*. 2015; 113: 239-264.

Peters FT, Drummer OH, Musshoff F. Validation of new methods. *Forensic Sci Int*. 2007; 165(1-3): 216-224.

Prosser JM, Hoffman, RS. *Cocaine*. In: Nelson LS, Lewin NA, Howland MA, Hoffman RS, Goldfrank LR, Flomenbaum NE. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. New York: McGraw-Hill, 2015.

Ramos L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. *J Chromatogr A*. 2012; 1221: 84-98.

Riss J, Cloyd J, Gates J, Collins S. Benzodiazepines in epilepsy: pharmacology and pharmacokinetics. *Acta Neurol Scand*. 2008; 118 (2): p. 69-86.

Ricci G, Majori S, Mantovani W, Zappaterra A, Rocca G, Buonocore F. Prevalence of alcohol and drugs in urine of patients involved in road accidents. *J Prev Med Hyg*. 2008; 49(2): 89-95.

Santos MF, Yamada A, Seulin SC, Leyton V, Pasqualucci CAG, Muñoz DR, Yonamine M. Liquid-Phase Microextraction and Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of Antidepressants in Vitreous Humor: Study of Matrix Effect of Human and Bovine Vitreous and Saline Solution. *J Anal Toxicol*. 2016; 40(3):187-93.

Schulze H, Schumacher M, Urmeew R, Auerbach K. *Final Report: Work performed main results and recommendations*. DRUID, 2012.

Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX). Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. *J Anal Toxicol*. 2013; 37(7): 452-74.

Siegel JA, Sauko PJ, Houk MM. Encyclopedia of Forensic Sciences. Academic Press, 2013. 2250p.

Silva-Júnior FP, Pinho RS, Mello MT, Bruin VM, Bruin PF. Risk factors for depression in truck drivers. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2009; 44(2): 125-129.

Simonsen KW, Steentoft A, Hels T, Bernhoft IM, Rasmussen BS, Linnet K. Presence of psychoactive substances in oral fluid from randomly selected drivers in Denmark. *Forensic Sci Int*. 2012; 221(1-3): 33-38.

SNGPC - Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados. Magnitude dos dados do SNGPC: o que eles nos revelam? *Boletim de Farmacoepidemiologia do SNGPC*. 2011; 2(1): 2-9.

Takitane J. Verificação do uso de anfetaminas ("rebite") por motoristas profissionais através da análise toxicológica em urina [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2014.

Takitane J, Oliveira LG, Endo LG, Oliveira KCBG, Muñoz DR, Yonamine M, Leyton V. Uso de anfetaminas por motoristas de caminhão em rodovias do Estado de São Paulo: um risco à ocorrência de acidentes de trânsito? *Ciência e Saúde Coletiva*. 2013; 18(5): 1247-54.

Takitane J, Sinagawa DM, Santos MF, Rohlf WJC, Prado NV, Oliveira KCBG, Bombana HS, Muñoz DR, Leyton V. Uso de drogas ilícitas e medicamentos por motoristas de caminhão em

rodovias do estado de São Paulo: estudo preliminar. In: XI Congresso Brasileiro sobre Acidentes e Medicina de Tráfego; 2015; Gramado.

Uddin MN, Samanidou VF, Papadoyannis IN. HPLC method for simultaneous determination of 1,4-benzodiazepines and tricyclic antidepressants in pharmaceutical formulations and saliva - A useful tool in medicinal chemistry. *J Liq Chrom Relat Tech*. 2009; 32(10): 1475-1504.

Uddin MN, Samanidou VF, Papadoyannis IN. Simultaneous Determination of 1,4-Benzodiazepines and Tricyclic Antidepressants in Saliva after Sequential SPE Elution by the Same HPLC Conditions. *J Chin Chem Soc*. 2011; 58(2): 142-154.

Ugland HG, Krogh M, Reubsaet L. Three-phase liquid-phase microextraction of weakly basic drugs from whole blood. *J Chromatogr B*. 2003; 798: 127-135.

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. *Recommended methods for the detection and assay of barbiturates and benzodiazepines in biological specimens*. Manual for use by national laboratories, New York (NY): United Nations 1997.

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*. New York (NY): United Nations; 2009.

Veisten K, Houwing S, Mathijssen MP, Akhtar J. Is law enforcement of drug-impaired driving cost-efficient? An explorative study of a methodology for cost-benefit analysis. *Int J Drug Policy*. 2013; 24(2): 122-134.

Verster JC, Veldhuijzen DS, Volkerts ER. Residual effects of sleep medication on driving ability. *Sleep Med Rev*. 2004; 8(4): 309-325.

Vindenes V, Lund HM, Andresen W, Gjerde H, Ik Dahl SE, Christophersen AS, Øiestad EL. Detection of drugs of abuse in simultaneously collected oral fluid, urine and blood from Norwegian drug drivers. *Forensic Sci Int*. 2012; 219(1-3): 165-171.

Wong RC, Tran M, Tung JK. Oral fluid drug tests: Effects of adulterants and foodstuffs. *Forensic Sci Int*. 2005; 150(2-3): 175-180.

WHO - World Health Organization. *Programme on Substance Abuse – Rational Use of Benzodiazepines*. WHO: Geneva; 1996.

WHO - World Health Organization. *Global status report on road safety 2015*. WHO: Italia; 2015.

WHO - World Health Organization. *Global status report on road safety 2018*. WHO: Italia; 2018.