UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Avaliação da presença de drogas de abuso em amostras de sangue
colhidas de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região
Metropolitana de Vitória-ES**

Fabício Souza Pelição

Ribeirão Preto
2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Avaliação da presença de drogas de abuso em amostras de sangue
colhidas de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região
Metropolitana de Vitória-ES**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Toxicologia para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Área de concentração: Toxicologia.

Orientado: Fabrício Souza Pelição
Orientador: Prof. Dr. Bruno Spinosa De
Martinis
Coorientadora: Prof. Dra. Maria das
Graças Corrêa de Faria

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia no dia 15/10/2014. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Pelição, Fabrício Souza

Avaliação da presença de drogas de abuso em amostras das de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região Metropolitana de Vitória-ES. Ribeirão Preto, 2014.

113 p. : il. ; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Toxicologia.

Orientador: De Martinis, Bruno Spinosa.

1. Drogas de abuso. 2. Trânsito. 3. Condutores de veículos automotores. 4. acidentes fatais.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fabício Souza Pelção

Avaliação da presença de drogas de abuso em amostras das de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região Metropolitana de Vitória-ES.

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Toxicologia para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Toxicologia.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Spinosa De
Martinis

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Durante todo o tempo em que este trabalho foi desenvolvido recebi o apoio de várias pessoas e também de algumas instituições, as quais não poderia deixar de agradecer nesse momento.

Ao Prof. Dr. Bruno Spinosa De Martinis, orientador deste trabalho, pela amizade e ensinamentos transmitidos. Desejo que possamos realizar juntos muitos outros trabalhos.

A Profa. Dra. Maria das Graças Corrêa de Faria, Perita Bioquímica Toxicologista da Polícia Civil do ES e co-orientadora deste trabalho, agradeço, principalmente, pela confiança depositada. Saiba que nunca esquecerei o que fez por mim.

Aos demais colegas do Laboratório de Toxicologia da Polícia Civil do ES: Daniela, Jauber, Josidéia e Raquel pelas opiniões e ensinamentos compartilhados, ou, simplesmente, pela companhia.

Agradeço também à Profa. Dra. Ester Miyuki Nakamura-Palacios, pela participação neste trabalho. Obrigado por sempre estar disposta a partilhar seu conhecimento.

Aos colegas do Laboratório de Análise Toxicológica Forense: Aline, Dayane, Laís, Lidiane, Marcela, Thiago e outros por sempre tratarem com especial amizade esse “forasteiro”. Agradecimento especial à colega de doutorado e profissão, Mariana Dadalto Peres, pela preciosa ajuda em todos os momentos.

Aos meus pais, Helvécio Pelicão e Maria Lúcia Souza Pelicão, agradeço por toda a formação e oportunidades oferecidas. Amo vocês!

Aos meus irmãos João Guilherme e Isabela, pelo apoio em todos os momentos.

Agradecimento todo especial à minha esposa, Tatiana de Resende Có Pelício, pelo companheirismo, preocupação, carinho, cuidado, dedicação, amizade, amor e, neste período, principalmente, paciência.

Às minhas filhas, Laís e Luana, que em suas inocências infantis, suportaram minha ausência em vários momentos. Obrigado por me receberem sempre com sorrisos, beijos e abraços que me motivaram sempre a concluir essa jornada.

À Deus, por mais um sonho realizado. Obrigado por colocar pessoas tão especiais em meu caminho.

RESUMO

PELIÇÃO, F.S. **Avaliação da presença de drogas de abuso em amostras de sangue colhidas de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região Metropolitana de Vitória-ES.** 2014. 113p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Dirigir sob a influência de álcool e drogas ilícitas tem sido um tema de crescente preocupação em países desenvolvidos, contudo a pesquisa toxicológica de outras drogas, que não o álcool, em vítimas fatais de acidentes de trânsito ainda é pouco estudada. Este estudo realizou a pesquisa toxicológica de álcool e drogas ilícitas (cocaína, anfetaminas e cannabis) em 391 vítimas fatais de acidentes de trânsito atendidas pelo DML de Vitória – ES, durante os anos de 2011 e 2012. As vítimas foram compostas por 337 homens (86,2%) e 54 mulheres (13,8%), com média de idade de 37 anos (mínimo 16 e máximo 83). Amostras coletadas de motoristas representaram 59% do total de amostras (n=230), enquanto passageiros e pedestres foram responsáveis por 14% e 12%, respectivamente (n=56 e n=46). Os acidentes automobilísticos foram responsáveis por 178 mortes (46%), seguidos por acidentes motociclísticos, com 149 mortes (38%) e por atropelamentos, com 59 mortes (15%). Para a pesquisa toxicológica de drogas ilícitas em amostras de sangue total, um método analítico combinando extração em fase sólida e análise quantitativa dos analitos por GC-MS foi desenvolvido e validado. Os analitos pesquisados foram: cocaína, cocaetileno, éster de metil ecgonina (EME), éster de metilandroecgonina (EMA), anfetamina, metanfetamina, MDMA, MDA, MDEA, femproporex, anfepramona, Delta-9 THC e 11-nor-9-Carboxi- Δ^9 -THC. A pesquisa toxicológica dos casos estudados determinou que 44,8% destes foram positivos para álcool e/ou drogas ilícitas. Não foram evidenciadas diferenças entre motoristas, passageiros e pedestres (motoristas = 45,9%, passageiros = 46,4% e pedestres = 45,6%). A detecção de álcool e/ou drogas foi mais frequente em vítimas do sexo masculino com idades entre 16 e 34 anos, positivos em 46,8% dos casos. Em geral, a droga mais prevalente foi o álcool, com 141 casos positivos (36,1%), dos quais apenas nove (2,3%) apresentaram alcoolemia inferior a 6 dg/L, seguida pela cocaína, com 47 casos positivos (12%). Anfetaminas e cannabis tiveram positivities de 4,1%, com 16 casos positivos, cada. O uso simultâneo de álcool e outras drogas foi encontrado em 36 casos, correspondendo a 9,2% das vítimas e o uso de crack foi comprovado em 27,7% dos casos positivos para cocaína através da detecção do EMA. O alto índice de casos positivos em vítimas fatais de acidentes de trânsito sugere relação com o risco aumentado ao conduzir veículos automotores sob o efeito de álcool e/ou drogas ilícitas. Para a efetiva diminuição dos acidentes de trânsito relacionados ao uso de álcool e/ou drogas ilícitas, sugere-se a intensificação de ações de fiscalização direcionadas ao uso do álcool por motoristas, a formulação de leis do tipo *per se*, que definam quais drogas deverão ser pesquisadas no contexto do trânsito, e o estabelecimento do chamado consentimento implícito para fornecimento de amostras para realização de análises toxicológicas, visando a segurança do coletivo em detrimento de direitos individuais, como o de se recusar a fornecer amostras para realização de exames toxicológicos.

Palavras-chave: drogas de abuso, trânsito, condutores de veículos automotores, acidentes fatais.

ABSTRACT

PELIÇÃO, F.S. **Evaluation of the presence of drugs of abuse in blood samples collected from deceased victims due to traffic accidents in the metropolitan region of Vitória-ES.** 2014. 113p. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Driving under the influence of alcohol and illicit drugs has been a topic of increasing concern in developed countries. However, the toxicological testing of drugs, other than alcohol, in victims of fatal crashes is still poorly studied. A toxicological survey of alcohol and illicit drugs (cocaine, amphetamines and cannabis) was conducted in 391 deceased victims due to traffic accidents attended by the Department of Forensic Medicine of Vitória-ES, during 2011 and 2012. Victims were composed by 337 men (86,2%) and 54 women (13,8%), with mean age of 37 years (minimum 16 and maximum 83). Samples of drivers accounted for 59% of the total sample (n=230), while passengers and pedestrians samples accounted for 14% and 12%, respectively (n=56 and n=46). Automobile accidents were responsible for the majority of deaths, a total of 178 (46%), followed by motorcycle accidents with 149 deaths (38%) and pedestrian accidents, with 59 deaths (15%). For toxicological search of illicit drugs in whole blood samples, an analytical method combining solid phase extraction and quantitative analysis of all analytes by GC-MS has been developed and validated. The analytes studied were: cocaine, cocaethylene, ecgonine methyl ester (EME), anhydroecgonine methyl ester (AEME), amphetamine, methamphetamine, MDMA, MDA, MDEA, femproporex, amphetamine, Delta-9 THC and 11-nor-9-Carboxy - Δ 9-THC. The toxicological analysis of the samples determined that 44,8% of all cases were positive for alcohol and/or illicit drugs. No differences among drivers, passengers and pedestrians were observed (drivers = 45,9%, passengers=46,4% and pedestrians=45,6%). The detection of alcohol and/or drugs was more frequent in young males, aged 16 to 34, whose samples were positive in 46,8% of cases. In general, the most prevalent drug was alcohol, with 141 positive cases (36,1%), which only nine (2,3%) presented concentrations of alcohol below than 6,0 dg/L, followed by cocaine, with 47 positive cases (12%). Amphetamines and cannabis had positivity rates of 4,1%, with 16 positive cases each. The combined use of alcohol and other drugs was found in 36 cases, representing 9,2% of all cases. Crack use was observed in 27,7% of the positive cases for cocaine, by analytical detection of AEME. The high rate of positive cases found in deceased victims of fatal crashes suggests relation to the increased risk of driving under the influence of alcohol and/or illicit drugs.

For the effective reduction of traffic accidents related to driving under influence of drugs (DUID), we suggest the intensification of enforcement actions against the use of alcohol by drivers, the formulation of *per se* laws, with a clear definition of which drugs should be surveyed, and the establishment of the so-called implied consent, in which the granting of driver's license implies the fulfillment of a series of standards for the security of the collective, rather than individual's own rights, such as refusing to provide samples for drug testing.

Keywords: drugs of abuse, traffic accidents, DUID.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Biotransformação e produto de pirólise da cocaína. Adaptado de: COGNARD et al., 2005.	15
Figura 2 – Estrutura das anfetaminas. Fonte: SOUZA et al., 2011.	16
Figura 3 – Estrutura das anfetaminas (metilenodióxi derivados). Fonte: GREEN et al., 2003.	17
Figura 4 – Biotransformação do Delta-9 tetrahydrocannabinol (THC). Adaptado de: SUZUKI; WATANABE, 2002.	19
Figura 5 – Cromatograma de uma amostra de sangue total isenta dos analitos de interesse e adicionada de padrões internos (amostra branco).....	39
Figura 6 – Cromatograma de uma amostra de sangue total adicionada dos analitos de interesse no LQ de cada analito.	40
Figura 7 – Cromatograma de uma amostra de sangue total adicionada dos analitos de interesse e padrões internos na concentração de 200 ng/mL, que corresponde ao controle de qualidade médio (CQ2).....	41
Figura 8 – Curvas de calibração da anfetamina, metanfetamina, MDMA e MDA.....	45
Figura 9 – Curvas de calibração da anfepramona, femproporex, MDEA e EMA.....	45
Figura 10 – Curvas de calibração da cocaína, cocaetileno, Delta-9 THC e Carboxi-THC.....	46
Figura 11 – Curvas de calibração do éster de metilecgonina (EME).....	46
Figura 12 – Distribuição das vítimas de acidentes de trânsito por municípios da Região Metropolitana de Vitória.	52
Figura 13 – Distribuição das vítimas de acidentes de trânsito entre motoristas, passageiros, pedestres e não informado (NI).....	53
Figura 14 – Distribuição dos acidentes de trânsito entre automobilísticos, motociclísticos, atropelamentos e não informado (NI).....	53
Figura 15 – Resultado da análise toxicológica por faixa etária.....	55
Figura 16 – Frequência de uso de drogas nas vítimas fatais de acidentes de trânsito.	55
Figura 17 – Frequência de uso de drogas entre condutores, vítimas fatais de acidentes de trânsito.	56
Figura 18 – Prevalência das classes de drogas e associações.	59

Figura 19 – Resultado qualitativo das análises toxicológicas em número de casos na população estudada.	60
Figura 20 - Prevalência das classes de drogas ilícitas, álcool e associações.	61
Figura 21 – Cromatograma de um caso positivo para cocaína e metabólitos.	61
Figura 22 – Positividade para o uso de <i>crack</i> dentre usuários de cocaína.	62
Figura 23 - Uso de <i>crack</i> dentre as vítimas positivas para cocaína.	63
Figura 24 – Cromatograma de um caso positivo para femproporex e anfetamina.	66
Figura 25 – Número de casos positivos para drogas da classe das anfetaminas.	67
Figura 26 – Número de casos positivos para cannabis.	68
Figura 27 – Resultados de alcoolemia distribuídos por faixas de concentração.	72
Figura 28 – Positividade para álcool e/ou drogas ilícitas nas diferentes vítimas de acidentes de trânsito.	73
Figura 29 – Positividade para álcool e classes de drogas ilícitas nas diferentes vítimas de acidentes de trânsito.	74
Figura 30 – Positividade para álcool e drogas ilícitas de condutores de veículos automotores.	75
Figura 31 – Positividade para álcool e classe de drogas ilícitas em condutores de veículos automotores.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de <i>cut-off</i> de drogas de abuso em diferentes estudos (ng/mL). ...	9
Tabela 2 - Íons de identificação, quantificação e TR's dos analitos.	30
Tabela 3 – Concentrações dos CQ's baixo, médio e alto para cada analito.	34
Tabela 4 – Avaliação das amostras com concentrações no Limite Inferior de Quantificação (LIQ), na presença de interferentes.	42
Tabela 5 - Limites de Detecção (LD) e Limites Inferiores de Quantificação (LIQ).	43
Tabela 6 - Faixa de linearidade e coeficiente de determinação (r^2) dos analitos estudados.	44
Tabela 7 - Valores de precisão e exatidão intra e inter-ensaio.	47
Tabela 8 – Valores de recuperação dos analitos.	49
Tabela 9 – Frequência de vítimas por gênero e faixa etária. Dados em número de vítimas e porcentagem.	54
Tabela 10 – Resultado qualitativo das análises toxicológicas por grupo de vítimas. Dados em número de vítimas e porcentagem.	57
Tabela 11 – Relação de motoristas com positividade simultânea para álcool e drogas ilícitas.	58
Tabela 12 – Resultados quantitativos (ng/mL) para pesquisa de drogas ilícitas em caso de uso de múltiplas drogas.	59
Tabela 13 – Prevalências e resultados quantitativos dos casos positivos para cocaína e seus marcadores (ng/mL).	64
Tabela 14 – Prevalências e resultados quantitativos dos casos positivos para anfetaminas (ng/mL).	67
Tabela 15 – Prevalências e resultados quantitativos dos casos positivos para cannabis (ng/mL).	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS – Organização Mundial de Saúde
WHO – World Health Organization
CTB – Código de Trânsito Brasileiro
CONTRAN – Conselho Nacional de Trânsito
DPRF – Departamento de Polícia Rodoviária Federal
GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
LC-MS/MS - Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas *in tandem*
UNODC – United Nations Office on Drugs and Crime
SNC – Sistema Nervoso Central
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
COC – Cocaína
CE – Cocaetileno
EME – Éster de Metil Ecgonina
EMA – Éster de Metilanidroecgonina
BE – Benzoilecgonina
THC – Delta-9 Tetrahydrocannabinol
COOHTHC – 11-nor-9-Carboxi-Delta-9-Tetrahydrocannabinol
ANF – Anfetamina
MET – Metanfetamina
MDMA – Metilenodioximetanfetamina
MDA – Metilenodioxianfetamina
MDEA – Metilenodioxietilanfetamina
FEMP – Femproporex
ANFEPR – Anfeparamona
LD – Limite de Detecção
LIQ – Limite Inferior de Quantificação
TR – Tempo de Retenção
LQ – Limite de Quantificação
LSQ – Limite Superior de Quantificação
DPR – Desvio Padrão Relativo
DP – Desvio Padrão

CMD – Concentração Média Determinada

CQ – Concentração Teórica

DML – Departamento Médico Legal

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de figuras	iii
Lista de tabelas	v
Lista de abreviaturas e siglas	vi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 ÁLCOOL	10
1.2 COCAÍNA	13
1.3 ANFETAMINAS	16
1.4 CANNABIS	18
1.5 USO CONCOMITANTE DE MÚLTIPLAS DROGAS	20
2 OBJETIVOS	23
2.1 OBJETIVO GERAL	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 TIPO DE ESTUDO	25
3.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	25
3.3 AMOSTRA ESTUDADA	25
3.4 ANÁLISE DE ÁLCOOL	25
3.5 ANALITOS PESQUISADOS	26
3.6 MATERIAIS E REAGENTES	26
3.7 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS	27
3.8 CALIBRADORES E CONTROLES	28
3.8 PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS	28
3.9 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	29
3.10 PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO ANALÍTICA	30
3.10.1 ESPECIFICIDADE/SELETIVIDADE	31
3.10.2 LIMITE DE DETECÇÃO (LD)	32
3.10.3 LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)	32
3.10.4 LINEARIDADE	32
3.10.5 PRECISÃO	33
3.10.6 EXATIDÃO	34
3.10.7 RECUPERAÇÃO	35

3.10.8 ESTABILIDADE.....	35
3.10.9 <i>CARRYOVER</i>	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1.1 ESPECIFICIDADE/SELETIVIDADE	38
4.1.2 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	42
4.1.3 LINEARIDADE	43
4.1.4 PRECISÃO E EXATIDÃO	46
4.1.5 RECUPERAÇÃO.....	48
4.1.6 <i>CARRYOVER</i>	50
4.2 APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE EM AMOSTRAS DE SANGUE TOTAL DE VÍTIMAS FATAIS DE ACIDENTES DE TRÂNSITO.	51
5 CONCLUSÕES	78
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
7 APÊNDICE – Resultados quantitativos de todos os casos positivos para drogas ilícitas (n=70).....	97
8 ANEXO – CÓPIA DA APROVAÇÃO EM COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	98
8.1 ANEXO 1 – CÓPIA DA APROVAÇÃO EM COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	98

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os acidentes de trânsito permanecem como um grande problema de saúde pública. Estudo realizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que mais de 1,2 milhões de pessoas morrem anualmente em consequência de acidentes de trânsito em todo o mundo, sendo que mais de 91% dessas mortes ocorrem em países em desenvolvimento. Além disso, grande parte dessas mortes ocorre na parcela da população correspondente a adultos em idade produtiva, com importante perda de força de trabalho e reflexo negativo na economia desses países (WHO - GLOBAL STATUS REPORT, 2009).

De fato, os acidentes de trânsito também representam um elevado custo anual para os países em desenvolvimento. Numa estimativa conservadora, o Governo do Estado de São Paulo calcula que o custo dos acidentes de trânsito chega a cerca de 1% do PIB nacional (MARÍN, QUEIROZ, 2000). O Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) estima que o custo total gerado por acidentes de trânsito é de R\$ 22 bilhões por ano, sendo que a maior parte dos custos refere-se à perda de produção associada à morte das pessoas ou interrupção de suas atividades, seguido dos custos de cuidados em saúde, além daqueles associados aos veículos (IPEA, 2006).

Apesar da constante adoção de medidas para aumentar a segurança no trânsito, ainda há muito que se fazer, especialmente nos países em desenvolvimento. São nesses países em que ocorre a vasta maioria das mortes por acidentes de trânsito (91,5%), apesar destes possuírem menos da metade dos veículos registrados no mundo (48%) (WHO - GLOBAL STATUS REPORT, 2009).

O Brasil, por exemplo, possui uma taxa de mortalidade por acidentes de trânsito de 18,3 mortes por 100.000 habitantes. Essa taxa se manteve praticamente inalterada nos últimos 25 anos, enquanto alguns países desenvolvidos, como o Canadá, experimentaram reduções de 30 para menos de 10 mortes por 100.000 habitantes nesse mesmo período (WHO - GLOBAL STATUS REPORT, 2009).

De todas as mortes provocadas por acidentes de trânsito no mundo, cerca de 62% ocorrem em apenas 10 países. São eles: China, Índia, Nigéria, Estados Unidos, Paquistão, Indonésia, Rússia, Brasil, Egito e Etiópia (WHO - GLOBAL STATUS REPORT, 2009). Esses países participam do projeto intitulado *Road Safety in 10 Countries* (RS10), financiado pela Bloomberg Filantropia e que visa a condução de

atividades que irão promover a segurança nas estradas em um período de 5 anos (2010 – 2014) (WHO - ROAD SAFETY IN 10 COUNTRIES, 2010).

No Brasil algumas medidas foram colocadas em prática na tentativa de diminuir os acidentes de trânsito, embora sem sucesso. Novas leis, controle de tráfego local, melhoria na segurança dos veículos e aumento no monitoramento eletrônico do tráfego falharam ao tentar reduzir mortes e lesões graves (BACCHIERI; BARROS, 2011).

Dentre todas as possíveis causas de acidentes de trânsito, o uso de álcool e outras drogas é mundialmente reconhecido como um importante fator de risco. O uso dessas substâncias pode prejudicar a capacidade de julgamento do motorista e ocasionar o aparecimento de outros comportamentos de risco, como aumento de velocidade, agressividade, alteração de percepção e violação de regras de trânsito, que contribuem para o acontecimento de acidentes de trânsito (DAS et al., 2012; JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008a; MCINTOSH; O'BRIEN; MCKEGANEY, 2006; WALSH et al., 2004).

Nesse sentido, um tema de crescente interesse é o estudo do envolvimento do álcool, drogas prescritas e drogas proscritas interferindo na capacidade de dirigir veículos automotores e contribuindo para a ocorrência de acidentes (ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009).

De fato, o consumo de álcool e sua relação direta com acidentes de trânsito já são bem conhecidos pela sociedade, contudo a pesquisa toxicológica de outras drogas que alteram o comportamento de condutores de veículos ainda é pouco estudada, principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil (JONES et al., 2009; NHTSA, 2010; YONAMINE et al., 2013).

A relação entre o uso de álcool e o risco aumentado de acidentes de trânsito começou a ser comprovada durante a década de 1920, quando os carros passaram a ser produzidos em linhas de montagem, com considerável aumento da frota de veículos. Logo, os acidentes aumentaram e constatou-se que muitos desses acidentes estavam relacionados ao uso de álcool (MASON; DUBOWSKI, 1974).

Não tardou muito para que o uso de álcool por motoristas começasse a ser fiscalizado. Nos Estados Unidos, a aplicação de testes químicos para esse propósito é utilizada desde a década de 1940, intensificando-se após 1965, quando o Congresso daquele país passou a discutir, mais profundamente, questões relacionadas aos meios de transporte (MASON; DUBOWSKI, 1974).

Desde então, observa-se um crescente interesse, por parte de diversos países, no estudo da participação do álcool e outras drogas nos acidentes de trânsito visando orientar a adoção de medidas que objetivam a redução da incidência desses acidentes (ALVAREZ; FIERRO; DEL RÍO, 2007). De fato, legislações proibindo a presença de álcool acima de certos limites, em conjunto com o uso de etilômetros no local de abordagem de motoristas, são estratégias adotadas há décadas por muitos países, mas a criação de novas leis e métodos capazes de detectar a presença de outras drogas além do álcool em motoristas é bastante recente em alguns países (VEISTEN et al., 2013).

Nesse contexto, países europeus definiram como ações prioritárias para a redução no número de mortes no trânsito a atuação continuada contra o problema de motoristas que dirigem sob o efeito de álcool, bem como a busca por soluções para o uso de outras drogas que causem prejuízo na capacidade de operar veículos automotores (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2001).

De acordo com Ogden e Moskowitz (2004), a expressão “prejuízo na capacidade de operar veículos automotores” pode ser definida como qualquer piora no desempenho de habilidades necessárias a uma direção segura.

No Brasil, o artigo 165 do Código de Trânsito Brasileiro (CTB), Lei Nº 9.503, de 23 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997), modificado pela Lei Nº 11.705, de 19 de junho de 2008 (BRASIL, 2008), preceitua que:

Art. 165. Dirigir sob a influência de álcool ou de qualquer outra substância psicoativa que determine dependência:
Infração – gravíssima;

Fato que chama a atenção sobre a realidade brasileira é que, embora haja previsão legal para aplicação de penalidades em condutores de veículos que estejam sob o efeito de outras substâncias psicoativas que causem dependência (drogas lícitas ou ilícitas), na prática não há ações específicas para identificação e quantificação desse problema.

De forma semelhante, a Resolução Nº 432, de 23 de Janeiro de 2013 do Conselho Nacional de Trânsito (CONTRAN), em seu Art. 3º, determina que:

Art. 3º A confirmação da alteração da capacidade psicomotora em razão da influência de álcool ou de outra substância psicoativa que determine dependência dar-se-á por meio de, pelo menos, um dos seguintes procedimentos a serem realizados no condutor de veículo automotor:

I – exame de sangue;

II – exames realizados por laboratórios especializados, indicados pelo órgão ou entidade de trânsito competente ou pela Polícia Judiciária, em caso de consumo de outras substâncias psicoativas que determinem dependência;

Diante do exposto, torna-se necessário a realização de uma investigação toxicológica mais abrangente nas vítimas de acidentes de trânsito. Conforme sugeriram Alvarez, Fierro e Del Río (2007), os dados toxicológicos obtidos podem ser de grande utilidade para o desenvolvimento de políticas de prevenção direcionadas àqueles que dirigem sob a influência de drogas.

Uma questão de grande importância jurídica, no entanto, é correlacionar os sintomas apresentados por um dado motorista com a substância utilizada, se é que existe alguma, já que os sintomas de uma intoxicação alcoólica, por exemplo, confundem-se facilmente com processos naturais, patológicos ou intoxicações por uso de outras substâncias (MASON; DUBOWSKI, 1974). Dessa forma, o uso de métodos que determinem com elevado grau de certeza a presença (ou ausência) de drogas em amostras biológicas de motoristas suspeitos de dirigirem sob o efeito de substâncias é extremamente importante.

Sabidamente, a intensificação de fiscalizações policiais é eficaz ao retirar motoristas sob o efeito de álcool e/ou outras drogas de circulação, atuando na prevenção de acidentes. Adicionalmente, ações de fiscalização podem, se realizadas de forma adequada, mudar o comportamento de motoristas reduzindo a chance de reincidências por parte de alguns motoristas. Nesse sentido, a realização de exames toxicológicos é crucial para o sucesso de ações que visam a segurança no trânsito (LOGAN et al., 2013).

Entretanto, um grande complicador para a execução de testes para comprovação do uso de drogas pode ser o consentimento do suspeito em fornecer as amostras para análise. As leis britânicas e norte-americanas, por exemplo, protegem fortemente os indivíduos de se auto incriminarem, ou como se acostumou a dizer no Brasil, “ninguém é obrigado a produzir provas contra si mesmo”.

Assim, segundo Mason e Dubowski (1974), há apenas três tipos de suspeitos de dirigir embriagados que consentem em fornecer amostras para exames: 1) Os ignorantes; 2) Os amedrontados ou apavorados; e 3) Aqueles que estão tão embriagados que não são capazes de avaliar as vantagens em recusar o fornecimento de amostras ou executar qualquer tipo de teste.

A necessidade de consentimento foi amplamente abandonada nos Estados Unidos após a aprovação de legislação que trata sobre “consentimento implícito”. Essa legislação baseia-se no princípio de que dirigir um veículo em vias públicas é um privilégio concedido pelo Estado e não um direito do cidadão, e a concessão da licença de motorista estipula que, caso o portador seja solicitado a realizar algum teste ou fornecer amostras biológicas ele terá que fazer, sob a pena de ter sua licença retida por períodos de seis meses a um ano (MASON; DUBOWSKI, 1974).

No Brasil, de acordo com o Artigo 165 do Código de Trânsito Brasileiro, o motorista que se recusa a fornecer amostras para testes que visam a detecção de álcool ou outras drogas também sofre penalidades administrativas, como multa de R\$ 1.915,30, suspensão do direito de dirigir por 12 meses e retenção do veículo até a apresentação de condutor habilitado (BRASIL, 1997).

Apesar da adoção de medidas semelhantes às aplicadas em outros países, dados do Departamento de Polícia Rodoviária Federal (DPRF) apontam que cerca de 20% dos motoristas abordados ainda se recusa a realizar o teste do etilômetro (DPRF, 2013).

No caso de recusa do condutor em fornecer amostras para análise, a lei brasileira também permite ao policial fazer a constatação do uso de substâncias psicoativas através da documentação de sinais clínicos apresentados por este. Contudo, a lei não é muito clara quanto aos sinais a serem descritos e, sem uma análise direta que determine adequadamente a presença e a concentração de álcool e outras drogas, há grande chance desta se tornar ineficaz (PECHANSKY; CHANDRAN, 2012).

Também é preciso considerar que as ações de fiscalização são muito voltadas para coibir uso de bebidas alcoólicas por motoristas através do uso do etilômetro e, além do fato do motorista frequentemente se negar a realizar o teste, esse procedimento não possui qualquer efetividade na identificação de outras drogas.

Assim, apesar do Brasil possuir uma lei de trânsito extremamente rigorosa quanto ao limite de álcool em condutores de veículos automotores (atualmente, zero), na prática sua aplicação ainda é deficiente e as discussões legais a respeito do interesse individual *versus* interesse coletivo dificultam ainda mais sua aplicação (PECHANSKY; CHANDRAN, 2012).

Em alguns países, a suspeita de que um motorista esteja com suas habilidades prejudicadas devido ao uso de alguma droga pode ser levantada através de dois tipos de abordagem, a saber: comportamental e analítica. A abordagem comportamental é feita por agentes treinados, através do reconhecimento de sinais ou sintomas como: midríase, olhos vermelhos, tremor, ou pelo fato do motorista com resultado negativo no etilômetro, estar com suas funções visivelmente prejudicadas (JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2007; WALSH et al., 2004). A abordagem analítica é aplicada após a identificação de um motorista que, supostamente, esteja sob o efeito de drogas, e pode ser de duas formas: 1) Aplicação de um teste rápido em amostras de saliva ou urina ainda no local da abordagem, como ocorre em alguns países europeus; e 2) Coleta de amostra biológica (frequentemente sangue) para análise por técnica cromatográfica em laboratórios capacitados. Não raro, ocorre a aplicação de todos os procedimentos acima descritos (WALSH et al., 2004).

Ainda segundo Walsh et al. (2004), e baseado no exposto acima, há três principais tipos de leis sobre drogas e direção: 1) Leis que exigem a demonstração de que a(s) droga(s) utilizada(s) tornou ou tornaram o motorista **incapaz** de dirigir de forma segura; 2) Leis que exigem a demonstração de que a(s) droga(s) utilizada(s) tornou ou tornaram a capacidade de o motorista dirigir de forma segura **prejudicada**; e 3) Leis de tolerância zero, ou leis *per se*, que definem como crime a presença (em quantidades superiores aos *cut-offs* pré-estabelecidos) de drogas ou metabólitos em amostras biológicas de motoristas.

Em suma, legislações do tipo *per se* definem que o achado de drogas em amostras de motoristas é suficiente para garantir a condenação do mesmo, independentemente de sua capacidade de dirigir estar ou não prejudicada (AUGSBURGER et al., 2005). Ou seja, essas leis se baseiam totalmente nos resultados dos ensaios analíticos e não necessitam de qualquer comprovação sobre o estado do motorista (DUPONT et al., 2012).

Segundo Walsh et al. (2004), o principal motivo para a adoção desse tipo de legislação foi que, ao contrário do álcool, é muito difícil apenar motoristas que dirigem sob o efeito de outras drogas, pois não é possível estabelecer um limite para as substâncias controladas como existe para o álcool. Em resumo, a adoção de legislações *per se* tenta remediar a desigualdade que existe entre o uso de álcool em comparação ao uso de outras drogas (lícitas ou ilícitas) na direção de veículos.

Dessa forma, o achado de qualquer quantidade de droga(s) em amostras de motoristas configura crime equivalente ao uso de álcool acima do limite legal.

De fato, a adoção desse tipo de legislação tornou mais fácil a aplicação de penalidades legais a motoristas que fazem uso de drogas. A necessidade de provar, em tribunal, que um dado motorista estava com capacidade diminuída ou prejudicada, ou mesmo que este estava incapacitado para dirigir veículos automotores de forma segura devido ao uso de drogas é uma abordagem difícil, e faz com que muitos desses motoristas não sejam punidos (OJANIEMI et al., 2009).

Alguns países entendem que legislações *per se* são as mais adequadas atualmente. Nos Estados Unidos existe um esforço do Governo para que os estados adotem legislações desse tipo, como parte da Estratégia Nacional de Controle de Drogas (*National Drug Control Strategy*) para reduzir a prevalência de motoristas sob efeito de drogas em 10% até 2015 (DUPONT et al., 2012). Atualmente, 15 estados norte-americanos adotaram, com algumas variações, legislações do tipo *per se* (DUPONT et al., 2012).

Relatos de países como Finlândia, Suécia e Suíça, que adotaram legislações do tipo *per se*, mostram que as apreensões de motoristas dirigindo sob o efeito de drogas aumentou bastante, em grande parte devido a maior facilidade de aplicação da lei, com consequente estímulo aos policiais a continuarem abordando suspeitos (AUGSBURGER et al., 2005; HOLMGREN et al., 2008; JONES, 2005; OJANIEMI et al., 2009).

Para comprovar que motoristas estavam sob o efeito de drogas quando da condução de veículos, o procedimento mais recomendado tem sido a coleta de sangue, considerado como a amostra mais adequada para avaliar se a capacidade de direção de motoristas está prejudicada devido ao consumo de drogas (AUGSBURGER et al., 2005; DUPONT et al., 2012; OJANIEMI et al., 2009; WALSH et al., 2004).

De fato, o sangue é a amostra que fornece as melhores informações a respeito do estado de intoxicação do indivíduo. Certamente, os efeitos comportamentais que cada droga é capaz de produzir devem ser relacionados à sua concentração no cérebro, porém o melhor indicador da concentração de determinada droga no cérebro é sua concentração no sangue. Apesar disso, a análise de amostras de sangue total é mais trabalhosa que a análise de amostras de urina, por exemplo, necessitando de laboratórios especializados e de tecnologias

sofisticadas, aceitas como o estado-da-arte, mas, justamente por isso, são invariavelmente admissíveis em tribunal (DUPONT et al., 2012; WALSH et al., 2004, 2008).

Outras amostras, como urina, saliva e suor, são frequentemente utilizadas para avaliação toxicológica de motoristas, mas qualquer que seja a amostra escolhida, essa apresentará algum tipo de desvantagem relacionada à coleta, manuseio, transporte ou método analítico a ser utilizado. Ainda, dependendo da amostra, também haverá problemas relacionados à interpretação dos resultados obtidos (WALSH et al., 2004). Além disso, todas as amostras citadas acima podem não ser disponíveis no caso de avaliações *post-mortem*.

Dificuldade presente na coleta de amostras de sangue em vítimas fatais refere-se ao pouco volume de sangue disponível em vítimas poli traumatizadas. Nesses casos, não é incomum que a coleta seja realizada de sangue acumulado em cavidades. Esse sangue, contudo, deve ser totalmente rejeitado para fins quantitativos pela elevada possibilidade de contaminação por bactérias ou pelo conteúdo estomacal e/ou urina, em casos de rompimento do estômago e/ou bexiga, respectivamente (KARCH, 2007). A coleta do sangue de cavidades cardíacas também não deve ser considerada para fins de análises quantitativas, devido ao fenômeno de redistribuição *post-mortem* que algumas drogas sofrem. Dentre as drogas pesquisadas neste estudo, o MDMA, o MDA e o MDEA são mais propensos a sofrer o fenômeno de redistribuição (DRUMMER, 2007).

Para a análise toxicológica visando à detecção de drogas de abuso em amostras obtidas de motoristas, as técnicas analíticas mais utilizadas são a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas *in tandem* (LC-MS/MS). Independente da técnica a ser utilizada, é importante que o método utilizado seja capaz de detectar baixas concentrações dos analitos pesquisados. Esses valores, denominados *cut-offs*, ou valores de corte, são geralmente iguais ou muito próximos aos limites de quantificação do método, mas podem variar de estudo para estudo, principalmente, em virtude da lei existente em cada país (FARRELL; KERRIGAN; LOGAN, 2007; JONES et al., 2009; WALSH et al., 2008). A Tabela 1 mostra alguns valores de *cut-off* recomendados ou aplicados por diferentes autores.

Tabela 1 – Valores de *cut-off* de drogas de abuso em amostras de sangue em diferentes estudos (ng/mL).

Analito	(FARRELL; KERRIGAN; LOGAN, 2007)	(WALSH et al., 2008)	(CARMEN DEL RÍO et al., 2002)	(KUYPERS et al., 2012)
ANF	20	20	50	20
METANF	20	20	50	20
MDMA	20	20	50	20
MDA	20	20	50	20
MDEA	20	20	-	20
COC	10	10	50	10
CE	10	10	-	-
BE	50	50	-	50
EME	-	10	-	-
THC	2	1	10	1
COOHTHC	5	5	-	5

(-) Não especificado/não pesquisado.

Dentre as substâncias mais comumente encontradas no sangue de motoristas estão a cocaína e metabólitos, o Delta-9 tetrahydrocannabinol (THC) e metabólitos, as anfetaminas, os opióides e os benzodiazepínicos, além do álcool. (AUGSBURGER et al., 2005; DRUMMER et al., 2003; KHIABANI et al., 2006; RAES; VERSTRAETE, 2005; ROMANO; POLLINI, 2013; TOENNES et al., 2005). Sem dúvida, a escolha das drogas a serem pesquisadas deve levar em consideração a ocorrência dessas em cada região. Além disso, é recomendável a inclusão de novas drogas, como as drogas sintéticas e também o estudo voltado para a combinação entre diferentes drogas e entre drogas e álcool (WALSH et al., 2008).

Em razão de tantas variáveis, os achados toxicológicos, usualmente, diferem entre si de forma significativa, no tipo e na frequência das drogas encontradas em motoristas de diferentes países ou regiões. Fatores como disponibilidade da droga, tradição, estilo de vida, existência de laboratórios clandestinos, vigilância policial e controle de fronteiras são determinantes para as diferenças entre os países (JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008a).

Por exemplo, em indivíduos vivos, a cannabis é a droga mais frequentemente encontrada em motoristas da Austrália, Suíça, Canadá e Dinamarca, enquanto a droga mais prevalente entre motoristas do Brasil é a cocaína (AUGSBURGER; RIVIER, 1997; PALMENTIER; WARREN; GORCZYNSKI, 2009; STEENTOFT; SIMONSEN; LINNET, 2010; ZANCANARO et al., 2012). Nos países nórdicos há maior prevalência no uso de anfetamina enquanto a pesquisa de opióides deve sempre ser considerada nos países europeus, de modo geral (AUGSBURGER et al., 2005; JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008a; JONES; HOLMGREN, 2013; OJANIEMI et al., 2009).

Estudos realizados com vítimas fatais ou gravemente feridas também apontam a cannabis como a droga ilícita mais frequentemente encontrada em grande parte dos países desenvolvidos, como Reino Unido, França, América do Norte e Austrália. A anfetamina foi droga ilícita mais comum na Suécia, Bélgica e Holanda, e a cocaína foi mais prevalente em estudos realizados na Espanha e em Nova Iorque (EUA) (CARMEN DEL RÍO et al., 2002; DRUMMER et al., 2003; ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009; HACKETT; GARRISON; REEDER, 2003; HOLMGREN; HOLMGREN; AHLNER, 2005; LEGRAND et al., 2012; MARZUK et al., 1990; MURA et al., 2006).

Dados referentes a países da América do Sul, ou mesmo de outros países em desenvolvimento, são bastante escassos ou inexistentes.

A seguir, uma abordagem sobre algumas das principais drogas e seus efeitos no trânsito.

1.1 ÁLCOOL

Álcool é a denominação comum para etanol ou álcool etílico. Trata-se de uma droga lícita e culturalmente aceita pela sociedade e, talvez por isso, figure como uma das substâncias psicoativas mais consumidas no mundo (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008; SUZUKI; WATANABE, 2002). Em verdade, a prevalência anual do uso de álcool é de 42%, sendo cerca de oito vezes maior que a prevalência de uso de drogas ilícitas (5%) (UNODC, 2012).

O álcool é um agente depressor do sistema nervoso central (SNC). Possui baixo peso molecular, sendo rapidamente absorvido pelo intestino delgado (cerca de 80%) e pelo estômago (cerca de 20%). Em geral, o álcool começa a agir em cinco

minutos, com pico de concentração sanguínea entre 30 e 90 minutos (NCETA, 2004). Ao contrário dos anestésicos, que deprimem as funções cerebrais de forma geral, o álcool atua, em um primeiro momento, em funções altamente integradas, como a coordenação motora fina. A análise de informações sensoriais, o controle de padrões de movimento mais complicados e a memória de curto termo são especialmente sensíveis ao álcool (OGDEN; MOSKOWITZ, 2004).

Apesar de também ser classificado como um depressor do SNC, o álcool confere ao usuário um estado de euforia e desinibição (SUZUKI; WATANABE, 2002). Contudo, o álcool está claramente associado a uma série de episódios de violência, tais como: assaltos, ferimentos em incêndios, quedas, afogamentos, abuso infantil, suicídios, acidentes de trabalho e acidentes de trânsito (NCETA, 2004). Por tudo isso e mais os problemas na saúde de usuários advindos do uso crônico, o álcool é tido como a droga recreacional mais perigosa dentre todas, considerando o dano que ela causa tanto ao indivíduo quanto à sociedade (JONES; HARDING, 2013).

Em relação ao trânsito, a capacidade do álcool em prejudicar a capacidade de operar veículos automotores é conhecida há mais de um século, tendo sido descrita pela primeira vez em 1904. Desde então, os efeitos do álcool na condução de veículos automotores tem sido estudados através de experimentos laboratoriais, testes em simuladores e em rodovias controladas, além de estudos epidemiológicos, todos com resultados concordantes a respeito do prejuízo provocado nas habilidades necessárias à condução de veículos automotores, culminando em um risco aumentado de se envolver em acidentes de trânsito (MARTIN et al., 2013; OGDEN; MOSKOWITZ, 2004).

Estudo conduzido por GONÇALVES et al. (2012) demonstrou que o álcool, mesmo em doses baixas ou moderadas, apresenta efeitos prejudiciais em termos de segurança no trânsito, aumentando o comportamento de risco por parte do motorista. Outro dado interessante foi o achado de que o risco de aceitar uma carona em veículo conduzido por um motorista alcoolizado aumenta quanto maior é a quantidade de álcool ingerida pelo provável passageiro. De acordo com esse estudo, mesmo em baixas doses, o risco de aceitar uma carona de condutor alcoolizado é 3,52 vezes maior.

O álcool pode afetar a capacidade de um indivíduo conduzir veículos automotores prejudicando suas habilidades cognitivas, diminuindo sua capacidade

de reconhecer e reagir a mudanças de circunstâncias, além de aumentar reações de agressividade (LIU; HO, 2010; OGDEN; MOSKOWITZ, 2004). O prejuízo causado pelo álcool nessas funções está diretamente relacionado à sua concentração sanguínea e à complexidade da tarefa a ser executada. Considerando que a condução de veículos automotores é uma tarefa naturalmente complexa e imprevisível, é possível concluir que o fator mais importante para definir se um motorista está inapto a dirigir é a sua concentração sanguínea de álcool (MARTIN et al., 2013).

Nesse sentido, vários autores concordam ao afirmar que mesmo em baixas concentrações sanguíneas, o álcool é capaz de provocar algum tipo de prejuízo na capacidade de conduzir veículos automotores, ou seja, não há um valor de corte (*cut-off*) para as concentrações de alcoolemia no qual o motorista se torne subitamente inapto para dirigir e, quanto maior a concentração sanguínea de álcool, maior o prejuízo na capacidade de conduzir veículos automotores (GONÇALVES et al., 2012; MARTIN et al., 2013; OGDEN; MOSKOWITZ, 2004).

Apesar de haver grande concordância de que há prejuízo de certas habilidades necessárias à direção segura a partir de qualquer concentração sanguínea de álcool, em termos de legislação, os valores de alcoolemia definidos em lei podem variar (OGDEN; MOSKOWITZ, 2004). Muitos países, como Alemanha, França, Bélgica e Austrália adotam em legislação o valor limite de 0,05 g%, recomendado pela Comissão de comunidades europeias (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2001) e pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2009). A Suécia preconiza um valor limite de 0,02 g%, o Japão definiu o limite em 0,03 g% e o Canadá e alguns estados norte americanos limitam os valores de alcoolemia em 0,08 g%, enquanto o Brasil, como comentado anteriormente, proíbe qualquer concentração acima de zero (BRASIL, 2008; JONES; HARDING, 2013; WHO, 2009).

Há que se salientar a diferença existente entre as sanções administrativas e penais existentes no Brasil. Atualmente, motoristas flagrados conduzindo veículos automotores com qualquer concentração de álcool por litro de sangue estão sujeitos às sanções administrativas que determinam a aplicação de multa (dez vezes) e suspensão do direito de dirigir por 12 (doze) meses. Adicionalmente, o achado de valores de alcoolemia iguais ou superiores a 6 dg/L (seis decigramas por litro de

sangue) estabelece ao motorista infrator pena de seis meses a três anos de detenção (BRASIL, 2014).

Outra questão de grande interesse e preocupação é o fato de que o álcool está, em muitas ocasiões, associado a outras drogas que atuam no SNC, sejam essas lícitas ou ilícitas. As drogas de maior interesse nesse contexto são os estimulantes (cocaína e anfetaminas), a cannabis, os narcóticos, os benzodiazepínicos e outros medicamentos psicoativos (OGDEN; MOSKOWITZ, 2004).

1.2 COCAÍNA

A cocaína é uma droga ilícita com elevado potencial de causar dependência. Tem propriedade anestésica local e forte ação simpatomimética, atuando como estimulante do SNC (KLAASSEN, 2001; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

A cocaína é uma droga bastante abusada no Brasil. Dados do Escritório contra Drogas e Crime das Nações Unidas (UNODC) mostram que, enquanto o consumo de cocaína diminuiu na América do Norte e na Europa, no Brasil houve significativo aumento, passando de uma prevalência de 0,7% da população em 2005 para 1,75% em 2011, (UNODC, 2013).

Essa elevada frequência no uso de cocaína tem surgido como um problema relativo à segurança no trânsito em alguns países, já que muitos usuários dirigem sob o efeito dessa droga (JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008a).

Segundo a assessoria de imprensa do UNODC, esse aumento no consumo de cocaína no Brasil pode ser atribuído, em parte, pelo aumento da preferência no uso da cocaína, especialmente por jovens de centros urbanos, como também à maior disponibilidade da droga ligada ao aumento do tráfico via os países do Cone Sul (BBC BRASIL, 2013). Dados que apontam que as apreensões federais de cocaína mais que triplicaram desde 2004 corroboram esse dado (UNODC, 2012). O surgimento do *crack* e a popularização de seu uso também pode ter contribuído nesse sentido.

O *crack* surgiu nos Estados Unidos nos anos 1980, entre 1984 e 1985, tornando-se rapidamente um problema de saúde pública (KLAASSEN, 2001; MARZUK et al., 1990). No Brasil, os primeiros relatos da ocorrência de *crack* são do início dos anos 1990 (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). O *crack* é constituído

pela cocaína na forma de base livre. Nessa forma a cocaína apresenta baixo ponto de fusão (98°C), permitindo assim sua administração pela via respiratória (fumada) (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

A realização de análises toxicológicas visando à detecção e/ou a quantificação da cocaína em amostras biológicas exige prévio conhecimento dos fenômenos toxicocinéticos da droga, especialmente aqueles relacionados à sua biotransformação. Os principais metabólitos da cocaína são a benzoilecgonina (BE) e o éster de metilecgonina (EME). Uma associação bastante frequente é o uso concomitante de álcool e cocaína, resultando na transesterificação hepática da cocaína, formando o cocaetilen (KLAASSEN, 2001). O cocaetilen (CE) possui ação farmacológica comparável à cocaína, além de pronunciada cardiotoxicidade (KLAASSEN, 2001; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Por vezes, a detecção de certos metabólitos fornece valiosas informações a respeito da via de administração. É o caso do éster metilanidroecgonina (EMA), formado pela pirólise da cocaína quando do ato de fumar a droga (Figura 2), sendo considerado um marcador dessa forma de uso (KLAASSEN, 2001; SCHEIDWEILER et al., 2003).

O EMA é biotransformado pela ação de butirilcolinesterases em anidroecgonina, seu principal metabólito. A anidroecgonina possui uma maior meia-vida, e poderia ser usada como um melhor marcador de usuários de *crack* (SCHEIDWEILER et al., 2003).

A Figura 1 mostra os processos de biotransformação e o produto de pirólise da cocaína.

Figura 1 – Biotransformação e produto de pirólise da cocaína. Adaptado de: COGNARD et al., 2005.

Usualmente, as concentrações de EMA em amostras forenses de sangue são bastante baixas, o que parece estar relacionado à sua rápida distribuição e metabolização. Além disso, é bastante difícil avaliar a exposição ao *crack* pela medida de EMA, pois há muita variabilidade na sua formação a partir da cocaína, principalmente, pelo fato de sua formação ser temperatura dependente (SCHEIDWEILER et al., 2003).

Importante ressaltar que o EMA possui efeitos no sistema cardiovascular que, combinados com os efeitos cardiotóxicos da cocaína, levam a complicações cardiopulmonares mais intensas do que ocorre em outras vias de administração de cocaína. Os efeitos de EMA contrapõem-se aos efeitos da cocaína, diminuindo a contratilidade e estimulando a produção de óxido nítrico em células cardíacas (efeitos muscarínicos) (SCHEIDWEILER et al., 2003).

Quanto ao prejuízo causado pela cocaína na capacidade de conduzir veículos automotores, acredita-se que este é resultado dos efeitos estimulantes e causadores

de euforia que essa droga possui, culminando em distrações ao motorista (SCHWILKE; SAMPAIO DOS SANTOS; LOGAN, 2006). Outros sinais de prejuízo na capacidade de direção de veículos automotores sob o efeito de cocaína incluem o aumento de velocidade, perda de controle do veículo, comportamento de risco, desatenção e prejuízo no controle de impulsos. Outra situação de risco ocorre quando os efeitos estimulantes da cocaína cessam, tornando-se evidentes nessa hora a fadiga, a depressão e a sonolência, que também são responsáveis por muitos acidentes (COUPER; LOGAN, 2004).

Em consonância com o exposto acima, Movig, et al. (2004) mostraram que o uso de anfetaminas e cocaína (drogas com efeitos estimulantes) aumenta em duas vezes o risco de acidentes de trânsito.

1.3 ANFETAMINAS

As anfetaminas, cujas estruturas são mostradas nas Figuras 2 e 3, correspondem a um grupo de substâncias quimicamente relacionado à β -fenetilamina e composto pela anfetamina e seus derivados, como anfepramona (dietilpropiona), femproporex, metanfetamina, 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), 3,4-metilenodioxietilanfetamina (MDEA), dentre outras (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Figura 2 – Estrutura das anfetaminas. Fonte: SOUZA et al., 2011.

Figura 3 – Estrutura das anfetaminas (metilenodióxio derivados). Fonte: GREEN et al., 2003.

Substituições no anel aromático ou na cadeia alifática da estrutura básica da anfetamina conferem diferentes efeitos aos compostos formados. Anfetaminas com substituições na cadeia alifática tendem a serem predominantemente estimulantes e anorexígenas, enquanto anfetaminas com substituições no grupo amino terminal apresentam atividade alucinógena em doses altas. Anfetaminas com substituições do tipo “metilenodióxio” no anel aromático, como o MDMA e o MDA, possuem efeitos tanto estimulantes quanto alucinógenos em doses relativamente baixas (CARVALHO et al., 2012).

As anfetaminas são potentes estimulantes do SNC, atuando, farmacologicamente, como aminas simpatomiméticas nos receptores α e β adrenérgicos. As anfetaminas parecem exercer seus efeitos tanto por estimular a liberação de neurotransmissores das vesículas sinápticas quanto por inibir a recaptação dos mesmos na fenda sináptica (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008; CARVALHO et al., 2012).

O entendimento dos processos toxicocinéticos das anfetaminas é necessário para a adequada interpretação dos resultados analíticos obtidos. Como exemplo, sabe-se que a principal reação de biotransformação da metanfetamina é uma N-desmetilação, com formação da anfetamina. Contudo, a metanfetamina é bem menos metabolizada que o MDMA, por exemplo, sendo encontrada inalterada na urina em maiores quantidades que este último. O metabolismo do femproporex também produz anfetamina e o MDMA pode sofrer uma reação de dealquilação originando outra anfetamina, o MDA, sendo essa uma importante via de biotransformação (CARVALHO et al., 2012).

A anfetamina e a metanfetamina são bastante abusadas devido aos seus potentes efeitos estimulantes. MDA, MDMA e MDEA são substâncias reconhecidas como *designer drugs*, ou drogas sintéticas, cujos efeitos buscados por usuários incluem aumento do nível de alerta, resistência, euforia, sentimento de proximidade

com outras pessoas e grande sociabilidade. Por esses efeitos o MDA, o MDMA e o MDEA são conhecidos como drogas entactógenas (PETERS et al., 2003).

Em termos de prevalência mundial, o uso de anfetaminas aparece em segundo lugar dentre as drogas ilícitas, atrás apenas da cannabis (UNODC, 2012). Dados do UNODC mostram que cerca de 0,7% da população mundial, ou 33,8 milhões de pessoas, fizeram uso de alguma anfetamina em 2010, sendo a metanfetamina a droga da classe das anfetaminas mais comumente apreendida no mundo, respondendo por 71% das apreensões em 2011 (UNODC, 2013).

No Brasil, o consumo de anfetaminas apresenta-se de forma diferente de outras partes do globo. O país possui uma das maiores taxas de uso de anfetaminas com efeitos estimulantes e anorexígenos, principalmente o femproporex e a anfepramona, e os maiores usuários são: mulheres que desejam perder peso, jovens que buscam efeitos recreacionais e motoristas profissionais, em busca dos efeitos estimulantes dessas drogas para ajuda-los a dirigir sem muitas pausas para descanso (MARIOTTI et al., 2013).

Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da portaria nº 52, de 06 de outubro de 2011, proibiu a venda do femproporex e da anfepramona, além do mazindol, em todo o território nacional, o que já ocorria há muito mais tempo em países desenvolvidos. Isso se deve, principalmente, ao risco de desenvolvimento de hipertensão pulmonar primária e ao grande potencial de abuso dessas drogas.

Em relação ao risco existente em conduzir veículos sob efeito de anfetaminas, há relatos de condução em alta velocidade, menor eficiência ao realizar frenagens, atenção dividida diminuída, desatenção em geral, impaciência, visão turva, ataxia, habilidade diminuída em estimar e prever movimentos e direção de alto risco. Além disso, a capacidade de conduzir veículos de forma segura é bastante afetada na fase de diminuição da droga na corrente sanguínea, devido à intensa fadiga e sonolência, comuns a essa fase (COUPER; LOGAN, 2004; PETERS et al., 2003). Todos esses efeitos tem chamado a atenção para essa classe de drogas no contexto da direção de veículos automotores sob a influência de drogas em geral (PETERS et al., 2003).

1.4 CANNABIS

A cannabis é a substância ilícita mais utilizada no mundo (ASBRIDGE; HAYDEN; CARTWRIGHT, 2012). Cannabis, ou maconha, são os termos genéricos usados para designar os produtos da planta *Cannabis sativa*, que possui mais de 400 substâncias químicas (canabinóides), das quais cerca de 60 são responsáveis pelos seus efeitos. O principal componente psicoativo da cannabis e outros preparados, como o haxixe, é o Delta-9 tetrahydrocanabinol (THC) (NCETA, 2004).

Os principais metabólitos do THC são o 11-Hidróxi-Delta-9-THC (OHTHC) e o 11-nor-9-Carboxi-Delta-9-THC (COOHTHC), formados a partir da oxidação do grupo metila na posição 11 (Figura 4) (SUZUKI; WATANABE, 2002).

Figura 4 – Biotransformação do Delta-9 tetrahydrocanabinol (THC). Adaptado de: SUZUKI; WATANABE, 2002.

O COOHTHC e o OHTHC, excretados principalmente pela urina, são metabólitos inativos e, por isso, suas concentrações não devem ser utilizadas para avaliar a capacidade de condução de veículos, já que seus achados podem refletir o uso pregresso (dias ou semanas) de cannabis (JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008b; MOVIG et al., 2004).

Um verdadeiro desafio para a detecção laboratorial de THC é a rápida diminuição das suas concentrações no sangue após o uso da droga, principalmente quando a coleta de amostras biológicas demoram várias horas após o acidente ou abordagem policial (AUGSBURGER et al., 2005).

O THC é a substância causadora de mudanças de humor, pensamentos, percepções e o principal responsável por afetar seriamente as habilidades do usuário na condução de veículos automotores (NCETA, 2004; UNODC, 2012). O THC diminui a capacidade de condução de veículos, aumenta o tempo de reação, prejudica a noção de tempo e espaço, afeta a coordenação motora, causa incapacidade em manter linha reta, aumentando o desvio lateral e deprimindo a capacidade de manter vigilância (COUPER; LOGAN, 2004).

Apesar dos riscos, a cannabis é, depois do álcool, a droga mais prevalente em amostras obtidas de motoristas, segundo diversos estudos (DRUMMER et al., 2012; GROTENHERMEN et al., 2007; SCHWILKE; SAMPAIO DOS SANTOS; LOGAN, 2006).

Além de seu uso ser bastante frequente, é comum que a cannabis seja utilizada em conjunto com outras drogas, sejam essas lícitas (álcool ou benzodiazepínicos) ou ilícitas (anfetaminas, cocaína ou heroína). Nesse caso, o risco de acidentes é bastante aumentado, especialmente em motoristas inexperientes (ALVAREZ; FIERRO; DEL RÍO, 2007; SCHWILKE; SAMPAIO DOS SANTOS; LOGAN, 2006).

Essa elevada frequência no uso de cannabis com fins recreacionais traz sérios problemas relativos à segurança no trânsito (JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008b). Apesar disso, o uso de cannabis por motoristas é frequentemente observado em diversos estudos realizados em diferentes países (ALVAREZ; FIERRO; DEL RÍO, 2007; BLENCOWE et al., 2012).

1.5 USO CONCOMITANTE DE MÚLTIPLAS DROGAS

Além dos achados de positividade isolados para cada tipo de droga, outro fato de grande preocupação é a detecção simultânea de mais de um tipo de droga no condutor, já que o risco de acidentes é aumentado quando duas ou mais drogas são combinadas (BERNHOF et al., 2012; GJERDE et al., 2011a; KUYPERS et al., 2012; UNODC, 2013).

Estudos de culpabilidade em acidentes comprovam o risco aumentado quando mais de uma droga é detectada simultaneamente em motoristas. A associação de cannabis ou cocaína com álcool, por exemplo, está associada com uma maior culpabilidade do condutor no acidente (OR = 1.7) (DRUMMER et al., 2004). Gjerde et al. (2011a) determinaram o risco de se envolver em um acidente de

trânsito fatal em ordem crescente: sob o efeito de uma única droga < múltiplas drogas < álcool < álcool e drogas. Para detecção de uma única droga: drogas prescritas (medicamentos) ou cannabis < anfetamina/metanfetamina < álcool.

Outro estudo de culpabilidade realizado por Ogden e Morris (OGDEN e MORRIS *apud* DUPONT, 2012) em 442 motoristas vítimas não fatais de acidentes de trânsito em Vitória, Austrália, determinou que 75% dos motoristas positivos para uma droga; 77% daqueles positivos para duas drogas; 93% daqueles positivos para três drogas; e 100% dos positivos para quatro drogas foram julgados responsáveis por seus acidentes. Como controle, constatou-se que 51% dos condutores com resultados negativos para drogas foram responsáveis por seus acidentes.

Em virtude de todo o exposto, diversos países tem demonstrado crescente preocupação no estudo desse tema, com o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de detectar tais substâncias e endossando leis de trânsito de caráter mais restritivo (MOELLER; KRAEMER, 2002; SMINK et al., 2001).

Ao passo que, comprovadamente, existe forte relação entre os níveis de fiscalização e o número de acidentes relacionados ao uso de álcool e drogas, é preciso que métodos analíticos para a detecção inequívoca de tais substâncias estejam disponíveis para subsidiar ações que desestimulem a prática de condução de veículos automotores sob o efeito de álcool e/ou outras drogas (SWEEDLER et al., 2004).

Dessa forma, não há dúvidas que a pesquisa de drogas sabidamente capazes de prejudicar a capacidade de um indivíduo conduzir veículos automotores deve ser considerada para a efetiva diminuição dos índices de violência no trânsito.

De posse dos dados que revelem o perfil do condutor brasileiro quanto ao uso de substâncias psicoativas será possível subsidiar, a exemplo de outros países, a implantação de uma série de políticas públicas dentre as quais se destacam: o estabelecimento de programas de informação pública, a promoção de mudanças comportamentais, mudanças na legislação, dentre outras.

Neste sentido, o presente trabalho apresenta como contribuição um método analítico desenvolvido e validado, capaz de detectar e quantificar drogas de abuso em amostras de sangue e, sua aplicação na investigação da presença dessas drogas em amostras de sangue total, coletadas de vítimas fatais de acidentes de trânsito, ocorridos na Região Metropolitana de Vitória, ES. Serão apresentados também dados demográficos relacionados às vítimas e aos acidentes.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença de drogas de abuso (cocaína e metabólitos, THC e metabólito e anfetaminas) em amostras de sangue colhidas de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região Metropolitana de Vitória.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar um método de análise para detecção de cocaína e metabólitos, THC e metabólito e anfetaminas em amostras de sangue utilizando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas;
- Determinar as substâncias psicoativas mais prevalentes nas vítimas fatais de acidentes de trânsito;
- Correlacionar os achados das análises para drogas ilícitas com os resultados obtidos nas análises de alcoolemia;
- Correlacionar os achados toxicológicos com os dados demográficos de cada vítima, como idade, sexo e local do acidente.

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo descritivo, transversal, para avaliação da presença de substâncias psicoativas em material biológico colhido de vítimas fatais de acidentes de trânsito na Região Metropolitana de Vitória – ES.

3.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Atendendo à Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o projeto de pesquisa para realização deste trabalho foi submetido e obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde (UFES), conforme cópia em anexo (Anexo 1).

3.3 AMOSTRA ESTUDADA

Este projeto compreende a análise de 391 amostras de sangue total coletadas de vítimas fatais de acidentes de trânsito (condutores, passageiros e pedestres vítimas de atropelamento) durante os anos de 2011 e 2012.

As amostras de sangue total foram coletadas no Departamento Médico Legal de Vitória – ES, em volume de 10 mL obtidos de vasos calibrosos (veias femoral ou subclávia), identificados por um código numérico e acondicionados em dois tubos contendo EDTA/Fluoreto de sódio que foram armazenados em freezer a -20º C, até momento da análise.

3.4 ANÁLISE DE ÁLCOOL

O desenvolvimento analítico de um método para quantificação de álcool em amostras de sangue total não constituiu objetivo deste trabalho.

O Serviço de Laboratório Médico Legal (SLML) da Polícia Civil do Estado do Espírito Santo já possuía, há época, método validado segundo parâmetros estabelecidos pelo Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2003).

As análises foram realizadas em um Cromatógrafo Gasoso (Varian, mod. 450) equipado com Detector de Ionização em Chama. O n-propanol foi utilizado como

padrão interno e o método apresentou resposta linear para as concentrações de álcool no sangue no intervalo de 1,0 a 40,0 dg/L.

3.5 ANALITOS PESQUISADOS

Os analitos pesquisados foram o álcool, a cocaína (COC) e metabólitos (cocaetilen (CE), éster de metil ecgonina (EME), éster de metilanidroecgonina (EMA) e benzoilecgonina (BE)); Delta-9 THC (THC) e seu metabólito, o 11-nor-9-Carboxi- Δ^9 -THC (COOHTHC) e compostos anfetamínicos (anfetamina (ANF), metanfetamina (MET), metilenodioximetanfetamina (MDMA), metilenodioxianfetamina (MDA), metilenodioxietilanfetamina (MDEA), femproporex (FEMP) e anfepramona (ANFEP)).

3.6 MATERIAIS E REAGENTES

Para o procedimento de extração foram utilizados os seguintes reagentes e soluções:

- Metanol grau HPLC, JT Baker (Phillipsburg, NJ, EUA);
- Acetona grau HPLC, JT Baker (Phillipsburg, NJ, EUA);
- Clorofórmio grau HPLC, JT Baker (Phillipsburg, NJ, EUA);
- Acetato de etila grau HPLC, JT Baker (Phillipsburg, NJ, EUA);
- Hidróxido de amônia PA, Synth (Diadema, SP, Brasil)
- Ácido acético glacial, VETEC (Duque de Caxias, RJ, Brasil);
- Fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4) PA ACS, VETEC (Duque de Caxias, RJ, Brasil);
- Fosfato de potássio monobásico anidro (KH_2PO_4) PA ACS, VETEC (Duque de Caxias, RJ, Brasil);
- Tampão fosfato pH 6,0;
- Ácido acético 0,01 mol/L;
- Solução de acetona/clorofórmio (1:1, v/v);
- Solução de acetato de etila com 2% de hidróxido de amônio;

O tampão fosfato pH 6,0 foi preparado dissolvendo 1,18 g Na_2HPO_4 em 100 mL de água deionizada e 9,078 g KH_2PO_4 em 1 litro de água deionizada. Após o preparo das soluções, uma alíquota de 50 mL da solução de Na_2HPO_4 foi adicionada

Material e Métodos

a 950 mL da solução de KH_2PO_4 e o pH ajustado em pHmetro digital adicionando pequenas quantidades da solução de Na_2HPO_4 , até pH 6,0.

A solução de ácido acético 0,01 mol/L foi preparada pela adição de 580 μL do ácido acético glacial em quantidade suficiente para 1 litro de solução aquosa.

A solução de acetona/clorofórmio (1:1, v/v) foi preparada adicionando partes iguais de acetona e clorofórmio. A solução de acetato de etila com 2% de hidróxido de amônio deve ser preparada sempre no dia da análise pela adição de 2 mL de NH_4OH concentrado (Synth, Diadema, SP, Brasil) em 98mL de acetato de etila. Esta solução foi submetida a ultrassom por 5 minutos imediatamente antes do uso para garantir a dissolução do NH_4OH .

Os padrões de referência cocaína, cocaetileno, éster metil ecgonina, éster metilanidroecgonina, Δ^9 -THC, 11-nor-9-Carboxi- Δ^9 -THC, anfetamina, metanfetamina, MDMA, MDA, MDEA, femproporex e anfepramona foram adquiridos da Cerilliant (Austin, TX, EUA) na concentração de 1 mg/mL em soluções de metanol ou acetonitrila (cocaína e cocaetileno). Os padrões internos cocaína D3, anfetamina D11, metanfetamina D14, MDMA D5, MDEA D5 e 11-nor-9-Carboxi- Δ^9 -THC D3 também foram adquiridos da Cerilliant em soluções de metanol ou acetonitrila (cocaína D3) na concentração de 1 mg/mL.

O agente de derivatização *N*-methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA) foi comprado da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

Para as extrações em fase sólida (SPE) foram utilizados os cartuchos Bond Elut Certify[®], de 130 mg/3 mL, de fase mista, composta por trocador catiônico (ácido sulfônico) e por uma fase apolar (C8) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA).

3.7 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

As análises foram realizadas em um cromatógrafo gasoso (CP 3800) acoplado a um espectrômetro de massas (*ion trap*, Saturn 2200), de marca Varian. Para separação dos analitos, foi utilizada uma coluna capilar Restek Rx1[®] 5Sil-MS com Integra-Guard[®], de 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de filme e a injeção dos extratos foi realizada por meio de amostrador automático CombiPAL, CTC Analytics[®] (Zwingen, Suíça).

Como gás de arraste, foi utilizado o Hélio com grau de pureza analítica 6.0 fornecido pela White Martins (Brasil).

Os procedimentos de extração em fase sólida foram realizados com o auxílio de um suporte para extração a vácuo de 24 posições (Supelco, EUA) conectado a uma bomba de vácuo de marca Primatec (Itu, SP, Brasil).

As amostras foram evaporadas à secura em banho seco de marca CIENTEC (Piracicaba, SP, Brasil) e fluxo de nitrogênio com grau de pureza 2.0 (White Martins, Brasil).

3.8 CALIBRADORES E CONTROLES

Soluções de trabalho dos analitos foram preparadas nas concentrações de 10 e 1 µg/mL e adicionadas em volumes adequados para obtenção das concentrações finais desejadas (5 a 500 ng/mL) nos calibradores e controles positivos. As soluções de trabalho foram adicionadas às amostras de sangue provenientes de bolsas de sangue total cedidas pelo Centro de Hematologia e Hemoterapia do Espírito Santo (HEMOES), descartadas por motivo de baixo volume e com resultado de sorologia negativa.

Para as amostras negativas, ou brancos de análise, foi utilizado o sangue acima descrito que fora devidamente testado para os analitos de interesse e possíveis interferentes.

3.8 PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os procedimentos de extração se basearam na técnica proposta por Zweipfening et al. (1994). As análises foram feitas utilizando 1,0 mL de sangue total, 6,0mL de tampão fosfato pH 6,0 e 10 µL dos padrões internos deutérios (anfetamina-D11, metanfetamina-D14 MDMA-D5, MDEA-D5, cocaína-D3 e 11-nor-9-Carboxi- Δ^9 -THC-D3) na concentração de 10 µg/mL a fim de se obter uma concentração final de 100 ng/mL destes. Para facilitar os procedimentos de pipetagem, os padrões internos foram agrupados em um *pool* de solução metanólica com concentração final de 10 µg/mL. Após a adição do sangue, da solução tampão e da solução de padrões internos, a amostra foi sonicada por 15 min à temperatura ambiente e então centrifugada a 2.500 rpm por 15 min.

Anteriormente à aplicação das amostras foi feito o condicionamento dos cartuchos de extração em fase sólida, Bond Elut Certify[®], adicionando 2 mL de metanol seguido de 2 mL de tampão fosfato (pH 6) a um fluxo de 12 mL/min. É

importante não permitir que o cartucho seque nessa fase. O sobrenadante obtido após a centrifugação das amostras era então aplicado nos cartuchos de extração a um fluxo constante de 1,2 mL/min. Após a completa passagem da amostra pelo cartucho, esse era lavado com 1 mL de água e depois com 0,5mL de ácido acético 0,01 mol/L. Após essa etapa, foi aplicado vácuo máximo por 5 min seguido da adição de 50 µL de metanol, com vácuo máximo por mais 1 min para garantir a completa secagem dos cartuchos.

A eluição foi feita em duas etapas: A eluição dos compostos neutros e ácidos é feita com 4 mL (2 x 2 mL) da solução de acetona/clorofórmio (1:1, v/v) em tempo aproximado de 5 min. Logo em seguida era feita a eluição dos compostos básicos por adição de 3 mL da solução de acetato de etila com 2% de NH₄OH. Os extratos ácido e básico foram recolhidos em um único tubo que era levado para evaporação em banho seco à 40°C, sob fluxo de nitrogênio. Antes da completa secura dos tubos, os resíduos de solvente (cerca de 0,5 mL) eram transferidos para *vials* de 2 mL devidamente identificados.

Após a completa secagem das amostras, estas foram derivatizadas com 50 µL de MSTFA a uma temperatura de 80°C, por 30 min.

3.9 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Após a etapa de derivatização, as amostras eram transferidas para *inserts* de 200 µL para possibilitar a injeção automática de 1 µL no cromatógrafo em fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS).

As amostras foram injetadas no modo *splitless*, com temperatura do injetor de 280°C e pulso de pressão de 25 psi por 1,1 min. O fluxo de hélio foi mantido constante em 1,1 mL/min. A rampa de temperatura do forno da coluna está programada para iniciar a 90°C, na qual permanece por 2 min, em seguida é aumentada até 220°C a uma taxa de 10°C/min e, então, elevada novamente até 290°C a uma taxa de 30°C/min, permanecendo nesta temperatura por 6 min. A interface do cromatógrafo em fase gasosa com o espectrômetro de massas foi ajustada para trabalhar a uma temperatura de 250°C.

Durante o desenvolvimento do método, amostras de sangue total adicionadas de todos os analitos e padrões internos foram analisadas para determinação dos

tempos de retenção (TR's), parâmetros de integração e determinação do íon quantificador e dos íons qualificadores, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Íons de identificação, quantificação e TR's dos analitos.

Analito	Íon quantificador (m/z)	Íons qualificadores (m/z)	Tempo de retenção (min)
ANF D11	120	98	8,363
ANF	116	91, 192	8,436
MET D14	137	220	9,437
MET	130	91, 206	9,543
EMA	152	109, 181	9,706
ANFEP	100	72, 77	11,062
EME	82	94, 96	11,989
FEMP	97	91, 189	12,268
MDA	116	135, 236	12,623
MDMA D5	134	255	13,526
MDMA	130	135, 250	13,570
MDEA D5	149	269	14,565
MDEA	144	145, 264	14,609
COC D3	185	85	17,477
COC	182	82, 303	17,489
CE	196	82, 318	17,751
THC	386	315, 371	18,152
COOH THC D3	374	477	20,417
COOH THC	474	371, 488	20,437

3.10 PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO ANALÍTICA

Os procedimentos de validação analítica adotados no desenvolvimento deste trabalho baseiam-se no Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), anexo da resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003) e no *Guidance for the Validation of Analytical*

Material e Métodos

Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens (UNODC, 2009).

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram avaliados os seguintes parâmetros de validação: especificidade/seletividade, limite de detecção (LD), limite inferior de quantificação (LIQ), linearidade, precisão, exatidão, recuperação, estabilidade e *carryover*.

3.10.1 ESPECIFICIDADE/SELETIVIDADE

É a capacidade do método em detectar e quantificar inequivocamente e com exatidão aceitável os analitos na presença de outros componentes que são esperados em uma amostra real, tais como impurezas, produtos de decomposição, metabólitos, medicamentos e os próprios componentes da matriz.

Este parâmetro foi determinado fortificando amostras de sangue total (brancos de análise) com 10 ng/mL dos analitos de interesse (exceto cocaetilen e 11-nor-9-Carboxi- Δ^9 -THC, adicionados nas concentrações de 25 ng/mL) e 100 ng/mL dos padrões internos. A essas amostras foram adicionados 2000 ng/mL dos possíveis interferentes: oxcarbazepina, carbamazepina, dipirona, diclofenaco de potássio, tramadol, sertralina, fenobarbital, venlafaxina, citalopram, barbital, amitriptilina, fluoxetina, sildenafil, flunitrazepam, diazepam, alprazolam, bromazepam, clonazepam, midazolam, meperidina, nicotina, cotinina, efedrina, dissulfiram, amilobarbital, metadona, codeína, morfina, flurazepam, lorazepam, prazepam, temazepam, oxazepam e clordiazepóxido.

Também foram analisadas 10 amostras de sangue, obtidas de fontes diferentes, e adicionadas dos padrões internos (brancos de análise), além de 3 amostras de sangue sem a adição dos padrões internos (amostras zero) para verificar a presença de possíveis interferentes.

O critério de aceitação para esse parâmetro é dado pela avaliação dos TR's dos picos dos analitos de interesse e padrões internos com os TR's dos picos dos possíveis interferentes. Caso haja algum pico interferente, cujo TR seja o mesmo de algum analito de interesse ou padrão interno, a variação dos valores de concentração obtidos nos controles de qualidade de nível baixo, não deve ser superior a 20%, quando calculada na presença dos interferentes investigados.

3.10.2 LIMITE DE DETECÇÃO (LD)

O limite de detecção é a menor concentração de um analito presente na amostra que pode ser detectado e identificado. É estabelecido por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes dos analitos, até o menor nível de concentração detectável, porém não necessariamente quantificado. É a concentração mínima em que os analitos podem ser diferenciados do ruído.

Na prática, o limite de detecção pode ser determinado pela menor concentração em que os analitos resultem em picos cromatográficos, cujas magnitudes sejam maiores ou iguais a 3 vezes a do ruído (relação sinal/ruído $\geq 3:1$).

Para determinação deste parâmetro, amostras de sangue total foram fortificadas em duplicata com concentrações decrescentes de 25, 10, 5 e 1 ng/mL. O limite de detecção foi determinado pela menor concentração que obteve razão sinal/ruído maior ou igual a 3 nas duas análises.

3.10.3 LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)

O limite inferior de quantificação (LIQ) é a menor concentração na qual os analitos podem ser detectados e quantificados com precisão de até 20% e exatidão de $\pm 20\%$, apresentando relação sinal/ruído maior ou igual a 10. O limite superior de quantificação (LSQ) é a maior concentração que pode ser determinada com precisão de até 15% e exatidão de $\pm 15\%$.

O LIQ foi estabelecido por meio da análise de amostras de sangue total fortificadas com concentrações decrescentes dos analitos até o menor nível quantificável (relação sinal/ruído $\geq 10:1$), com precisão e exatidão aceitáveis. Foram realizadas análises em 6 replicatas para determinação dos LIQ's de cada analito.

O LSQ é determinado analisando-se as amostras em concentrações cada vez maiores até o valor em que não são mais respeitados os critérios de precisão e exatidão, determinando o nível mais alto da curva de calibração.

3.10.4 LINEARIDADE

É a capacidade que o método deve possuir de produzir sinais analíticos (picos cromatográficos) com áreas diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra analisada dentro de um dado intervalo.

Este parâmetro foi avaliado através da análise de 6 pontos de concentrações crescentes com 6 replicatas para cada ponto. A partir dessas análises foram traçadas as curvas de calibração de cada analito.

Os pontos de cada curva de calibração foram determinados correlacionando-se cada concentração com o valor obtido na razão entre a área do íon de quantificação do analito de interesse sobre a área do íon de quantificação do padrão interno. Os íons quantificadores de cada analito estão dispostos na tabela 2.

Em seguida foi feita a regressão linear, a fim de observar se o intervalo de concentrações dos compostos apresentava disposição linear na reta, calculado pelo r^2 (coeficiente de determinação). Quanto mais próximo de 1,0 é o r^2 , menor a dispersão do conjunto de ponto experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Como critério de aceitação, o valor de r^2 deve ser maior ou igual a 0,99.

3.10.5 PRECISÃO

A precisão representa o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais, quando o procedimento é aplicado diversas vezes numa mesma amostra homogênea, em condições idênticas de ensaio.

Precisão Inter-Ensaio (Precisão Intermediária): É a concordância entre os resultados obtidos pelo mesmo laboratório em dias diferentes, com analista diferente e/ou equipamentos diferentes.

Precisão Intra-Ensaio: É a concordância entre os resultados obtidos em análises dentro de um curto período de tempo, com o mesmo analista e mesma instrumentação.

No desenvolvimento deste método analítico, a precisão foi determinada utilizando-se três concentrações (baixa, média e alta), contemplando, de maneira uniforme, o intervalo adotado na curva de calibração de cada analito. A precisão inter-ensaio foi determinada em três dias consecutivos, com cinco replicatas de cada nível de controle (n=15). A precisão intra-ensaio foi calculada pela determinação da concentração de dez replicadas realizadas no mesmo dia (n=10). A Tabela 3 mostra os níveis de concentração dos CQ baixo, médio e alto (CQ 1, 2 e 3).

Os resultados de precisão podem ser expressos em forma de Desvio Padrão Relativo (DPR), não admitindo valores superiores a 15%, exceto para o limite de

Material e Métodos

quantificação, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%. O DPR pode ser calculado segundo a fórmula abaixo:

$$\text{DPR} = (\text{DP}/\text{CMD}) \times 100$$

Para a qual:

DPR = Desvio Padrão Relativo

DP = Desvio Padrão

CMD = Concentração Média Determinada

Tabela 3 – Concentrações dos CQ's baixo, médio e alto para cada analito.

Analito	CQ1 (ng/mL)	CQ2 (ng/mL)	CQ3 (ng/mL)
ANF	25	200	400
MET	25	200	400
EMA	25	200	400
ANFEP	25	200	400
EME	25	200	400
FEM	25	200	400
MDA	25	200	400
MDMA	25	200	400
MDEA	25	200	400
COC	25	200	400
CE	25	200	400
THC	25	200	400
COOHTHC	25	200	400

3.10.6 EXATIDÃO

É a proximidade obtida entre o resultado da análise em relação a um valor verdadeiro. É calculada pela fórmula:

$$\text{Exatidão} = (\text{CMD}/\text{CT}) \times 100$$

Para a qual:

CMD: Concentração Média Determinada

CT: Concentração Teórica

A exatidão foi determinada comparando as concentrações obtidas em quinze análises e expressas como porcentagem da concentração teórica.

Como, critério de aceitação, os valores de concentração obtidos para os controles de qualidade não devem originar resultados abaixo de 85% ou acima de 115%, exceto para o limite inferior de quantificação, que permite que sejam aceitos valores entre 80% e 120%. A Tabela 3 mostra os níveis de concentração dos CQ baixo, médio e alto (CQ 1, 2 e 3).

3.10.7 RECUPERAÇÃO

A recuperação avalia a capacidade do método em extrair o analito da amostra biológica. Recuperações próximas a 100% para os analitos e padrões internos são desejáveis, embora se admita valores de recuperações menores desde que o método seja preciso e exato e apresente limites de detecção e quantificação apropriados para as análises propostas.

Esse parâmetro foi determinado comparando-se os resultados de quantificação de amostras que foram fortificadas com os analitos antes da extração, com os resultados de quantificação das amostras cuja adição dos analitos ocorreu após a extração. Os padrões internos foram adicionados anteriormente à extração em ambas as situações. Dessa forma, os resultados de quantificação obtidos permitem avaliar a capacidade do método analítico em extrair os analitos da matriz quando comparados com uma situação que, teoricamente, equivale a 100% de eficiência de extração. A recuperação foi avaliada nos três níveis de concentração dos CQ's (baixo, médio e alto), em 5 replicatas para cada nível.

3.10.8 ESTABILIDADE

Este parâmetro permite avaliar a propriedade que os analitos apresentam de resistir a condições normalmente exigidas durante a análise. Foram realizados os seguintes ensaios para avaliação da estabilidade dos analitos:

- *Estabilidade de longa duração*: Avalia o tempo em que o analito pode permanecer em uma matriz biológica quando congelado a -20 °C. Foi avaliada pela análise das amostras de CQ1 e CQ3 após 30 e 90 dias de armazenamento em freezer a -20°C.

- *Estabilidade de congelamento e descongelamento*: A estabilidade de congelamento e descongelamento avalia a capacidade do composto de resistir à degradação quando submetido a vários ciclos de congelamento e descongelamento. Foi avaliada pela análise das amostras de CQ1 e CQ3 submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento.

Estabilidade pós-processamento: Avalia o tempo em que as amostras podem ser analisadas após preparadas. Foi avaliada pela re-injeção dos extratos derivatizados obtidos das amostras de CQ1 e CQ3 em períodos de 24, 48 e 72h após o preparo.

3.10.9 CARRYOVER

O parâmetro *carryover* avalia a influência de uma análise anterior no resultado da análise seguinte, devido a resíduos que podem ficar retidos em alguns componentes do cromatógrafo, como *liner*, injetor, coluna e/ou detector. Sua avaliação foi feita submetendo-se uma amostra de sangue total sem adição dos analitos investigados (branco de análise), logo após a injeção do último ponto de uma curva de calibração.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Validação analítica

Os resultados dos ensaios de especificidade/seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade, precisão, exatidão, recuperação, estabilidade e *carryover* são apresentados a seguir.

4.1.1 ESPECIFICIDADE/SELETIVIDADE

As análises das amostras branco (adicionadas dos padrões internos) e das amostras zero (sem a adição dos padrões internos), não mostraram interferência na análise dos analitos de interesse.

As Figuras abaixo mostram os cromatogramas obtidos pela análise de uma amostra branco (Figura 5) e de uma amostra adicionada dos padrões em concentrações correspondentes ao LIQ de cada analito (Figura 6). A Figura 7 mostra um cromatograma de uma amostra de sangue total adicionada dos analitos de interesse e padrões internos na concentração de 200 ng/mL, que corresponde ao controle de qualidade médio (CQ2).

Figura 5 – Cromatograma de uma amostra de sangue total isenta dos analitos de interesse e adicionada de padrões internos (amostra branco).

Figura 6 – Cromatograma de uma amostra de sangue total adicionada dos analitos de interesse no LQ de cada analito.

Figura 7 – Cromatograma de uma amostra de sangue total adicionada dos analitos de interesse e padrões internos na concentração de 200 ng/mL, que corresponde ao controle de qualidade médio (CQ2).

A análise de 9 replicatas de amostras de sangue total fortificadas com concentrações equivalentes aos LIQ's de cada analito, e adicionadas com 2.000 ng/mL de 34 possíveis interferentes também não apresentou alterações nos tempos de retenção ($\pm 2\%$) e na quantificação dos analitos de interesse ($\pm 15\%$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Avaliação das amostras com concentrações no Limite Inferior de Quantificação (LIQ), na presença de interferentes.

Analito	LIQ^a (ng/mL)	CM^b (ng/mL)	Precisão (% DPR^c)	Exatidão (% bias)
ANF	10	11,11	8,73	11,09
MET	10	10,17	13,34	1,66
EMA	10	11,34	7,43	13,39
ANFEP	10	11,16	12,53	11,60
EME	10	11,35	9,45	13,53
FEM	10	8,88	5,37	-11,20
MDA	10	11,31	8,60	13,15
MDMA	10	11,45	5,24	14,56
MDEA	10	11,31	11,06	13,14
COC	10	11,04	13,89	10,46
CE	25	22,80	4,68	-8,80
THC	10	11,39	3,92	13,96
COOHTHC	25	22,17	5,65	-11,31

^aLimite inferior de quantificação^bConcentração Média^cDesvio Padrão Relativo

4.1.2 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os valores determinados para os limites de detecção (LD) e para os limites inferiores de quantificação (LIQ) são apresentados na Tabela 5.

O LSQ não foi determinado testando, sequencialmente, concentrações cada vez mais altas dos analitos pesquisados. Em concordância com a proposta do método de realizar análises de vítimas de acidentes de trânsito e não vítimas de intoxicações fatais, o LSQ de cada analito foi determinado na concentração máxima de 500 ng/mL, atendendo aos critérios de precisão e exatidão. A exceção foi o LSQ do éster de metil ecgonina que foi determinado em 100 ng/mL para obedecer a critérios de linearidade desse analito.

Tabela 5 - Limites de Detecção (LD) e Limites Inferiores de Quantificação (LIQ).

Analito	LD ^a (ng/mL)	LIQ ^b (ng/mL)	LIQ ^b	
			Precisão (% DPR ^c)	Exatidão (%bias)
ANF	5	10	6,21	-12,00
MET	5	10	4,67	-11,64
EMA	5	10	11,01	-5,12
ANFEP	5	10	19,03	-0,20
EME	5	10	18,90	-0,48
FEM	5	10	12,88	-12,81
MDA	5	10	18,31	-1,84
MDMA	5	10	4,89	5,40
MDEA	5	10	7,13	-12,63
COC	5	10	13,17	4,83
CE	10	25	3,60	-11,73
THC	5	10	8,25	7,77
COOHTHC	10	25	7,14	-12,57

^aLimite de detecção^bLimite inferior de quantificação^cDesvio Padrão Relativo

4.1.3 LINEARIDADE

O estudo de linearidade compreendeu uma faixa de concentrações de 10 a 500 ng/mL para todos os analitos estudados, exceto para o éster de metilecgonina (EME) que se mostrou linear no intervalo de 10 a 100 ng/mL. Nesse caso, amostras com resultados superiores a 100 ng/mL foram reanalisadas com volume reduzido para 0,5 mL de sangue total, com imprecisão melhor que 15% e exatidão entre 85 a 115%.

Em todos os casos utilizou-se um modelo de calibração linear com ponderação 1/x (inverso da concentração), geralmente recomendado para métodos bioanalíticos. A aplicação do fator 1/x compensa de forma adequada a ocorrência de heterocedasticidade (PETERS; DRUMMER; MUSSHOF, 2007). Todos os analitos apresentaram curvas de calibração com valores de r^2 superiores a 0,99 (Tabela 6).

Resultados e Discussão

Tabela 6 - Faixa de linearidade e coeficiente de determinação (r^2) dos analitos estudados.

Analito	LD ^a (ng/mL)	LIQ ^b (ng/mL)	Linearidade	
			Faixa (ng/mL)	r^2
ANF	5	10	10 - 500	0.9954
MET	5	10	10 - 500	0.9997
EMA	5	10	10 - 500	0.9950
ANFEP	5	10	10 - 500	0.9985
EME	5	10	10 - 100	0.9953
FEM	5	10	10 - 500	0.9993
MDA	5	10	10 - 500	0.9994
MDMA	5	10	10 - 500	0.9934
MDEA	5	10	10 - 500	0.9962
COC	5	10	10 - 500	0.9969
CE	10	25	10 - 500	0.9921
THC	5	10	10 - 500	0.9921
COOHTHC	10	25	10 - 500	0.9927

^aLimite de detecção

^bLimite inferior de quantificação

Resultados e Discussão

As Figuras 8, 9, 10 e 11 apresentam as curvas de calibração de cada analito.

Figura 8 – Curvas de calibração da anfetamina, metanfetamina, MDMA e MDA.

Figura 9 – Curvas de calibração da anfepramona, femproporex, MDEA e EMA.

Resultados e Discussão

Figura 10 – Curvas de calibração da cocaína, cocaetileno, Delta-9 THC e Carboxi-THC.

Figura 11 – Curvas de calibração do éster de metilecgonina (EME).

Todos os analitos estudados apresentaram coeficientes de determinação (r^2) superior a 0,99, em concordância com os principais guias para validação de métodos bioanalíticos.

4.1.4 PRECISÃO E EXATIDÃO

Os ensaios de precisão e exatidão apresentaram resultados satisfatórios, ou seja, melhores que os limites estabelecidos pelos guias adotados na realização deste estudo (BRASIL, 2003; UNODC, 2009). Os valores de precisão intra-ensaio variaram de 1,5% (anfepirama) a 14,9% (MDEA), enquanto os valores de precisão

Resultados e Discussão

inter-ensaio variaram 2,8% (MDEA) a 18,4% (EMA). Os valores de exatidão, calculados como porcentagens das concentrações teóricas variaram de 86,9% (Delta-9 THC) a 104,4% (EMA).

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de precisão (intra e inter-ensaio) e exatidão.

Tabela 7 - Valores de precisão e exatidão intra e inter-ensaio.

Analito	Conc. Nominal (ng/mL)	Exatidão (% bias)	Precisão (%DPR ^a)	
			Intra- ensaio	Inter- ensaio
ANF	25	91,7	3,6	11,5
	200	90,3	3,3	5,1
	400	96,3	1,7	7,6
MET	25	99,6	5,4	6,3
	200	99,5	5,9	6,4
	400	99,8	5,0	6,3
EMA	25	92,2	2,6	18,4
	200	96,5	7,8	9,5
	400	104,4	4,2	9,1
ANFEP	25	91,5	1,5	9,5
	200	90,7	13,4	11,2
	400	94,4	11,2	8,8
EME	25	89,8	5,9	10,3
	50	97,3	13,3	10,5
	100	90,4	10,3	9,5
FEMP	25	95,1	13,5	11,6
	200	100,3	14,4	11,9
	400	88,6	7,1	10,0
MDA	25	96,4	2,4	12,5
	200	97,7	2,6	13,5
	400	96,8	12,3	9,6

Analito	Conc. Nominal (ng/mL)	Exatidão (% bias)	Precisão (%DPR ^a)	
			Intra- ensaio	Inter- ensaio
MDMA	25	100,6	8,8	8,1
	200	100,1	2,8	7,1
	400	102,2	2,7	5,8
MDEA	25	95,7	14,9	10,6
	200	94,9	3,1	6,8
	400	96,7	3,3	2,8
COC	25	98,1	6,5	11,2
	200	90,6	5,4	5,4
	400	98,6	4,5	4,8
CE	25	93,9	13,4	14,4
	200	100,1	8,8	11,9
	400	99,4	14,4	12,5
THC	25	89,8	3,7	6,8
	200	86,9	11,9	10,7
	400	90,3	12,0	6,5
COOH THC	25	95,3	2,9	11,5
	200	94,1	10,5	10,2
	400	92,1	9,3	9,7

^aDesvio Padrão Relativo

4.1.5 RECUPERAÇÃO

Os valores de recuperação obtidos foram superiores a 74% para todos os analitos, exceto para o THC e seu metabólito (COOHTHC) que apresentaram valores de recuperação mais baixos, em torno de 30% (Tabela 8). A obtenção de valores mais baixos para o Delta-9 THC e seu metabólito, possivelmente, está relacionada com os caracteres neutro e ácido desses analitos, já que todos os outros analitos possuem caráter básico e tiveram excelentes taxas de recuperação. No entanto, mesmo com taxas de recuperação mais baixas, o método proposto

mostrou-se eficaz na extração do THC e seu metabólito em amostras de sangue total, mesmo em baixas concentrações.

O único analito que não pôde ser recuperado foi a benzoilecgonina (BE), assim como ocorreu em trabalho publicado por Zweipfenning et. al (1994). No entanto, o EME substituiu com sucesso a BE como principal metabólito e marcador de uso da cocaína. Experimentos adicionais mostraram que o uso de uma solução de diclorometano/isopropanol/hidróxido de amônio (78:20:2, v/v/v), como um passo adicional de eluição, pode recuperar a BE em níveis satisfatórios (PELIÇÃO et al., 2014).

Tabela 8 – Valores de recuperação dos analitos.

Analito	Conc. Nominal (ng/mL)	Precisão (%DPR^a)	Recuperação (%)	Recuperação média (%)
ANF	25	11,39	76,34	86,40
	200	12,27	87,61	
	400	2,26	95,26	
MET	25	4,98	93,41	99,00
	200	1,42	109,75	
	400	3,42	93,84	
EMA	25	10,61	97,97	96,68
	200	4,51	97,18	
	400	6,23	94,88	
ANFEP	25	5,84	93,05	94,13
	200	8,31	82,71	
	400	7,49	106,63	
EME	25	8,43	69,80	77,93
	50	9,45	77,03	
	100	7,37	86,98	
FEM	25	3,87	75,05	80,93
	200	1,81	80,48	
	400	6,64	87,26	

Analito	Conc. Nominal (ng/mL)	Precisão (%DPR ^a)	Recuperação (%)	Recuperação média (%)
MDA	25	7,03	60,18	74,18
	200	14,42	74,71	
	400	5,79	87,64	
MDMA	25	4,09	91,17	87,27
	200	3,95	88,31	
	400	5,89	82,34	
MDEA	25	3,96	91,29	89,22
	200	5,65	84,17	
	400	4,53	92,19	
COC	25	13,22	105,02	96,20
	200	8,14	88,27	
	400	7,33	95,33	
CE	25	1,58	87,14	94,16
	200	7,82	98,98	
	400	7,97	96,35	
THC	25	7,89	30,08	30,34
	200	3,05	28,24	
	400	11,16	32,70	
COOHTHC	25	8,20	29,87	34,60
	200	7,43	38,22	
	400	8,69	35,70	

^aDesvio Padrão Relativo

4.1.6 CARRYOVER

A análise de brancos injetados após o último nível da curva de calibração (500 ng/mL) não mostrou qualquer interferência. Adicionalmente, foi preciso avaliar se houve formação de EMA, como um artefato da conversão térmica da cocaína, em razão das altas temperaturas aplicadas no injetor (CONE; HILLSGROVE; DARWIN, 1994). A formação de EMA não foi observada em amostras com até 500 ng/mL de cocaína.

4.1.7 ESTABILIDADE

Todos os analitos mostraram estabilidade satisfatória após 90 dias de armazenamento a -20°C , assim como após três ciclos de congelamento e descongelamento. A estabilidade pós-processamento foi avaliada pela re-injeção dos extratos derivatizados que apresentaram boa estabilidade após até 72 h. Após esse tempo, o volume dos extratos era bastante reduzido devido à evaporação do derivatizante, impossibilitando novas injeções.

Os resultados dos testes de estabilidade foram comparados com os resultados de amostras recém-extraídas obtidos em um mesmo ensaio analítico com variações inferiores a 15%.

4.2 APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE EM AMOSTRAS DE SANGUE TOTAL DE VÍTIMAS FATAIS DE ACIDENTES DE TRÂNSITO.

Foram analisadas 391 amostras coletadas de vítimas fatais de acidentes de trânsito ocorridos durante os anos de 2011 e 2012. Essas amostras foram coletadas de motoristas e passageiros de veículos automotores, além de pedestres vítimas de atropelamentos atendidos pelo DML de Vitória – ES. As vítimas foram classificadas segundo os municípios de ocorrência dos acidentes. O município com o maior número de vítimas fatais foi o município de Serra, com 24,8% das vítimas fatais ($n=97$), seguido de Guarapari e Cariacica, com 13,0 e 9,7%, respectivamente ($n=51$ e $n=38$). O município de Vitória aparece como o sexto município com maior número de vítimas fatais, com registro de 5,6% dos acidentes fatais ($n=22$) (Figura 12).

Apesar do DML de Vitória atender, predominantemente, ocorrências situadas dentre os municípios da Região Metropolitana de Vitória, eventualmente essa unidade responde a chamados de municípios vizinhos. Ao longo do período de dois anos de realização deste estudo, contatou-se que quase 15% das vítimas faleceram em acidentes ocorridos em municípios fora da Região Metropolitana (Figura 12). Isso se explica pela dificuldade na obtenção de informações precisas sobre os acidentes, como será comentado mais adiante. Outra prova da dificuldade na obtenção de tais informações é que 15,3% das vítimas ($n=60$) permaneceram sem a informação sobre onde ocorreu o acidente (NI).

Figura 12 – Distribuição das vítimas de acidentes de trânsito por municípios da Região Metropolitana de Vitória.

De fato, durante a execução deste trabalho, houve grande esforço no sentido de se obter o máximo de informações relativas a cada acidente, principalmente para identificar a posição ocupada pela vítima no momento do acidente, ou seja, se motorista ou passageiro, priorizando a coleta de amostras de motoristas. Contudo, a obtenção de informações confiáveis para diferenciação desses dois grupos foi bastante difícil, mesmo realizando busca ativa de tais informações em diferentes fontes, tais como: arquivos do Departamento Médico Legal, arquivos da Delegacia de Delitos de Trânsito e imprensa especializada, por meios impresso e digital. Em virtude dessa dificuldade, um número razoável de vítimas ($n=46$) permaneceu sem essa informação. Mesmo diante das dificuldades apresentadas, a maioria das vítimas era composta por motoristas (59%, $n=230$). Além dos motoristas, compuseram a amostragem total 56 passageiros e 59 pedestres (Figura 13).

Figura 13 – Distribuição das vítimas de acidentes de trânsito entre motoristas, passageiros, pedestres e não informado (NI).

Além da identificação das vítimas quanto ao papel desempenhado no trânsito (se motorista, passageiro ou pedestre), essas também foram classificadas quanto ao tipo de acidente sofrido. Foram 178 vítimas de acidentes automobilístico (carros, caminhões ou ônibus), 149 vítimas de acidentes motociclísticos e 59 atropelamentos. Não foi possível obter informações sobre o tipo de acidente em 5 casos (Figura 14).

Figura 14 – Distribuição dos acidentes de trânsito entre automobilísticos, motociclísticos, atropelamentos e não informado (NI).

Resultados e Discussão

O levantamento de dados demográficos das vítimas mostrou que o maior número de fatalidades ocorreu entre homens na faixa etária de 25 e 34 anos (27,9%, n=109), seguido de homens entre 16 e 24 anos (18,9%, n=74). Do total de vítimas, 86,2% (n=337) eram do sexo masculino (Tabela 9). Duas vítimas dirigiam de forma ilegal por possuírem menos de 18 anos. Esses achados estão em concordância com diversos outros artigos que mostram que o maior número de vítimas de acidentes de trânsito ocorre entre jovens do sexo masculino (BREITENBACH et al., 2011; DRUMMER et al., 2003; ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009; FURRHOLDEN et al., 2006; GUSTAVSEN; MØRLAND; BRAMNESS, 2006; ROMANO; POLLINI, 2013; SWEEDLER et al., 2004; VAEZ; LAFLAMME, 2005; WALSH et al., 2005).

Tabela 9 – Frequência de vítimas por gênero e faixa etária. Dados em número de vítimas e porcentagem.

	FAIXA ETÁRIA						Total
	16 - 24	25 - 34	35 - 44	45 - 54	55 - 64	> 64	
Feminino	21 (5,4)	5 (1,3)	12 (3,1)	7 (1,8)	4 (1,0)	5 (1,3)	54 (13,8)
Masculino	74 (18,9)	109 (27,9)	61 (15,6)	50 (12,8)	27 (6,9)	16 (4,1)	337 (86,2)
Total	95 (24,3)	114 (29,2)	73 (18,7)	57 (14,6)	31 (7,9)	21 (5,4)	391 (100,0)

Como mostrado acima, jovens do sexo masculino compõem um grupo de risco para acidentes de trânsito. Especialistas elencam como principais causas a pouca experiência que estes possuem como motoristas, além da maior propensão em assumir riscos, como dirigir em alta velocidade e sob o efeito de álcool e/ou outras drogas (ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009; REISFIELD et al., 2012).

Nesse aspecto, também foram os jovens de sexo masculino que apresentaram as maiores prevalências de uso de álcool e/ou outras drogas dentre as vítimas fatais. Chama atenção o fato de que mais da metade das vítimas na faixa etária de 25 a 34 anos (57,9%) apresentou resultados positivos para álcool e/ou

Resultados e Discussão

drogas ilícitas (Figura 15). A média de idade dos sujeitos de pesquisa que compuseram este estudo foi de 37 anos, com mediana de 34 anos. Os valores mínimos e máximos encontrados foram de 16 e 83 anos, respectivamente.

Figura 15 – Resultado da análise toxicológica por faixa etária.

De forma geral, a porcentagem de vítimas fatais de acidentes de trânsito que estavam sob o efeito de álcool e/ou outras drogas no momento do acidente foi de 44,8% (n=175), sendo que 26,9% destas apresentaram positividade apenas para álcool (n=105) e 8,7% apenas para drogas ilícitas (n=34). A positividade total encontrada para drogas ilícitas foi de 17,9% (n=70), com ou sem a presença de álcool (Figura 16).

Figura 16 – Frequência de uso de drogas nas vítimas fatais de acidentes de trânsito.

É possível observar na Figura 17 que os resultados obtidos pelo estudo da população de motoristas são similares aos obtidos na amostragem total (motoristas, passageiros e pedestres). A porcentagem de motoristas vítimas fatais de acidentes de trânsito que estavam sob o efeito de álcool e/ou outras drogas no momento do acidente foi de 47,0% (n=108), sendo que 25,2% destes apresentaram positividade apenas para álcool (n=58), 11,3% apenas para drogas ilícitas (n=26) e 10,4% dos motoristas tiveram resultados positivos para álcool e drogas ilícitas, simultaneamente (n=24). A positividade total encontrada para drogas ilícitas entre os motoristas foi de 21,7% (n=50), com ou sem a presença de álcool.

Figura 17 – Frequência de uso de drogas entre condutores, vítimas fatais de acidentes de trânsito.

Há grande discrepância entre os resultados obtidos por outros estudos, com taxas de positividade variando de 5,7% até 89%. A principal razão para tal diferença parece estar no tipo de população estudada, pois as menores taxas de positividade foram encontradas em amostras coletadas de forma randômica em motoristas vivos e as maiores, em motoristas suspeitos de dirigir sob efeito de drogas (AUGSBURGER et al., 2005; BEHRENSDORFF; STEENTOFT, 2003; GJERDE et al., 2011b; SENNA et al., 2010). Por outro lado, estudos realizados com amostras coletadas de vítimas fatais ou seriamente feridas em acidentes de trânsito, apresentaram taxas de positividade para álcool e/ou drogas mais próximas à encontrada neste trabalho, variando entre 33,9% e 54% (CARMEN DEL RÍO et al.,

2002; DRUMMER et al., 2003, 2012; ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009; JONES et al., 2009; LEGRAND et al., 2012).

Além da alta incidência de motoristas dirigindo sob o efeito de drogas, conforme relatado nos diversos trabalhos citados acima, é igualmente comum o uso combinado de álcool e drogas. Como discutido anteriormente em trabalho publicado por Gjerde e colaboradores (2011a), é justamente nessa condição de uso simultâneo de substâncias, que reside o maior risco de se envolver em um acidente de trânsito fatal, principalmente quando uma das substâncias é o álcool, situação detectada em 36 vítimas de acidentes de trânsito neste trabalho (Figura 16). Dessas, 24 eram condutores de veículos automotores (motos ou automóveis), correspondendo a 10,4% dos motoristas (Figura 17 e Tabela 10), e 23 apresentaram alcoolemia superior a 6 dg/L, limite brasileiro para aplicação de sanções penais por dirigir embriagado (BRASIL, 2013) (Tabela 11). Apenas quatro vítimas com positividade concomitante para álcool e drogas ilícitas eram passageiras de veículos automotores e outras cinco eram pedestres (Tabela 10).

O achado de 36 casos de positividade simultânea para álcool e drogas ilícitas diferiu bastante de trabalho realizado por Breitenbach et al. (2011), com o achado de apenas dois casos nessa condição.

Tabela 10 – Resultado qualitativo das análises toxicológicas por grupo de vítimas. Dados em número de vítimas e porcentagem.

	Negativo	Álcool	Drogas	Álcool + drogas	Total
Motorista	122 (35,4)	58 (16,8)	26 (7,5)	24 (7,0)	230 (66,7)
Passageiro	30 (8,7)	16 (4,6)	6 (1,7)	4 (1,2)	56 (16,2)
Pedestre	31 (9,0)	21 (6,1)	2 (0,6)	5 (1,4)	59 (17,1)
Total	183 (53,0%)	95 (27,5%)	34 (9,9%)	33 (9,6%)	345 (100%)

Resultados e Discussão

Tabela 11 – Relação de motoristas com positividade simultânea para álcool e drogas ilícitas.

Caso	Droga(s) detectada(s)	Álcool (dg/L)	Caso	Droga(s) detectada(s)	Álcool (dg/L)
31	COC	14,3	248	COC	8,1
47	COC	9,9	272	COC	12,8
86	COC	20,8	312	COC	32,4
109	COC	12,9	317	COC	19,7
133	COC	9,4	334	COC	26,9
135	COC	17,2	336	COC	27,0
143	ANF	25,0	358	COC	11,2
156	COC	19,7	370	COC	22,0
179	COC	20,2	375	CANAB	24,0
188	COC	19,9	384	COC	19,6
196	COC	3,2	389	COC	7,6
208	COC	30,4	390	ANF, COC E CANAB	17,7

Além da positividade simultânea para álcool e drogas ilícitas, sete casos apresentaram positividade para mais de uma classe de droga. Três desses casos referem-se a amostras de motoristas (casos 54, 249 e 390). O caso 390, além de apresentar positividade para todas as três classes de drogas ilícitas pesquisadas, também apresentou alcoolemia positiva (17,7 dg/L), conforme mostrado na Tabela 12. Os casos 266 e 363, referentes a amostras de passageiros, também tiveram alcoolemias positivas nas concentrações de 10,6 dg/L e 5,3 dg/L, respectivamente. Os casos 142 e 161 eram de passageiros de veículos automotores com alcoolemias negativas (Tabela 12).

Resultados e Discussão

Tabela 12 – Resultados quantitativos (ng/mL) para pesquisa de drogas ilícitas em caso de uso de múltiplas drogas.

Caso	ANF	MET	FEMP	MDA	MDMA	EMA	EME	COC	THC	COOHTHC
54	26,3	120,55	-	-	-	-	-	-	15,37	144,4
142	-	< 10,0	-	-	-	< 10	13,15	< 10	-	20,23
161	-	-	-	-	-	-	43,5	< 10	< 10	88,63
249	-	-	-	-	-	-	66,09	18,35	-	36,22
266	-	-	-	331,4	1069,03	-	-	-	13,11	99,25
363	14,26	-	-	-	-	-	-	-	-	36,16
390	33,4	-	124,05	-	-	-	17,8	-	-	32,41

Dentre os indivíduos que apresentaram positividade para drogas ilícitas, as drogas mais frequentemente encontradas foram a cocaína, com 11% de vítimas positivas para essa droga (n=43), seguida de compostos anfetamínicos, com 2,8% (n=11) e cannabis, com 2,3% (n=9). Essas frequências foram determinadas com a detecção de cada droga de maneira isolada, ou seja, sem a presença de outra classe de drogas ilícitas. Três casos (0,8%) apresentaram associação entre anfetaminas e cannabis. Positividades simultâneas para cocaína e cannabis e para todas as três classes de drogas foram encontradas em 0,5% dos casos (n=2, cada) (Figura 18).

Figura 18 – Prevalência das classes de drogas e associações.

A figura 18 mostra os resultados qualitativos das análises toxicológicas realizadas nas 391 vítimas fatais de acidentes de trânsito, separadas por drogas (exceto álcool) (Figura 19).

Figura 19 – Resultado qualitativo das análises toxicológicas em número de casos na população estudada.

Quando o álcool é incluído na relação de drogas pesquisadas, fica claro que essa ainda é a droga mais prevalentemente encontrada nas vítimas fatais de acidentes de trânsito no Brasil (Figura 20). O álcool foi a única droga encontrada no sangue de 25,8% das vítimas (n=101). Em segundo lugar aparece uma associação entre álcool e cocaína, encontrada em 7,7% das vítimas fatais (n=30), seguido pelo achado de cocaína (isolada), com 3,3% (n=13) e anfetaminas (isoladas), com 2,6% (n=10). Outros achados são mostrados na Figura 20.

Figura 20 - Prevalência das classes de drogas ilícitas, álcool e associações.

Conforme demonstrado acima, a cocaína foi a droga ilícita detectada com maior frequência neste estudo. A Figura 21 mostra um cromatograma obtido de um caso positivo para cocaína.

Figura 21 – Cromatograma de um caso positivo para cocaína e metabólitos.

A inclusão do EMA, produto de pirólise da cocaína e marcador de uso de *crack*, permitiu identificar que 27,7% (n=13) das 47 vítimas que apresentaram positividade para cocaína fizeram uso da forma fumada da droga, fato confirmado pelo achado desse marcador nas amostras de sangue (Figura 22).

Figura 22 – Positividade para o uso de *crack* dentre usuários de cocaína.

Para uma melhor análise do dado exposto acima, as vítimas com resultado positivo para cocaína foram separadas em motoristas, passageiros e pedestres. Dos 13 resultados positivos, dois não puderam ser classificados nesses grupos, por dificuldades na obtenção de informações sobre o acidente. Obtivemos então, 11 amostras positivas para EMA devidamente classificadas nos três grupos acima discriminados. Sete dessas amostras eram pertencentes a motoristas (63,6%), 2 pertenciam a passageiros (18,2%) e 2 a pedestres (18,2%). Isso significa dizer que 20% dos motoristas com resultado positivo para cocaína haviam consumido a droga sob a forma de *crack*. O mesmo ocorreu com 40% dos passageiros e pedestres (Figura 23).

Figura 23 - Uso de *crack* dentre as vítimas positivas para cocaína.

Em relação ao uso de *crack*, não foi possível comparar os resultados obtidos neste trabalho com outras pesquisas devido à inexistência de publicações sobre o uso dessa droga no contexto do trânsito. De qualquer forma, o achado de que 20% dos motoristas positivos para cocaína fizeram uso de *crack*, serve como indicador de que essa apresentação da droga não está restrita apenas a populações menos favorecidas, como moradores de rua ou outras.

Os outros marcadores de uso de cocaína utilizados neste trabalho foram o éster de metilecgonina (EME) e o cocaetileno, além da própria cocaína. O EME foi detectado em todas as amostras com resultado positivo para uso de cocaína (n=47), tendo sido encontrado isoladamente em 9 delas (19,1%). O cocaetileno foi detectado em 23 amostras. Ao todo, 30 amostras apresentaram positividade simultânea para álcool e marcadores de uso da cocaína e o cocaetileno estava presente em 76,7% dessas amostras.

A Tabela 13 mostra os resultados quantitativos para os marcadores de uso de cocaína.

Resultados e Discussão

Tabela 13 – Prevalências e resultados quantitativos dos casos positivos para cocaína e seus marcadores (ng/mL).

Analitos	N	EME - média (mediana) variação	COC - média (mediana) variação	COE - média (mediana) variação	EMA - média (mediana) variação
EME apenas	8	38,65 (21,43) 16,30 - 137,56	-	-	-
EME + COC	13	61,35 (49,22) 17,84 - 294,36	22,31 (19,22) < 10 - 46,92	-	-
EME + COC + CE	13	274,87 (177,69) 27,32 - 723,46	58,25 (26,45) < 10 - 176,7	58,75 (35,0) < 10 - 334,07	-
EME + EMA	1	28,17	-	-	< 10
EME + COC + EMA	2	35,92 (35,92) 13,15 - 58,69	- (-) < 10 - 31,92	-	< 10
EME + COC + CE + EMA	10	330,11 (214,9) 97,4 - 897,35	151,11 (98,38) < 10 - 653,86	25,60 (23,64) < 10 - 44,93	15,11 (12,23) < 10 - 25,36

(-) Não detectado

A cocaína, em ambas as formas de apresentação (pó e *crack*), encontrada como a droga ilícita mais prevalente em nosso meio, não parece ter a mesma popularidade em países desenvolvidos. Em estudos internacionais realizados em motoristas vivos, a cocaína não costuma figurar dentre as drogas ilícitas mais utilizadas. Na Suécia, por exemplo, não há registros de uso de *crack* por motoristas, e o uso de cocaína (pó) é pequeno (3%, em estudo com 26.567 amostras) (JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008a). Na Dinamarca, estudo realizado com 900 motoristas detectou apenas 0,11% de positividade para cocaína (BEHRENSDORFF; STEENTOFT, 2003). Similarmente, menos de 0,1% de resultados positivos para cocaína foi encontrado em estudo norueguês realizado em mais de 10.000 motoristas (GJERDE et al., 2011b).

Da mesma forma, estudos realizados em vítimas fatais de acidentes de trânsito também revelam baixa positividade para cocaína. Estudo realizado na Austrália com 3.398 vítimas fatais detectou apenas 5 casos positivos para cocaína,

ou seja, 0,14% de positividade (DRUMMER et al., 2003). Outro estudo, realizado na França com 2.003 motoristas com idades inferiores a 30 anos, também revelou baixa positividade para cocaína, com apenas 3% de amostras positivas (MURA et al., 2006). Incidência mais elevada de uso de cocaína foi encontrada apenas em trabalho conduzido por Marzuk et. al (1990), que detectou 18,2% de vítimas fatais de acidentes de trânsito com resultados positivos para cocaína, em estudo realizado na cidade de Nova Iorque, EUA.

Salvo engano, não existe trabalho publicado que tenha avaliado a presença de drogas em vítimas fatais de acidentes de trânsito no Brasil, sendo este o primeiro relato científico. Outros estudos realizados no Brasil, embora com motoristas vivos, apontaram prevalências de 0,56% a 5,8% para o uso de cocaína, valores bem inferiores aos 12% encontrados neste trabalho (LEYTON et al., 2012; YONAMINE et al., 2013; ZANCANARO et al., 2012). Contudo, as diferenças existentes entre os trabalhos torna difícil a comparação dos resultados, como será discutido posteriormente. Além disso, nenhum dos trabalhos citados acima pesquisou a presença de marcadores de uso de *crack*.

Dentre as anfetaminas pesquisadas neste estudo, a única que não foi encontrada foi o MDEA. No total, 16 casos positivos para compostos anfetamínicos foram detectados dentre todas as vítimas pesquisadas, correspondendo a 4,1% de positividade. Em 62,5% desses casos (n=10), as amostras pertenciam a motoristas. Cinco casos eram referentes a amostras de passageiros e apenas um pertencia a pedestre.

A anfetamina e o femproporex foram as drogas mais frequentes dentre os compostos anfetamínicos, com sete casos positivos, cada. A Figura 24 mostra o cromatograma de um caso positivo para femproporex e anfetamina.

Figura 24 – Cromatograma de um caso positivo para femproporex e anfetamina.

Considerando que a anfetamina também é produto de metabolização da metanfetamina e do femproporex, pode-se dizer que sua presença como um dos analitos mais frequentes dentre essa classe de drogas era, de certa forma, esperada. Em seguida, aparece a metanfetamina, com quatro casos e o MDA, detectado em duas vítimas. O MDMA e a anfepramona só foram detectados em um caso cada (Figura 25 e Tabela 14).

A Tabela 14 mostra os resultados quantitativos para as drogas da classe das anfetaminas.

Figura 25 – Número de casos positivos para drogas da classe das anfetaminas.

Tabela 14 – Prevalências e resultados quantitativos dos casos positivos para anfetaminas (ng/mL).

Analitos	N	Média	Mediana	Variação
ANF	7	40,81	33,4	14,26 - 70,77
FEMP	7	54,13	15,24	12,34 - 158,53
MET	4	37,64	< 10	< 10 - 120,55
MDA	2	182,36	182,36	33,31 - 331,40
MDMA	1	-	-	1069,03
ANFEP	1	-	-	36,49
MDEA	0	-	-	-

(-) Não detectado

O uso de cannabis pelas vítimas de acidentes fatais neste trabalho foi determinado pela pesquisa do THC e de seu metabólito, o COOHTHC. Esses marcadores foram, de forma semelhante ao ocorrido com as anfetaminas, detectados em 16 casos, correspondendo a uma positividade de 4,1%, dentre todos os sujeitos de pesquisa (Figura 26). O THC, principal princípio ativo da cannabis, foi detectado em 6 casos (1,5%), sempre acompanhado da presença do COOHTHC, metabólito inativo do THC. Assim, apenas cerca de um terço das amostras positivas

Resultados e Discussão

para COOHTHC também possuíam positividade para o THC, em conformidade com os achados de Appenzeller et al. (2005) (Figura 26 e Tabela 15).

Dentre os 16 casos positivos para cannabis, 9 eram referentes a motoristas, 5 pertenciam a passageiros e 1 a pedestre. Não foi possível obter a informação sobre a condição da vítima (motorista, passageiro ou pedestre) em um caso.

A Tabela 15 mostra os resultados quantitativos para os casos positivos para cannabis.

Figura 26 – Número de casos positivos para cannabis.

Tabela 15 – Prevalências e resultados quantitativos dos casos positivos para cannabis (ng/mL).

Analitos	N	COOHTHC - média (mediana) variação	THC - média (mediana) variação
COOHTHC apenas	10	48,19 (36,19) 14,89 - 116,95	-
THC + COOHTHC	6	88,94 (93,21) 23,20 - 144,44	17,11 (15,45) < 10 - 23,11

(-) Não detectado

Comparativamente, estudos realizados em países desenvolvidos indicam uma maior incidência na detecção de anfetaminas e/ou cannabis em detrimento a maiores índices de positividade para cocaína e seus metabólitos (ACAR et al., 2013; ALVAREZ; FIERRO; DEL RÍO, 2007; BLENCOWE et al., 2012; DRUMMER et al.,

2012; JONES; HOLMGREN; KUGELBERG, 2008b; MURA et al., 2003, 2006; ROMANO; POLLINI, 2013; SCHWILKE; SAMPAIO DOS SANTOS; LOGAN, 2006; SENNA et al., 2010).

Estudos realizados em vítimas fatais de acidentes de trânsito determinaram prevalências que variavam de 1,2% a 5,1% para anfetaminas e de 1,6% a 28,9% para cannabis (CARMEN DEL RÍO et al., 2002; DRUMMER et al., 2003; HACKETT; GARRISON; REEDER, 2003; HOLMGREN; HOLMGREN; AHLNER, 2005; JONES et al., 2009; LEGRAND et al., 2012; MURA et al., 2006; ROMANO; POLLINI, 2013).

A anfetamina foi a principal droga encontrada na Suécia, enquanto a cannabis foi a droga mais prevalente dentre vários países, como Austrália, Bélgica, Canadá, EUA e França (DRUMMER et al., 2003; HACKETT; GARRISON; REEDER, 2003; HOLMGREN; HOLMGREN; AHLNER, 2005; JONES et al., 2009; LEGRAND et al., 2012; MURA et al., 2006; ROMANO; POLLINI, 2013).

A prevalência de 4,1% de casos positivos para cannabis encontrada neste trabalho foi inferior ao encontrado em diversos outros estudos internacionais, nos quais a cannabis é encontrada como a principal droga ilícita, como mostrado acima. Por outro lado, estudos estimam que a prevalência de cannabis varie de 3,3 a 10% em vítimas feridas e de 2,2 a 8,4% em vítimas fatais de acidentes de trânsito, valores em consonância com os encontrados neste trabalho (ALVAREZ; FIERRO; DEL RÍO, 2007). Outros trabalhos nacionais apresentaram prevalências mais baixas para o uso de cannabis que a aqui encontrada, variando de 0,4 a 1,1% (LEYTON et al., 2012; YONAMINE et al., 2013; ZANCANARO et al., 2012).

A baixa recuperação na extração do THC e de seu metabólito, o COOHTHC, obtida no processo de validação deste método implicou na obtenção de limites de quantificação mais elevados (10 ng/mL), o que pode ter subestimado o número de casos positivos para cannabis, já que diversos autores sugerem valores de *cut-off* entre 1 e 2 ng/mL para o THC e de até 5 ng/mL para o COOHTHC (BLENCOWE et al., 2012; KUYPERS et al., 2012; WALSH et al., 2008). Apesar disso, trabalho realizado por Drummer et al. (2012) mostrou que cerca de 70% dos motoristas tinham concentrações de THC iguais ou superiores a 10 ng/mL, o que permitiria a identificação da maioria das vítimas que usaram cannabis.

Uma característica bem particular dos trabalhos realizados no Brasil é a inclusão do femproporex e da anfepramona à classe das anfetaminas, devido ao uso dessas drogas por motoristas profissionais (LEYTON et al., 2012; ZANCANARO et

al., 2012). De fato, trabalhos realizados por Yonamine et al. (2013) e Leyton et al. (2012) que realizaram a coleta de amostras, exclusivamente, em motoristas profissionais, determinaram as anfetaminas como as drogas mais detectadas, com 0,64% e 5,7% do total de amostras, respectivamente. Zancanaro et al. (2013) obtiveram 3,1% de positividade para anfetaminas, atrás apenas da cocaína.

Os trabalhos nacionais acima referidos são os únicos realizados com dados obtidos por análises laboratoriais. Nesses, a prevalência total para drogas ilícitas (cocaína, anfetaminas e cannabis) foi mais baixa que a prevalência de 17,9% encontrada no presente estudo. Yonamine et al. (2013) determinaram prevalência total de 1,66% para drogas ilícitas, enquanto Leyton et al. (2012) e Zancanaro et al. (2013) encontraram positivities de 9,3 e 10,2%, respectivamente. Algumas diferenças entre os trabalhos realizados são evidentes, como tipo de matriz utilizada (saliva, urina e sangue), condição do sujeito de pesquisa (vivo ou morto, envolvido em acidente ou aleatório), método analítico utilizado (GC-MS ou LC-MS/MS), dentre outras. Dentre essas diferenças, a utilização de amostras de urina, matriz na qual as drogas permanecem por mais tempo detectáveis, e a utilização de método de análise por LC-MS/MS, técnica mais sensível que GC-MS, poderiam elevar o número de amostras positivas na população estudada, especialmente para os canabinóides pesquisados, o que de fato não ocorreu.

Trabalhos internacionais que, como este, utilizaram apenas amostras de vítimas fatais de acidentes de trânsito para a realização do estudo, revelaram prevalências para drogas capazes de alterar a capacidade de dirigir veículos automotores variando de 10 a 32%. A grande diferença é que esses trabalhos também incluíram medicamentos dentre o rol de analitos pesquisados, o que sem dúvida aumenta os números de positividade (CARMEN DEL RÍO et al., 2002; DRUMMER et al., 2003; ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009; HOLMGREN; HOLMGREN; AHLNER, 2005; JONES et al., 2009; ROMANO; POLLINI, 2013; SCHWILKE; SAMPAIO DOS SANTOS; LOGAN, 2006).

Em relação ao álcool, o achado de 35,3% de positividade, obtido nesta pesquisa, diferiu bastante dos valores encontrados em outros trabalhos realizados no Brasil. Yonamine et al. (2013) detectou 1,44% de positividade enquanto Boni et al. (2012) encontrou valores entre 4,4 e 8,1%, com variações referentes aos dados coletados nas diferentes regiões do Brasil. Mais uma vez, diferenças entre os métodos de cada trabalho, principalmente com relação ao tipo de população

estudada, parecem ter sido responsáveis por tamanha discrepância entre os resultados obtidos. Ambos os trabalhos acima referenciados realizaram coletas através de abordagens aleatórias em motoristas (vivos) em período matutino, ou até a meia-noite, não compreendendo a madrugada.

Por outro lado, trabalhos internacionais realizados em amostras de sangue total de vítimas fatais de acidentes de trânsito revelaram prevalências variando entre 22 e 45,1%, mais próximas a encontrada neste trabalho (DRUMMER et al., 2003; GJERDE et al., 2011a; HOLMGREN; HOLMGREN; AHLNER, 2005; JONES et al., 2009; ROMANO; POLLINI, 2013; SCHWILKE; SAMPAIO DOS SANTOS; LOGAN, 2006).

A Figura 27 mostra os resultados de alcoolemia obtidos neste trabalho e distribuídos por faixas de concentração. A maioria das vítimas com alcoolemia positiva apresentou resultados entre 10,1 e 20 dg/L. Foram 56 vítimas, representando 14,3% do total de vítimas com concentrações de álcool nessa faixa. Em seguida, houve 9,2% de vítimas com concentrações entre 20,1 a 30,0 dg/L (n=36); 6,9% de vítimas com concentrações entre 1,0 e 10,0 dg/L (n=27) e 3,6% com concentrações entre 30,1 e 40,0 dg/L (n=14). Seis vítimas (1,5%) tiveram concentrações extremamente altas, superiores a 40,0 dg/L. Valores como esses geralmente estão relacionados com morte por intoxicação alcoólica aguda, entretanto fatores como idade, hábitos relacionados a bebidas e desenvolvimento de tolerância podem modificar bastante esses limites entre diferentes pessoas (JONES; HARDING, 2013). Estudo realizado por Jones e Harding (2013) com motoristas de Wisconsin, EUA e da Suécia apresentaram, respectivamente, 0,25 e 0,28% de motoristas nessa faixa de concentração, bem abaixo do obtido no presente estudo. Apesar da redução do limite permitido de álcool de 2 dg/L para zero, dada pela Lei Nº 12.760, de 20 de dezembro de 2012 (BRASIL, 2012), nenhuma das vítimas deste estudo apresentou alcoolemia positiva com valores inferiores a 2 dg/L, tendo sido o menor valor registrado igual a 2,8 dg/L.

Figura 27 – Resultados de alcoolemia distribuídos por faixas de concentração.

Como descrito anteriormente, o presente trabalho não foi realizado exclusivamente com amostras de motoristas de veículos automotores, mas também com amostras de passageiros e pedestres, todos vítimas fatais de acidentes de trânsito e, assim como encontrado por Elliot, Woolacott e Braithwaite (2009), a análise dos resultados toxicológicos obtidos de vítimas que estavam no controle de veículos automotores (motoristas) ou não (passageiros e pedestres), não mostrou diferenças quanto a positividade para álcool e/ou drogas ilícitas. No presente estudo, 45,9% dos motoristas (n=106), 46,4% dos passageiros (n=26) e 45,6% dos pedestres (n=26) apresentaram positividade para álcool e/ou drogas ilícitas (Figura 28).

Figura 28 – Positividade para álcool e/ou drogas ilícitas nas diferentes vítimas de acidentes de trânsito.

Entretanto, em análise mais detalhada, foi possível observar algumas diferenças no tipo de substância utilizada por cada grupo. A positividade para álcool, por exemplo, foi maior nos grupos de pedestres e de passageiros, com 33,3% (n=19) e 28,6% (n=16), respectivamente. Motoristas tiveram 23,8% (n=55) de indivíduos positivos para álcool. Por outro lado, a única associação de drogas encontrada no grupo de pedestres foi a de álcool e cocaína. Quase todos os tipos de associações foram encontradas no grupo de motoristas. Motoristas e pedestres tiveram comportamento semelhante no uso associado de álcool e cocaína, com 9,1% (n=21) e 8,8% (n=5) de positividade, respectivamente, enquanto apenas 3,6% dos passageiros foi positivo nesse perfil (n=2). A positividade isolada para cocaína também foi maior no grupo de motoristas (5,2%, n=12). Passageiros apresentaram apenas 1,8% de positividade para cocaína (n=1) e no grupo de pedestres nenhum indivíduo foi positivo para cocaína de forma isolada. Positividades bastante semelhantes foram encontradas para anfetaminas e cannabis nos três grupos (Figura 29). É possível que a menor positividade de álcool e o maior número de casos positivos para drogas ilícitas no grupo de motoristas seja um comportamento mais novo, reflexo das abordagens de trânsito para verificação de embriaguez alcoólica por meio de etilômetro.

Figura 29 – Positividade para álcool e classes de drogas ilícitas nas diferentes vítimas de acidentes de trânsito.

A pesquisa toxicológica em passageiros é frequentemente necessária pois, em diversas situações, não está claro quem estava na direção do veículo após o acidente. Além disso, ações de um passageiro sob o efeito de álcool e/ou outras drogas podem ter sido a causa de um acidente (ELLIOTT; WOOLACOTT; BRAITHWAITE, 2009).

Analisando apenas os condutores de veículos automotores e separando-os quanto ao tipo de acidente (automobilístico ou motociclístico) foi possível constatar que os condutores de motocicletas apresentaram positividade ligeiramente maior para álcool e/ou drogas que os condutores de automóveis. Os condutores de motocicletas tiveram 49,2% de positividade (n=64) contra 42,2% de positividade dos condutores de automóveis (n=43) (Figura 30). Ou seja, praticamente metade dos condutores de motocicletas haviam consumido álcool ou algum outro tipo de droga antes do acidente.

Figura 30 – Positividade para álcool e drogas ilícitas de condutores de veículos automotores.

Em relação ao tipo de droga utilizada por motoristas constatou-se que os condutores de motocicletas apresentaram maior positividade para álcool (isolado) e para cocaína e álcool que os condutores de automóveis, com 26,2% (n=34) e 13,1% (n=17) contra 20,6% (n=21) e 4,9% (n=5), respectivamente. Ao contrário, condutores de automóveis apresentaram maior positividade para cocaína (isolada) e para anfetaminas (isolada) que os condutores de motocicletas, com 6,9% (n=7) e 3,9% (n=4) contra 3,8% (n=5) e 2,3% (n=3) (Figura 31). A positividade para substâncias estimulantes (anfetaminas e cocaína) sem a presença de álcool também pode ser explicada pelo comportamento de motoristas profissionais que se utilizam dessas substâncias para aumentarem suas produtividades, tornando-se capazes de dirigir por longos períodos, embora isso não tenha sido comprovado neste estudo.

Figura 31 – Positividade para álcool e classe de drogas ilícitas em condutores de veículos automotores.

O Apêndice 1 mostra os resultados quantitativos de todos os casos positivos para drogas ilícitas (n=70).

CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

O método de análise proposto neste trabalho se mostrou capaz de detectar todas as três classes de drogas ilícitas propostas, apresentando bom desempenho em todos os parâmetros de validação avaliados. A única exceção foi a baixa recuperação obtida para os canabinóides avaliados, implicando em um *cut-off* superior às recomendações internacionais. Contudo, experimentos realizados em um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massas do tipo quadrupolo simples em modo SIM (*single ion monitoring*) mostrou ser capaz de detectar tais analitos em concentrações de 2 ng/mL. Atualmente, a transferência do método está em curso.

O método proposto apresenta como vantagens para a triagem de drogas de abuso em amostras de sangue total, a grande variedade de analitos pesquisados, o tempo de corrida reduzido, a análise dos extratos ácidos e básicos em uma única injeção, além da utilização de um único agente derivatizante.

O presente trabalho apresentou duas principais inovações, a saber: 1) Foi o primeiro trabalho a realizar a pesquisa de drogas em vítimas fatais de acidentes de trânsito no Brasil; e 2) Foi o primeiro trabalho a pesquisar o EMA, marcador de uso de *crack*, em vítimas fatais de acidentes de trânsito.

O levantamento da positividade de álcool e/ou drogas ilícitas em vítimas fatais de acidentes de trânsito revelou prevalências muito superiores aos outros trabalhos realizados no Brasil, com motoristas vivos. Esse fato sugere relação com o risco aumentado ao conduzir veículos automotores sob o efeito de álcool e/ou drogas ilícitas, conforme demonstrado em diversos trabalhos.

A inclusão do EMA no rol de substâncias pesquisadas possibilitou a identificação de usuários de cocaína em sua forma de administração por via respiratória, fornecendo assim mais informações a respeito do uso indiscriminado dessa droga, também por condutores de veículos automotores.

Além disso, o método foi desenvolvido de modo a utilizar amostras de sangue total, considerada a amostra mais adequada para avaliar o efeito de substâncias capazes de prejudicar a capacidade de conduzir veículos automotores no momento do acidente. Em razão disso, resultados obtidos em amostras de sangue são, invariavelmente, admitidas em tribunais.

Conclusões

O método desenvolvido também é vantajoso no sentido de pesquisar todas as principais drogas ilícitas de reconhecida importância no contexto do trânsito brasileiro, já que o uso de opióides não é comum em nosso meio.

Contudo, apesar da elevada prevalência encontrada para drogas ilícitas neste trabalho, o álcool continua sendo a principal droga relacionada com fatalidades no trânsito.

Dentre as drogas ilícitas pesquisadas neste trabalho, a cocaína revelou-se a droga mais prevalentemente encontrada nas vítimas fatais de acidentes de trânsito, constituindo um padrão de uso de drogas ilícitas distinto daquele encontrado em países desenvolvidos.

Quanto ao tipo de vítima, os resultados obtidos neste trabalho indicaram que os homens jovens com idades até 34 anos estão sob maior risco de morte por acidentes de trânsito, em concordância com diversos trabalhos internacionais. Nesse sentido, o desenvolvimento de campanhas educativas e a realização de ações de fiscalização direcionadas a motoristas jovens pode reduzir o número de mortes nesse grupo.

Além da pesquisa de drogas ilícitas, a pesquisa de drogas lícitas (medicamentos) também é altamente encorajada por especialistas e frequentemente pesquisada em diversos estudos sobre a relação existente entre o uso de drogas e o risco aumentado de acidentes. A pesquisa de benzodiazepínicos, barbitúricos e outros sedativos, como os anti-histamínicos deve ser objeto de estudos futuros visando a determinação das prevalências desses medicamentos em motoristas brasileiros.

Ainda em relação às drogas a serem pesquisadas, estudos adicionais são necessários para garantir o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de detectar as chamadas drogas sintéticas, como por exemplo, os diversos compostos anfetamínicos e canabinóides sintéticos, recentemente incluídos pela ANVISA na Portaria SVS Nº 344, através da Resolução nº 63, de 17 de outubro de 2014.

Estudos adicionais também são necessários para avaliar o comportamento de motoristas, cuja positividade para drogas sem a presença de álcool, foi maior que nos outros grupos estudados (passageiros e pedestres). Há que se confirmar se esse comportamento configura padrão que visa a não punição em abordagens policiais, haja vista que o álcool, por meio do uso de etilômetro, é a única droga pesquisada para comprovação de estados de embriaguez ao volante.

Conclusões

Em virtude das dificuldades encontradas durante a execução deste trabalho no que se refere à obtenção de informações precisas sobre os acidentes de trânsito ocorridos, sugere-se a criação de sistema de coleta de informações nos casos de acidentes de trânsito, onde possam ser inseridas informações como: data e hora do acidente, local, número e tipo de veículos envolvidos, classificação da(s) vítima(s) (motorista, passageiro ou pedestre), resultados dos exames toxicológicos, dentre outras.

Além disso, é preciso haver a criação de protocolo para a realização compulsória de coletas de amostras em vítimas hospitalizadas em razão de acidentes de trânsito, dada a reconhecida relação entre uso de drogas e risco aumentado de acidentes. A criação de tais protocolos pode se tornar um forte impedimento para dirigir sob o efeito de drogas e/ou drogas ilícitas e aumentando a capacidade dos tribunais para processar com sucesso motoristas nessa condição.

Em relação às leis em vigor, é notório que, embora o Brasil tenha, sistematicamente, reduzido os limites de alcoolemia até uma lei altamente restritiva com limite igual a zero (Lei nº 11.705, 2008) é notório que apenas modificações na lei não são suficientes. A queda no número de acidentes e mortes relacionadas ao consumo de álcool e/ou outras drogas está diretamente relacionada ao nível de fiscalização policial e à efetiva aplicação de punições aos motoristas infratores. Nesse sentido, a legislação brasileira é omissa quanto ao uso de drogas outras que não o álcool por motoristas. Conforme já relatado por Leyton et al. (2012), a legislação brasileira sequer define adequadamente quais drogas são proibidas, muito menos a que concentrações.

Para a fiscalização do uso de drogas ilícitas, sugere-se a formulação de leis do tipo *per se*, a exemplo do que ocorre em diversos países desenvolvidos que lidam há mais tempo com o problema de drogas e segurança no trânsito. Conforme já discutido anteriormente, nesse formato de lei não há a necessidade de provar, em tribunal, a incapacidade de motoristas em conduzir veículos automotores devido à presença de drogas. Mecanismos de tolerância tornam essa comprovação extremamente difícil. Em contrapartida, leis do tipo *per se*, tornam qualquer nível de droga detectado em ofensa passível de punições em esfera criminal.

Assim, é preciso que a legislação defina quais drogas deverão ser pesquisadas. Em um primeiro momento é possível que essa lista contenha apenas drogas ilícitas, pois ainda é preciso considerar a pesquisa de medicamentos

Conclusões

capazes de, da mesma forma que as drogas ilícitas, alterar a capacidade de direção de veículos automotores.

As concentrações das drogas apresentadas neste trabalho devem ser consideradas no estabelecimento de uma lei do tipo *per se*, ou mesmo no estabelecimento de limites (*cut-offs*) de concentrações a serem respeitados.

Finalmente e, talvez a mais importante questão a ser superada pelo Brasil no intuito de diminuir o risco de acidentes e o número de mortes causadas por motoristas sob o efeito de álcool e/ou drogas ilícitas é a necessidade de consentimento no fornecimento de amostras biológicas para a realização dos testes toxicológicos. Em conformidade com o ocorrido em países desenvolvidos, é preciso o estabelecimento do chamado consentimento implícito, no qual a concessão da licença de motorista implica no cumprimento de uma série de normas visando a segurança do coletivo em detrimento de direitos individuais, como o de se recusar a fornecer amostras para realização de exames toxicológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACAR, F. et al. A review of suspected cases of driving under the influence of drugs (DUID) involved in traffic accidents in Istanbul (Turkey). **Journal of forensic and legal medicine**, v. 20, n. 6, p. 626–31, ago. 2013.

ALVAREZ, F. J.; FIERRO, I.; DEL RÍO, M. C. Cannabis and driving: results from a general population survey. **Forensic science international**, v. 170, n. 2-3, p. 111–6, 6 ago. 2007.

ASBRIDGE, M.; HAYDEN, J. A; CARTWRIGHT, J. L. Acute cannabis consumption and motor vehicle collision risk: systematic review of observational studies and meta-analysis. **Bmj Clinical Research Edition**, v. 344, n. feb09 2, p. e536–e536, 9 fev. 2012.

AUGSBURGER, M. et al. Concentration of drugs in blood of suspected impaired drivers. **Forensic science international**, v. 153, n. 1, p. 11–5, 4 out. 2005.

AUGSBURGER, M.; RIVIER, L. Drugs and alcohol among suspected impaired drivers in Canton de Vaud (Switzerland). **Forensic Science International**, v. 85, n. 2, p. 95–104, 1997.

BACCHIERI, G.; BARROS, A. J. D. Traffic accidents in Brazil from 1998 to 2010: many changes and few effects. **Revista de saúde pública**, v. 45, n. 5, p. 949–63, out. 2011.

BBC BRASIL. Disponível em: < http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2013/06/130626_aumento_consumo_cocaina_gm.shtml>, Acesso em: 15 de agosto de 2013

BEHRENSDORFF, I.; STEENTOFT, A. Medicinal and illegal drugs among Danish car drivers. **Accident analysis and prevention**, v. 35, n. 6, p. 851–860, 2003.

BERNHOF, I. M. et al. Prevalence and risk of injury in Europe by driving with alcohol, illicit drugs and medicines.pdf. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**, n. 48, p. 2907–2916, 2012.

BLENCOWE, T. et al. Cannabis findings in drivers suspected of driving under the influence of drugs in Finland from 2006 to 2008. **Forensic science international**, v. 217, n. 1-3, p. 107–12, 10 abr. 2012.

BONI, R. DE et al. Regional differences associated with drinking and driving in Brazil. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 34, n. 3, p. 306–313, set. 2012.

BRASIL. Lei nº 9.503, de 23 de setembro de 1997. Institui o Código de Trânsito Brasileiro. Diário Oficial da União. 24 set. 1997.

BRASIL. Lei Nº 11.705, de 19 de junho de 2008. Altera a Lei nº 9.503, de 23 de setembro de 1997 que ‘institui o Código de Trânsito Brasileiro’, e a Lei nº 9.294, de 15 de julho de 1996, que dispõe sobre as restrições ao uso e à propaganda de produtos fumíferos, bebidas alcoólicas, medicamentos, terapias e defensivos

agrícolas, nos termos do § 4º do art. 220 da Constituição Federal, para inibir o consumo de bebida alcoólica por condutor de veículo automotor, e dá outras providências. Diário Oficial da União. 20 jun. 2008.

BRASIL. Resolução Nº 432, de 23 de janeiro de 2013. Dispõe sobre os procedimentos a serem adotados pelas autoridades de trânsito e seus agentes na fiscalização do consumo de álcool ou de outra substância psicoativa que determine dependência, para aplicação do disposto nos arts. 165, 276, 277 e 306 da Lei nº 9.503, de 23 de setembro de 1997 - Código de Trânsito Brasileiro (CTB). Diário Oficial da União. 29 jan. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Disponível em: <www.anvisa.org.br>, Acesso em: 26 de Janeiro de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 52, de 06 de outubro de 2011. Dispõe sobre a proibição do uso das substâncias anfepramona, femproporex e mazindol, seus sais e isômeros, bem como intermediários e medidas de controle da prescrição e dispensação de medicamentos que contenham a substância sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários e dá outras providências. Diário Oficial da União. 10 out. 2011.

BRASIL. Lei Nº 12.760, de 20 de dezembro de 2012. Altera a Lei nº 9.503, de 23 de setembro de 1997, que institui o Código de Trânsito Brasileiro. Diário Oficial da União. 12 dez. 2012.

BRASIL. Resolução Nº 63, de 17 de outubro de 2014. Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial, da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998 e dá outras providências. Diário Oficial da União. 20 out. 2014.

BREITENBACH, T. C. et al. High rates of injured motorcycle drivers in emergency rooms and the association with substance use in Porto Alegre, Brazil. **Emergency Medicine Journal**, v. 29, n. 3, p. 205–7, mar. 2011.

CARMEN DEL RÍO, M. et al. Alcohol, illicit drugs and medicinal drugs in fatally injured drivers in Spain between 1991 and 2000. **Forensic science international**, v. 127, n. 1-2, p. 63–70, 25 jun. 2002.

CARVALHO, M. et al. Toxicity of amphetamines: an update. **Archives of toxicology**, ago. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22392347>>.

COGNARD, E. et al. Analysis of cocaine and three of its metabolites in hair by gas chromatography-mass spectrometry using ion-trap detection for CI/MS/MS. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 826, n. 1-2, p. 17–25, 5 nov. 2005.

COMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. **White Paper - European transport policy for 2010: time to decide**BrusselOffice for Official Publications of the European Communities, 2001.

CONE, E. J.; HILLSGROVE, M.; DARWIN, W. D. Simultaneous measurement of cocaine, cocaethylene, their metabolites, and “crack” pyrolysis products by gas chromatography-mass spectrometry. **Clinical chemistry**, v. 40, n. 7 Pt 1, p. 1299–305, jul. 1994.

COUPER, F.J.; LOGAN, B.K. Drugs and human performance fact sheets. Washington, DC: **National Highway Traffic Safety Administration (NHTSA)**, 2004. Disponível em: <<http://www.nhtsa.gov/people/injury/research/job185drugs/technical-page.htm>>, Acesso em 16 de agosto de 2013.

DAS, A. et al. Alcohol, drugs, and road traffic crashes in India: a systematic review. **Traffic injury prevention**, v. 13, n. 6, p. 544–53, jan. 2012.

DPRF (Departamento de Polícia Rodoviária Federal) Disponível em: <<http://www.dprf.gov.br/PortalInternet/leiSeca.faces#faq12>>, Acesso em: 21 de junho de 2013.

DRUMMER, O. H. et al. The incidence of drugs in drivers killed in Australian road traffic crashes. **Forensic Science International**, v. 134, n. 2-3, p. 154–162, jul. 2003.

DRUMMER, O. H. et al. The involvement of drugs in drivers of motor vehicles killed in Australian road traffic crashes. **Accident; analysis and prevention**, v. 36, n. 2, p. 239–48, mar. 2004.

DRUMMER, O. H. Post-mortem toxicology. **Forensic science international**, v. 165, n. 2-3, p. 199–203, 17 jan. 2007.

DRUMMER, O. H. et al. The prevalence of drugs in injured drivers. **Forensic science international**, v. 215, n. 1-3, p. 14–7, 10 fev. 2012.

DUPONT, R. L. et al. The need for drugged driving per se laws: a commentary. **Traffic injury prevention**, v. 13, n. 1, p. 31–42, jan. 2012.

ELLIOTT, S.; WOOLACOTT, H.; BRAITHWAITE, R. The prevalence of drugs and alcohol found in road traffic fatalities: a comparative study of victims. **Science & Justice: Journal of the Forensic Science Society**, v. 49, n. 1, p. 19–23, mar. 2009.

FARRELL, L. J.; KERRIGAN, S.; LOGAN, B. K. Recommendations for toxicological investigation of drug impaired driving. **Journal of forensic sciences**, v. 52, n. 5, p. 1214–8, set. 2007.

FURR-HOLDEN, D. et al. Drug and alcohol-impaired driving among electronic music dance event attendees. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 85, n. 1, p. 83–86, 15 out. 2006.

GJERDE, H. et al. Alcohol, psychoactive drugs and fatal road traffic accidents in Norway: a case-control study. **AccidAnalPrev**, v. 43, n. 3, p. 1197–1203, maio 2011a.

GJERDE, H. et al. Prevalence of driving with blood drug concentrations above proposed new legal limits in Norway: estimations based on drug concentrations in oral fluid. **Forensic science international**, v. 210, n. 1-3, p. 221–7, 15 jul. 2011b.

GONÇALVES, P. D. et al. The association between low alcohol use and traffic risk behaviors among Brazilian college students. **Alcohol (Fayetteville, N.Y.)**, v. 46, n. 7, p. 673–9, nov. 2012.

GREEN, A. R. et al. The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, “ecstasy”). **Pharmacological reviews**, v. 55, n. 3, p. 463–508, set. 2003.

GROTENHERMEN, F. et al. Developing limits for driving under cannabis. **Addiction Abingdon England**, v. 102, n. 12, p. 1910–1917, dez. 2007.

GUSTAVSEN, I.; MØRLAND, J.; BRAMNESS, J. G. Impairment related to blood amphetamine and/or methamphetamine concentrations in suspected drugged drivers. **Accident; analysis and prevention**, v. 38, n. 3, p. 490–5, maio 2006.

HACKETT, A. M.; GARRISON, H. G.; REEDER, T. J. National highway traffic safety administration (NHTSA) notes. **Annals of Emergency Medicine**, v. 42, n. 6, p. 811–812, dez. 2003.

HOLMGREN, A. et al. High re-arrest rates among drug-impaired drivers despite zero-tolerance legislation. **Accident analysis and prevention**, v. 40, n. 2, p. 534–540, mar. 2008.

HOLMGREN, P.; HOLMGREN, A.; AHLNER, J. Alcohol and drugs in drivers fatally injured in traffic accidents in Sweden during the years 2000-2002. **Forensic science international**, v. 151, n. 1, p. 11–7, 30 jun. 2005.

IPEA (INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA, ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE TRANSPORTES PÚBLICOS). Impactos sociais e econômicos dos acidentes de trânsito nas rodovias brasileiras: relatório executivo. Brasília: IPEA/DENATRAN/ANTP, 2006.

JONES, A W.; HOLMGREN, A; KUGELBERG, F. C. Concentrations of scheduled prescription drugs in blood of impaired drivers: considerations for interpreting the results. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 29, n. 2, p. 248–260, 2007.

JONES, A W.; HOLMGREN, A; KUGELBERG, F. C. Concentrations of cocaine and its major metabolite benzoylecgonine in blood samples from apprehended drivers in Sweden. **Forensic Science International**, v. 177, n. 2-3, p. 133–139, 20 maio 2008a.

JONES, A. W. Driving under the influence of drugs in Sweden with zero concentration limits in blood for controlled substances. **Traffic Injury Prevention**, v. 6, n. 4, p. 317–322, dez. 2005.

JONES, A. W. et al. Five-year update on the occurrence of alcohol and other drugs in blood samples from drivers killed in road-traffic crashes in Sweden. **Forensic Science International**, v. 186, n. 1-3, p. 56–62, 15 abr. 2009.

JONES, A. W.; HARDING, P. Driving under the influence with blood alcohol concentrations over 0.4g%. **Forensic science international**, v. 231, n. 1-3, p. 349–53, 10 set. 2013.

JONES, A. W.; HOLMGREN, A. Amphetamine abuse in Sweden: subject demographics, changes in blood concentrations over time, and the types of coingested substances. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 33, n. 2, p. 248–52, abr. 2013.

JONES, A. W.; HOLMGREN, A.; KUGELBERG, F. C. Driving under the influence of cannabis: a 10-year study of age and gender differences in the concentrations of tetrahydrocannabinol in blood. **Addiction Abingdon England**, v. 103, n. 3, p. 452–461, mar. 2008b.

KARCH, S. B. **Postmortem Toxicology of Abused Drugs**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007. p. 216.

KHIABANI, H. Z. et al. Relationship between THC concentration in blood and impairment in apprehended drivers. **Traffic injury prevention**, v. 7, n. 2, p. 111–6, jun. 2006.

KUYPERS, K. P. C. et al. A case-control study estimating accident risk for alcohol, medicines and illegal drugs. **PLOS ONE**, v. 7, n. 8, p. e43496, jan. 2012.

LEGRAND, S.-A. et al. Prevalence of alcohol and other psychoactive substances in injured drivers: comparison between Belgium and The Netherlands. **Forensic science international**, v. 220, n. 1-3, p. 224–31, 10 jul. 2012.

LEYTON, V. et al. Amphetamine, cocaine and cannabinoids use among truck drivers on the roads in the State of Sao Paulo, Brazil. **Forensic Science International**, v. 215, n. 1-3, p. 25–7, 10 fev. 2012.

LIU, Y.-C.; HO, C. H. Effects of different blood alcohol concentrations and post-alcohol impairment on driving behavior and task performance. **Traffic injury prevention**, v. 11, n. 4, p. 334–41, ago. 2010.

LOGAN, B. K. et al. Recommendations for Toxicological Investigation of Drug-Impaired Driving and Motor Vehicle Fatalities. **Journal of analytical toxicology**, 13 ago. 2013.

MARÍN, L; QUEIROZ, M. S. A atualidade dos acidentes de trânsito na era da velocidade: uma visão geral Car accidents in the age of speed: an overview. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, n. 1, p. 7–21, 2000.

MARIOTTI, K. D. C. et al. **Trends in counterfeits amphetamine-type stimulants after its prohibition in Brazil.***Forensic science international*, 10 jun. 2013.

MARTIN, T. L. et al. A Review of Alcohol-Impaired Driving: The Role of Blood Alcohol Concentration and Complexity of the Driving Task. **Journal of forensic sciences**, 23 jul. 2013.

MARZUK, P. M. et al. Prevalence of recent cocaine use among motor vehicle fatalities in New York City. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 263, n. 2, p. 250–6, 12 jan. 1990.

MASON, M. F.; DUBOWSKI, K. M. Alcohol, traffic, and chemical testing in the United States: a résumé and some remaining problems. **Clinical chemistry**, v. 20, n. 2, p. 126–40, fev. 1974.

MCINTOSH, J.; O'BRIEN, T.; MCKEGANEY, N. Drug driving and the management of risk: the perspectives and practices of a sample of problem drug users. **The International journal on drug policy**, v. 19, n. 3, p. 248–254, jun. 2006.

MOELLER, M. R.; KRAEMER, T. Drugs of abuse monitoring in blood for control of driving under the influence of drugs. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 24, n. 2, p. 210–221, 2002.

MOVIG, K. L. L. et al. Psychoactive substance use and the risk of motor vehicle accidents. **Accident; analysis and prevention**, v. 36, n. 4, p. 631–6, jul. 2004.

MURA, P. et al. Comparison of the prevalence of alcohol, cannabis and other drugs between 900 injured drivers and 900 control subjects: results of a French collaborative study. **Forensic Science International**, v. 133, n. 1-2, p. 79–85, abr. 2003.

MURA, P. et al. Use of drugs of abuse in less than 30-year-old drivers killed in a road crash in France: a spectacular increase for cannabis, cocaine and amphetamines. **Forensic science international**, v. 160, n. 2-3, p. 168–72, 13 jul. 2006.

NCETA (National Center for Education and Training on Addiction) Consortium. Alcohol and Other Drugs: A Handbook for Health Professionals. Australian Government Department of Health and Ageing, 2004.

NHTSA (National Highway Traffic Safety Administration). Traffic safety facts. Drug involvement of fatally injured drivers, 2010. Disponível em: <<http://www-nrd.nhtsa.dot.gov/Pubs/811415.pdf>>, Acesso em 27 de maio de 2014.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª edição – São Paulo: Atheneu Editora, 2008. 677p.

OGDEN, E. J. D.; MOSKOWITZ, H. Effects of alcohol and other drugs on driver performance. **Traffic injury prevention**, v. 5, n. 3, p. 185–98, set. 2004.

OGDEN, E.; MORRIS, C. The relationship between responsibility for vehicle accident and presence of drugs in blood of injured drivers, 2010. In: DUPONT, R. L. et al. The need for drugged driving per se laws: a commentary. **Traffic injury prevention**, v. 13, n. 1, p. 31–42, jan. 2012.

OJANIEMI, K. K. et al. Trends in driving under the influence of drugs: a register-based study of DUID suspects during 1977-2007. **Accident; analysis and prevention**, v. 41, n. 1, p. 191–6, jan. 2009.

PALMENTIER, J.-P. F. P.; WARREN, R.; GORCZYNSKI, L. Y. **Alcohol and drugs in suspected impaired drivers in Ontario from 2001 to 2005**. **Journal of forensic and legal medicine**, nov. 2009.

PECHANISKY, F.; CHANDRAN, A. Why don't northern American solutions to drinking and driving work in southern America? **Addiction (Abingdon, England)**, v. 107, n. 7, p. 1201–6, jul. 2012.

PELIÇÃO, F. S. et al. A One-Step Extraction Procedure for the Screening of Cocaine, Amphetamines and Cannabinoids in Postmortem Blood Samples. **Journal of analytical toxicology**, n. 6, p. 1–8, 29 abr. 2014.

PETERS, F. T. et al. Concentrations and ratios of amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, and MDEA enantiomers determined in plasma samples from clinical toxicology and driving under the influence of drugs cases by GC-NICI-MS. **Journal of analytical toxicology**, v. 27, n. 8, p. 552–559, 2003.

PETERS, F. T.; DRUMMER, O. H.; MUSSHOF, F. Validation of new methods. **Forensic science international**, v. 165, n. 2-3, p. 216–24, 17 jan. 2007.

RAES, E.; VERSTRAETE, A. G. Usefulness of roadside urine drug screening in drivers suspected of driving under the influence of drugs (DUID). **Journal of analytical toxicology**, v. 29, n. 7, p. 632–6, out. 2005.

REISFIELD, G. M. et al. The mirage of impairing drug concentration thresholds: a rationale for zero tolerance per se driving under the influence of drugs laws. **Journal of analytical toxicology**, v. 36, n. 5, p. 353–6, jun. 2012.

ROMANO, E.; POLLINI, R. A. Patterns of drug use in fatal crashes. **Addiction (Abingdon, England)**, 22 abr. 2013.

SCHEIDWEILER, K. B. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methylecgonidine, a crack cocaine pyrolyzate. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 307, n. 3, p. 1179–87, dez. 2003.

SCHWILKE, E. W.; SAMPAIO DOS SANTOS, M. I.; LOGAN, B. K. Changing patterns of drug and alcohol use in fatally injured drivers in Washington State. **Journal of forensic sciences**, v. 51, n. 5, p. 1191–8, set. 2006.

SENN, M.-C. et al. First nationwide study on driving under the influence of drugs in Switzerland. **Forensic Science International**, v. 198, n. 1-3, p. 11–16, 20 maio 2010.

SMINK, B. E. et al. Driving under the influence of alcohol and/or drugs in the Netherlands 1995-1998 in view of the German and Belgian legislation. **Forensic Science International**, v. 120, n. 3, p. 195–203, 2001.

SOUZA, D. Z. et al. Determination of amphetamine-type stimulants in oral fluid by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 696, n. 1-2, p. 67–76, 24 jun. 2011.

STEENTOF, A.; SIMONSEN, K. W.; LINNET, K. The frequency of drugs among Danish drivers before and after the introduction of fixed concentration limits. **Traffic injury prevention**, v. 11, n. 4, p. 329–33, ago. 2010.

SUZUKI, O.; WATANABE, K. **Drugs and Poisons in Humans - A Handbook of Practical Analysis**. Hamamatsu: Springer, 2002. p. 653

SWEEDLER, B. M. et al. Worldwide trends in alcohol and drug impaired driving. **Traffic injury prevention**, v. 5, n. 3, p. 175–84, set. 2004.

TOENNES, S. W. et al. Driving under the influence of drugs - evaluation of analytical data of drugs in oral fluid, serum and urine, and correlation with impairment symptoms. **Forensic science international**, v. 152, n. 2-3, p. 149–55, 10 set. 2005.

UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime). **World Drug Report**. Vienna, 2012. 151p.

UNODC. (United Nations Office on Drugs and Crime). **World Drug Report**. Vienna, 2012. 112p.

VAEZ, M.; LAFLAMME, L. Impaired driving and motor vehicle crashes among Swedish youth: an investigation into drivers' sociodemographic characteristics. **Accident analysis and prevention**, v. 37, n. 4, p. 605–611, jul. 2005.

VEISTEN, K. et al. Is law enforcement of drug-impaired driving cost-efficient? An explorative study of a methodology for cost-benefit analysis. **The International journal on drug policy**, v. 24, n. 2, p. 122–34, mar. 2013.

VERSTRAETE, A. G. Oral fluid testing for driving under the influence of drugs: history, recent progress and remaining challenges. **Forensic science international**, v. 150, n. 2-3, p. 143–50, 10 jun. 2005.

WALSH, J. M. et al. Drugs and driving. **Traffic injury prevention**, v. 5, n. 3, p. 241–53, set. 2004.

WALSH, J. M. et al. Drug and alcohol use among drivers admitted to a Level-1 trauma center. **Accident analysis and prevention**, v. 37, n. 5, p. 894–901, set. 2005.

WALSH, J. M. et al. Guidelines for research on drugged driving. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 103, n. 8, p. 1258–68, ago. 2008.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Global Status Report on Road Safety - Time for Action**. Geneva, 2009.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Road Safety in 10 Countries**, 2010.

YONAMINE, M. et al. Detecting alcohol and illicit drugs in oral fluid samples collected from truck drivers in the state of São Paulo, Brazil. **Traffic injury prevention**, v. 14, n. 2, p. 127–31, jan. 2013.

ZANCANARO, I. et al. Prescription and illicit psychoactive drugs in oral fluid--LC-MS/MS method development and analysis of samples from Brazilian drivers. **Forensic science international**, v. 223, n. 1-3, p. 208–16, 30 nov. 2012.

ZWEIPFENNING, P. G. et al. Toxicological analysis of whole blood samples by means of Bond-Elut Certify columns and gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. **Journal of chromatography. A**, v. 674, n. 1-2, p. 87–95, jul. 1994.

Apêndice

7 APÊNDICE – Resultados quantitativos de todos os casos positivos para drogas ilícitas (n=70).

Caso	ANF	MET	ANFEP	FEMP	MDA	MDMA	MDEA	EMA	EME	COC	CE	THC	COOHTHC
17	-	-	-	-	-	-	-	-	610,86	15,97	24,65	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	55,39	36,89	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	49,22	11,3	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	52,62	46,92	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	97,75	21,67	17,73	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	294,36	27,99	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	17,84	12,82	-	-	-
54	26,3	120,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,37	144,44
64	-	< 10,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-	-	< 5,0	526,76	653,86	17,45	-	-
86	-	-	-	-	-	-	-	-	67,59	< 10,0	-	-	-
89	-	-	-	-	-	-	-	< 5,0	58,69	31,92	-	-	-
99	67,15	-	-	12,87	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	< 10,0	< 10,0	-	-	-	-	-	-	-
103	-	-	-	-	-	-	-	< 5,0	137,78	127,58	28,47	-	-
109	-	-	-	-	-	-	-	-	18,22	11,44	-	-	-
111	-	-	-	-	33,31	-	-	-	-	-	-	-	-
114	-	-	-	-	-	-	-	-	38,16	20,09	-	-	-

Caso	ANF	MET	ANFEP	FEMP	MDA	MDMA	MDEA	EMA	EME	COC	CE	THC	COOHTHC
115	70,77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
116	60,44	-	-	158,53		-	-	-	-	-	-	-	-
118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	49,83
133	-	-	-	-	-	-	-	-	451,17	81,39	25,73	-	-
135	-	-	-	-	-	-	-	-	512,63	26,45	21,88	-	-
139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< 10,0	87,16
140	-	-	-	12,34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
142	-	< 10,0	-	-	-	-	-	< 5,0	13,15	< 10,0	-	-	20,23
143	-	-	-	15,24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	-	-	-	22,15	-	-	-	-
154	-	-	-	-	-	-	-	-	73,09	13,18	33,72	-	-
156	-	-	-	-	-	-	-	-	466,78	121,6	54,64	-	-
159	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< 10,0	116,95
161	-	-	-	-	-	-	-	-	43,5	27,18	-	< 10,0	88,63
162	-	-	-	-	-	-	-	-	35,93	12,44	46,05	-	-
173	-	-	36,48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
179	-	-	-	-	-	-	-	-	27,32	< 10	12,18	-	-
185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,76	37,92
188	-	-	-	-	-	-	-	-	61,69	< 10	-	-	-

Caso	ANF	MET	ANFEP	FEMP	MDA	MDMA	MDEA	EMA	EME	COC	CE	THC	COOHTHC
196	-	-	-	-	-	-	-	< 5	202,63	125,34	12,23	-	-
197	-	-	-	-	-	-	-	-	177,69	70	< 10	-	-
208	-	-	-	-	-	-	-	-	127,00	85,70	52,60	-	-
238	13,37	-	-	41,29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
248	-	-	-	-	-	-	-	-	16,30	-	-	-	-
249	-	-	-	-	-	-	-	-	66,09	18,35	-	-	36,22
266	-	-	-	-	331,4	1069,03	-	-	-	-	-	13,11	99,25
272	-	-	-	-	-	-	-	11,23	105,32	71,42	< 10,0	-	-
275	-	-	-	-	-	-	-	-	20,2	-	-	-	-
281	-	-	-	-	-	-	-	13,24	97,4	11,51	< 10,0	-	-
302	-	-	-	14,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
307	-	-	-	-	-	-	-	< 10	119,71	< 10	31,15	-	-
310	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70,29
312	-	-	-	-	-	-	-	-	137,56	-	-	-	-
317	-	-	-	-	-	-	-	-	723,46	176,66	334,07	-	-
319	-	-	-	-	-	-	-	25,36	897,35	32,09	18,82	-	-
331	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14,89
334	-	-	-	-	-	-	-	-	14,59	< 10,0	-	-	-
336	-	-	-	-	-	-	-	-	51,71	-	-	-	-

[illegible]

Anexo

8 ANEXOS

8.1 ANEXO 1 – CÓPIA DA APROVAÇÃO EM COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 10 de dezembro de 2009.

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof^a. Maria da Graça Corrêa de Faria
Pesquisadora Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: "**Avaliação da presença de substâncias psicoativas em diferentes materiais biológicos colhidos de vítimas fatais de acidentes de trânsito nas regiões metropolitanas de Vitória-ES e Ribeirão Preto-SP**".

Senhora Pesquisadora,

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. 129/09 intitulado: "**Avaliação da presença de substâncias psicoativas em diferentes materiais biológicos colhidos de vítimas fatais de acidentes de trânsito nas regiões metropolitanas de Vitória-ES e Ribeirão Preto-SP**" e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 09 de dezembro de 2009.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra "c".

Atenciosamente,

Prof.^a Dr.^a Ethel Leonor Noia Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFS

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde
Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe – Vitória – ES – CEP 29.040-091.
Telefax: (27) 3335 7504