UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

Aplicação da análise multivariada para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo

Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Mauricio Yonamine

São Paulo
2018

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

Aplicação da análise multivariada para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo

Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

Versão corrigida da Tese conforme resolução CoPGr 6018.

Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Mauricio Yonamine

São Paulo
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletronico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

F825a Franco de Oliveira, Sarah Carobini Werner de Souza Eller
Aplicação da análise multivariada para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo / Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira. - São Paulo, 2018.
246 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Yonamine, Mauricio

1. Toxicologia Clínica. 2. Análise Multivariada. 3. Métodos multi-analitos. 4. Centro de Controle de Intoxicações. I. T. II. Yonamine, Mauricio , orientador.

Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

Aplicação da análise multivariada para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo

Comissão Julgadora da Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Prof. Dr. Mauricio Yonamine
Orientador/presidente

Dr. Valdemir Melechco Carvalho
1º examinador

Dr. Eryberto Steves Tabosa do Egito
2º examinador

Dr. Raphael Caio Tamborelli Garcia
3º examinador

Dra. Karina Helena Morais Cardozo
4º examinador

São Paulo, 17 de maio de 2018.

APOIO FINANCEIRO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Processo nº 2014/-5877-0, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Processo nº 401352/2016-1, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; Auxílio, Edital Universal).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir a realização desse sonho e por sempre me acompanhar ao longo da minha vida.

Aos meus pais, Henrique e Emília, e aos meus irmãos, Otto e Dimitria, que sempre se fizeram presentes na minha vida mesmo com a distância. Obrigada por todo amor, apoio e por entenderem minha ausência em momentos tão importantes das nossas vidas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Mauricio Yonamine, por toda dedicação e orientação na execução desse trabalho e principalmente pela confiança em mim depositada durante todos esses anos de convívio.

Ao meu amado esposo Tiago que participou ativamente para a realização desse sonho. Obrigada pelo companheirismo, incentivo, conselhos, ensinamentos, pelas figuras incomparáveis, pelas discussões toxicológicas e analíticas. Obrigada por todo amor, carinho e dedicação. Te amo.

Às ToxGirls (Ana Miguel, Flávia, Gabriela, Margarita e Idylla) pelas risadas, companheirismo, parcerias científicas, mas acima de tudo pela amizade construída durante esses anos. Nossas histórias não param por aqui.

Ao meu amigo Valker, obrigada pelo carinho e amizade e por estar sempre presente na minha caminhada com conselhos e incentivo.

Aos amigos e parceiros de laboratório por transformar a rotina agradável e prazerosa.

A todos os amigos da Pós-graduação da USP, por todos momentos que dividimos e pelo ótimo convivência durante o curso.

A equipe do Centro de Controle de Intoxicações de São Paulo, em especial a Dra. Lígia Frunchengarten, Edna Hernandez, Carolina Dizioli e Alexandre Zucoloto pela colaboração e parceria durante todos esses anos. A participação de vocês foi fundamental para a realização desse trabalho.

Ao Centro de Estatística Aplicada – IME/USP, representado pelas professoras Lucia Barroso e Alessandra Guerrero e aos alunos Bruno e Emmanuele pela colaboração estatística.

À Dra. Flavia Neri pela valiosa contribuição estatística e pela elaboração dos cálculos da análise multivariada

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudo processo nº 2014/05877-0, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo auxílio financeiro.

À Shimadzu do Brasil pelo acesso ao equipamento de UHPLC-ESI-MS/M.

Ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – SUP pela oportunidade de realizar o doutorado.

A todos os voluntários da pesquisa, que foram essenciais para a realização da mesma.

À querida Samantha, secretária do Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, por toda atenção e disponibilidade em sempre nos ajudar.

Aos amigos do LAT e principalmente a Beatriz pela companhia e ajuda em vários momentos ao longo de todos esses anos.

Aos todos os funcionários do 13B obrigada pela dedicação, em especial a Dona Luiza e ao Ângelo que tenho um carinho imenso.

Aos inúmeros amigos e familiares que partilharam comigo alegrias e tristezas e que nunca deixaram a amizade de lado mesmo com a distância entre nós.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

“A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las”

Aristóteles

RESUMO

FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. S. E. **Aplicação da análise multivariada para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo.** 2018. 246 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A Toxicologia tem desempenhado um importante papel na identificação de efeitos nocivos à população, gerando subsídios para a tomada de decisões na prática clínica, auxiliando desta forma no bom prognóstico de pacientes intoxicados. De acordo com a *Pan American Health Organization*, o sucesso em qualquer intervenção em saúde somente pode ser obtido com a criação e manutenção de um banco de dados confiável, que seja capaz de predizer as diversas particularidades das intoxicações, como a população-alvo e suas suscetibilidades. Assim, recomenda-se que médicos, especialistas, legisladores e administradores em saúde adotem em sua rotina uma coleta de dados sistêmica e integrada para o mapeamento e caracterização das intoxicações. Neste cenário, técnicas de análises multivariadas poderiam ser empregadas para evidenciar possíveis intercorrelações; entretanto, seu uso ainda não é comum na toxicologia clínica. Neste trabalho foram identificados e quantificados agentes exógenos em amostras biológicas (sangue e urina) provenientes do Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo, correlacionando os dados obtidos dessas análises com o perfil clínico e prognóstico dos pacientes. Fármacos benzodiazepínicos, antidepressivos, anticonvulsivantes, paracetamol, drogas de abuso e praguicidas foram selecionados de acordo com a incidência reportada por esse centro no período de 2013 a 2014. Do total de amostras analisadas (n = 320), 192 foram positivas para alguma substância, sendo 101 positivas para etanol e 131 positivas para as demais substâncias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de correspondência múltipla e análise hierárquica de *cluster*. A partir da análise multivariada foi possível agrupar os indivíduos em 3 *clusters*, o que correspondeu a 66,5% do total de informações. No primeiro eixo houve a separação dos pacientes do gênero feminino, que se intoxicaram ou foram expostos a medicamentos e drogas de abuso, por tentativa de suicídio, dos pacientes do gênero masculino, de idade entre 30 a 39 anos, que se intoxicaram com drogas de abuso. No segundo eixo fatorial foram agrupados os pacientes que se intoxicaram com etanol isoladamente, juntamente com pacientes que se intoxicaram com diazepam. Este trabalho contribuiu para o mapeamento dos casos de intoxicação atendidos pelo CCI-SP e foi um estudo inicial para a criação de um banco de dados que poderá ser alimentado constantemente e assim, oferecer ao sistema de toxicovigilância uma base para políticas educativas.

Palavras-chave: Toxicologia clínica, análises multivariadas, métodos multi-analitos, Centro de Controle de Intoxicações.

ABSTRACT

FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. S. E. **Application of multivariate analysis for the mapping of acute intoxication cases attended in Poison Control Center of the São Paulo city.** 2018. 246 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Toxicology has played an important role in the identification of harmful effects to the population, generating subsidies for decision making in clinical practice, helping in this way the good prognosis of acutely intoxicated patients. According to the Pan American Health Organization, success in any health intervention can only be achieved by creating and maintaining a reliable database that is capable of predicting the various characteristics of intoxications, such as the target population and their susceptibilities. Thus, it is recommended that doctors, specialists, legislators and health administrators adopt in their routine a systemic and integrated data collection for the mapping and characterization of intoxications. In this scenario, multivariate analysis techniques could be used to evidence possible intercorrelations; however, its use is not yet common in clinical toxicology. In this work, were identified and quantified exogenous agents in biological samples (blood and urine) from the Poison Control Center São Paulo city, correlating the data obtained from these analyzes with the clinical and prognostic profile of the patients. Benzodiazepines, antidepressants, anticonvulsants, acetaminophen, drugs of abuse and pesticides were selected according to the incidence reported by this center in the period from 2013 to 2014. Of the total number of samples analyzed (n = 320), 192 samples have shown to be positive for some of the analytes, from these 100 were positive for ethanol and 131 positive for other substances. The data were submitted to multiple correspondence analysis and hierarchical cluster analysis. From the multivariate analysis it was possible to group the individuals into 3 clusters, which corresponded to 66.5% of the total information. In the first axis, the patients were separated from the female gender, who were intoxicated or were exposed to drugs and suicide attempt of the male patients, aged between 30 and 39 years, who became intoxicated with drugs of abuse. In the second factorial axis were grouped the patients who were intoxicated with ethanol, together with patients who became intoxicated with diazepam. This work contributed to the mapping of intoxication cases attended by the CCI-SP and was a initial study for the creation of a database that could be fed constantly and thus provide the toxicovigilance system with a basis for educational policies.

Keywords: Clinical toxicology, multivariate analysis, multi-analyte methods, Poison Control Center.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de variância
AEME	Anidroecgonina metil éster
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATC	Antidepressivos tricíclicos
ATS	Estimulantes do tipo das anfetaminas, do inglês: *amphetamine-type stimulants*
BCA	Concentração de álcool no sangue, do inglês: *blood alcohol concentration*
BZD	Benzodiazepínicos
CA	Controle alto
CB	Controle baixo
CBZ	Carbamazepina
CCA	Análise de Correlação Canônica, do inglês: *Canonical Correlation Analysis*
CCI	Centro de Controle de Intoxicações
CEBRID	Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas
CM	Controle médio
CISA	Centro de Informações sobre Saúde e Álcool
CPs	Componentes principais
CV	Coeficiente de variação
EPA	Agência de Proteção Ambiental, do inglês: *Environmental*

	Protection Agency
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GC-FID	Cromatografia gasosa com detector de ionização por chama, do inglês: *gas chromatography-flame ionization detector*
GC-NPD	Cromatografia gasosa com detector de nitrogênio-fósforo, do inglês: *gas chromatography-nitrogen phosphorus detector*
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, do inglês: *gas chromatography-mass spectrometry*
HCA	Análise hierárquica de cluster, do *inglês Hierarchical Cluster Analysis*
HMARS	Hospital Municipal Dr. Arthur Ribeiro de Saboya
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês: *high performance liquid chromatography*
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos, do inglês: *high performance liquid chromatography-diode array detector*
IS	Padrão interno, do inglês: *internal standard*
ISRS	Inibidores seletivos da receptação da serotonina
LAT-USP	Laboratório de Análises Toxicológicas da Universidade de São Paulo
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês: *liquid-liquid extraction*
LOD	Limite de detecção, do inglês: *limit of detection*
LOQ	Limite de quantificação, do inglês: *limit of quantification*
LLOQ	Menor limite de quantificação, do inglês: *lower limit of quantitation*

MCA	Análise de correspondência múltipla, do inglês: *multiple correspondence analysis*
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
ME	Efeito matriz, do inglês: *matrix effect*
MLRA	Análise de regressão logística múltipla, do inglês: *multiple regression logistic analysis*
MRM	Monitoramente de reações múltiplas, do inglês: *multiple reaction monitoring*
NAPQI	N-acetil-para-benzoquinona imina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCA	Análise de componentes principais, do inglês: *Principal Component Analysis*
ROS	Espécies reativas de oxigênio, do inglês: *reactive oxygen species*
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês: *relative standard deviation*
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SNC	Sistema Nervoso Central
SNGPC	Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados
SPE	Extração em fase sólida, do inglês: *solid-phase extraction*
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UNODC	*United Nations Office on Drugs and Crime*
UHPLC-ESI-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial, do inglês: ultra *high performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de biotransformação e toxicidade do paracetamol. NAPQI: N-acetil-para-benzoquinona imina; GHS: glutationa; GlcA: ácido glicurônico; ROS: espécies reativas de oxigênio. 31

Figura 2. Estruturas químicas e principais vias de biotransformação dos benzodiazepínicos. NAT2: N-acetiltransferase2. 34

Figura 3. Estrutura química dos antidepressivos estudados. 365

Figura 4. Estrutura química dos fármacos anticonvulsivantes. 39

Figura 5. Mecanismo de formação do cocaetileno (pelo consumo concomitante de etanol e cocaína) e da anidroecgonina metil éster (pirólise da cocaína). 45

Figura 6. Estruturas químicas dos estimulantes do tipo das anfetaminas (ATS). 47

Figura 7. Mecanismo de biotransformação dos opiáceos. 49

Figura 8. Estrutura dos praguicidas carbamatos aldicarbe e carbofuran. 51

Figura 9. Exemplo de dendrograma da análise hierárquica, com base na distância entre grupos. 77

Figura 10. Cromatograma obtido com a análise por *headspace* e GC-FID de sangue adicionado de metanol (1; 1,59 min) e etanol (2; 2,36 min) na concentração de 2 $g.L^{-1}$. IS, padrão interno n-propanol (6,20 min). 80

Figura 11. Linearidade do método de determinação de etanol em sangue na faixa de concentração de 0 a 5 $g.L^{-1}$. 81

Figura 12. Linearidade do método de determinação de metanol em sangue na faixa de concentração de 0 a 5 $g.L^{-1}$. 82

Figura 13. Resultados das análises de etanol em sangue, sendo 68% considerada negativa e 32% positiva. Dentre as amostras positivas, 78 apresentaram alcoolemia superior a 0,5 $g.L^{-1}$. 84

Figura 14. Análise de paracetamol por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 4 $\mu g.mL^{-1}$ do fármaco e 10 $\mu g.mL^{-1}$ de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos. Tempo de Retenção: paracetamol (12 min); e IS, difenilamina (45 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm. 86

Figura 15. Análise de benzodiazepínicos por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 0,8 $\mu g.mL^{-1}$ de cada fármaco e 10 $\mu g.mL^{-1}$ de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos. Tempo de Retenção: 1, bromazepam (26,6 min); 2, clonazepam (32,7 min); 3, alprazolam (35,8 min); 4, oxazepam (36,3 min); 5,

nordiazepam (38,2 min); 6, diazepam (41,1 min); e IS, difenilamina (45 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm..... 87

Figura 16. Análise de antidepressivos por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 0,8 μg.mL^{-1} de cada fármaco e 10 μg.mL^{-1} de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos. Tempo de Retenção: 1, paroxetina (24.9 min); 2, imipramina (25,1 min); 3, desipramina (25,7 min); 4, amitriptilina (26,1 min); 5, nortriptilina (26,9 min); 6, fluoxetina (28,4 min); sertralina (29,1 min); e IS, difenilamina (45 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm..... 88

Figura 17. Análise de anticonvulsivantes por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 4 μg.mL^{-1} de carbamazepina; 20 μg.mL^{-1} de fenitoína e fenobarbital, e 10 μg.mL^{-1} de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos. Tempo de Retenção: 1, fenobarbital (23,8 min); 2, fenitoína (29,9 min); 3, carbamazepina (31,7 min); e IS, difenilamina (45 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm..... 89

Figura 18. Análise de drogas de abuso por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 0,4 μg.mL^{-1} de cada analito e 10 μg.mL^{-1} de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos. Tempo de Retenção: 1, cocaína (15,1 min); 2, cocaetileno (16,8 min); e IS, difenilamina (45 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm..... 90

Figura 19. Cromatograma da análise por HPLC-DAD de uma amostra de sangue adicionada com 4 μg.mL^{-1} de paracetamol; 0,8 μg.mL^{-1} de cada fármaco benzodiazepínico e antidepressivo; 4 μg.mL^{-1} de carbamazepina; 20 μg.mL^{-1} de fenitoína e fenobarbital; 0, 4 μg.mL^{-1} de cocaína e cocaetileno de acordo com descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos. Analitos: 1, paracetamol; 2, cocaína; 3, cocaetileno; 4, fenobarbital; 5, paroxetina; 6, imipramina; 7, desipramina; 8, amitriptilina; 9, nortriptilina; 10, fluoxetina; 11, bromazepam; 12, sertralina; 13, fenitoína; 14, carbamazepina; 15, clonazepam; 16, alprazolam; 17, oxazepam; 18, nordiazepam; 19, diazepam; IS, padrão interno difenilamina. 91

Figura 20. Análise de praguicidas por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 2 μg.mL^{-1} de cada analito e 10 μg.mL^{-1} de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 247 nm para o aldicarbe e 280 nm para o carbofuran e IS com a aplicação do método descrito no item 3.2.3 de Material e Métodos. Tempo de Retenção: 1, aldicarbe (6,3 min); 2, carbofuran (7,7 min); e IS, difenilamina (12,1 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm. 101

Figura 21. Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item 3.2.4 de Material e Métodos. 117

Figura 22. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias da classe drogas de

abuso na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item 3.2.4 de Material e Métodos. BE, benzoilecgonina. 124

Figura 23. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias paracetamol, aldicarbe, carbamazepina e carbofuran nas concentrações do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item 3.2.4 de Material e Métodos. 124

Figura 24. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias paracetamol, aldicarbe, carbamazepina e carbofuran nas concentrações do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item 3.2.4 de Material e Métodos. 125

Figura 25. Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo negativo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item 3.2.4 de Material e Métodos. 125

Figura 26. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo negativo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias fenobarbital, fenitoína, ácido valpróico e THC-COOH nas concentrações do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item 3.2.4 de Material e Métodos. 126

Figura 27. Análise estatística comparativa das concentrações teóricas e reais para avaliar a extrapolação da concentração sanguinea para plasmática utilizando a equação (2)..... 139

Figura 28. Frequência dos pacientes por gênero (A) e frequência da idade dos pacientes (B) por faixa etária. 161

Figura 29. Distribuição dos casos de acordo com o tipo de ocorrência (A), onde 1, é intoxicação; 2, exposição; 3, reação adversa; 4, diagnóstico diferencial; 5, outro. Em B é demonstrado a distribuição dos atendimentos de acordo com a circunstância da exposição, sendo 1, acidente individual; 2, acidente coletivo; 5, uso terapêutico; 7, erro administração; 8, automedicação; 10, abuso; 12, tentativa de suicídio; 14, violência/homicídio; 88, outra; 99, ignorada; D.A., dado ausente. 163

Figura 30. Distribuição dos atendimentos de acordo com a via de exposição à substância (A), onde 1, oral; 3, respiratória; 5, nasal; 88, outra; 99, ignorada; D.A., dado ausente. Em B, é descrito os casos de acordo com o tipo de exposição, podendo ser do tipo 1, aguda única; 2, aguda repetida; 3, crônica; 4, aguda sobre crônica; 99, ignorada. 163

Figura 31. Distribuição dos atendimentos de acordo com o grupo do agente tóxico, onde 1, medicamentos; 2, agrotóxicos (uso agrícola); 5, raticidas; 6, saneantes domésticos; 8, produtos químicos industriais; 10, drogas de abuso; 11, plantas; 12, alimentos; 88, outra; 99, ignorada; D.A., dado ausente. 164

Figura 32. Distribuição dos atendimentos de acordo com o a evolução do caso (A), onde 1, cura; 2, cura não confirmada; 4, óbito; 5, óbito outra causa; 88, outra; 99, ignorada. Em B, é descrito a distribuição dos casos de acordo com sua avaliação final, sendo 1, não tóxico; 2, provavelmente não tóxico; 3, intoxicação não excluída; 4, intoxicação leve; 5, intoxicação moderada; 6, intoxicação grave..... 165

Figura 33. Tratamento empregado durante o atendimento ao paciente. D.A., dado ausente. 166

Figura 34. Frequência dos pacientes que usam alguma substância (amostras positivas na triagem por HPLC-DAD de acordo com o método descrito no item 3.2.2 de Material e Métodos) distribuídos de acordo com a classe e com níveis de concentração (tóxico e não tóxico). 167

Figura 35. Frequência das manifestações apresentadas pelos pacientes..... 169

Figura 36. Relação entre as variáveis agente tóxico e avaliação..... 170

Figura 37. Relação entre as variáveis agente tóxico e circunstância..... 170

Figura 38. Relação entre as variáveis circunstância e avaliação..... 171

Figura 39. Dendrograma de Análise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando todas as variáveis estudadas, separando em 3 e 15 *clusters* 179

Figura 40. Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla (MCA) de todas as variáveis com 3 *clusters*. 185

Figura 41. Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla (MCA) resumida de todas as variáveis com 15 *clusters*..... 186

Figura 42. Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla (MCA) detalhada de todas as variáveis com 15 *clusters*..... 186

Figura 43. Representação gráfica da Análise de Componentes Principais (PCA) com 13 *clusters*..... 190

Figura 44. Dendrograma da Analise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando as variáveis estudadas, separando em 2 e 13 *clusters*. 191

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Analitos estudados em cada método de análise separados por classes de substâncias. 66

Tabela 2. Descrição do modo de ionização, íon precursor, qualificador e quantificadores dos métodos por UHPLC-ESI-MS/MS. 69

Tabela 3. Coeficientes de variação correspondentes às precisões intra e inter-dia obtidos com a aplicação do método proposto para determinação de álcoois em sangue. 82

Tabela 4. Exatidão do método proposto para determinação de álcoois em sangue. 83

Tabela 5. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método para determinação de substâncias em sangue. 92

Tabela 6. Equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos elencados no estudo. 94

Tabela 7. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia dos fármacos anticonvulsivantes e do paracetamol. 95

Tabela 8. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia dos fármacos benzodiazepínicos e antidepressivos. 96

Tabela 9. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia da cocaína e cocaetileno. 96

Tabela 10. Exatidão obtida com a determinação de anticonvulsivantes e paracetamol. 97

Tabela 11. Exatidão obtida com a determinação de benzodiazepínicos e antidepressivos. 98

Tabela 12. Exatidão obtida com a determinação de cocaína e cocaetileno. 98

Tabela 13. Integridade de diluição das amostras. 99

Tabela 14. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia dos praguicidas. 102

Tabela 15. Exatidão obtida com a determinação de praguicidas em sangue..... 103

Tabela 16. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método de *screening* em urina..... 105

Tabela 17. Intervalos de concentração, equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos elencados no método de *screening* em urina. 107

Tabela 18. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método de *screening* em urina para todos os analitos avaliados. 110

Tabela 19. Valores de coeficientes de variação (CV %) referentes ao efeito matriz do método de *screening* em urina..... 115

Tabela 20. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método proposto para análise confirmatória em sangue. 128

Tabela 21. Equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos com a aplicação do método confirmatório em sangue..... 130

Tabela 22. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método confirmatório em sangue para todos os analitos avaliados. 132

Tabela 23. Valores de coeficientes de variação (CV %) referentes ao efeito matriz do método confirmatório em sangue..... 136

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho. 140

Tabela 25. Valores de *cut off* para substâncias em amostras de urina de acordo com o DHHS (*Department of Health and Human Services*). 160

Tabela 26. Descrição das variáveis de acordo com a Ficha de Atendimento Hospitalar..... 162

Tabela 27. Concentrações plasmáticas terapêuticas e tóxicas das substâncias exógenas. 168

Tabela 28. Análise descritiva de frequência das variáveis contínuas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave)..... 172

Tabela 29. Análise descritiva de frequência das variáveis categóricas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave)..... 173

Tabela 30. Coeficientes do modelo por variável explicativa, estimada por *Likelihood*. 175

Tabela 31. Estimativa "*Odds ratio*" da Regressão Logística Múltipla (95% de intervalo de confiança). 176

Tabela 32. Descrição das variáveis importantes obtida pela HCA, considerando a divisão em 3 *clusters*. 183

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 27

1.1 Toxicologia Clínica e Centros de Controle de Intoxicação 28

1.2 Agentes exógenos comumente encontrados na prática clínica 29

1.3 Métodos analíticos 53

1.4 Análise estatística multivariada 55

2 OBJETIVO 59

3 MATERIAL E MÉTODOS 62

3.1 Material 62

3.1.1 Reagentes 62

3.1.2. Padrões 62

3.1.3 Equipamentos 63

3.1.3.1 Equipamentos básicos 63

3.1.3.2 GC-FID 63

3.1.3.3 HPLC–DAD 63

3.1.3.4 UHPLC-ESI-MS/MS 64

3.1.4 Amostras 64

3.1.5 Analitos 65

3.2 Métodos 67

3.2.1 Determinação de álcoois em sangue 67

3.2.2 Determinação de substâncias em sangue por HPLC-DAD 67

3.2.3 Determinação de praguicidas em sangue por HPLC-DAD 68

3.2.4 Método de screening em urina por UHPLC-ESI-MS/MS 68

3.2.5 Análises confirmatórias em sangue por UHPLC-ESI-MS/MS 69

3.2.6 Validação dos Métodos 71

3.2.7 Análise comparativa entre as concentrações sanguínea e plasmática 75

3.2.8 Análise dos dados 75

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 80

(*i*) Resultados do desenvolvimento analítico 80

4.1 Determinação de álcoois em sangue 80

4.1.1 Resultados da validação do método 81

4.1.1.1 Limites de detecção e quantificação 81

4.1.1.2 Linearidade 81

4.1.1.3 Precisão intra e inter-dia 82

4.1.1.4 Exatidão 82

4.1.1.5 Estudo da estabilidade do analito na matriz 83

4.1.2 Resultados da análise das amostras 83

4.2 Determinação de substâncias em sangue por HPLC-DAD 84

4.2.1 Resultados da validação do método 101

4.2.1.1 Menor limite de quantificação 91

4.2.1.2 Linearidade 92

4.2.1.3 Precisão intra e inter-dia 94

4.2.1.4 Exatidão 97

4.2.1.5 Integridade de diluição das amostras 99

4.3 Determinação de praguicidas em sangue por HPLC-DAD 100

4.3.1 Resultados da validação do método 101

4.3.1.1 Menor limite de quantificação 101

4.3.1.2 Linearidade 102

4.3.1.3 Precisão intra e inter-ensaio 102

4.3.1.4 Exatidão 102

4.4 Método de *screening* em urina por UHPLC-ESI-MS/MS 104

4.4.1 Resultados da validação do método 105

4.4.1.1 Menor limite de quantificação (LLOQ) e seletividade 105

4.4.1.2 Linearidade 107

4.4.1.3 Precisão intra e inter-dia e exatidão do método 109

4.4.1.4 Integridade de diluição das amostras 114

4.4.1.5 Efeito matriz 114

4.5 Análise confirmatória em sangue por UHPLC-ESI-MS/MS 127

4.5.1 Resultados da validação do método 127

4.5.1.1 Menor limite de quantificação e seletividade 127

4.5.1.2 Linearidade 129

4.5.1.3 Precisão intra e inter-dia e exatidão do método 131

4.5.1.4 Efeito matriz 136

4.6 Análise comparativa entre as concentrações sanguínea e plasmática 138

4.7 Análise comparativa dos resultados obtidos das análises de sangue e urina pelos métodos desenvolvidos 139

(*ii*) Resultados da aplicação clínica e análise de dados 160

4.8 Resultados da análise das amostras 160

5 CONCLUSÃO 196

REFERÊNCIAS 198

APÊNDICES 217

APÊNDICE A 218

Tabela de contingência da frequência de dados 218

ANEXOS 222

ANEXO I 223

Paracer nº 018 aprovado pela Comissão de Ética do Hospital Municipal Dr Arthur Ribeiro de Saboya 223

ANEXO II 225

Paracer nº 902.088 aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo 225

ANEXO III 228

Ficha de Atendimento Hospitalar 228

ANEXO IV 231
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 231
ANEXO V 235
Ficha do Aluno 235
ANEXO VI 238
Curriculum Vitae 238

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As informações em saúde devem ser embasadas em dados e registros cuja segurança e confiabilidade sejam garantidas e que sirvam de base para traçar estratégias educativas e sociais na prevenção das intoxicações. Nesse complexo cenário, a intoxicação exógena pode ser definida como o desfecho patológico pelo contato, voluntário ou acidental de xenobióticos com o organismo. Esta manifestação é reconhecida pelo desequilíbrio fisiológico em consequência de alterações bioquímicas, que podem ser evidenciados por sinais e sintomas ou mediante as análises laboratoriais (AMARAL; HERNANDEZ, 2014). Apesar da obrigatoriedade da notificação compulsória dos casos de intoxicações exógenas no Brasil (BRASIL, 2014), dados estatísticos sólidos e de ampla cobertura ainda são raros; entretanto, nota-se que a intoxicação aguda representa um importante problema de saúde pública.

Analisando o banco de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) é possível identificar 410.739 registros de casos de intoxicação humana por agentes exógenos em todos os estados da federação somente no período de 2014 – 2017. Os agentes responsáveis pelo maior número de registros são os medicamentos (173.393; 42,2%) e as drogas de abuso (52.936; 12,9%), ainda, com ingestão proposital (automedicação, tentativa de suicídio e abuso) e acidental (51,7% e 19,4 %, respectivamente) (SINAN, 2018).

Qualquer paciente com suspeita de intoxicação assistido no cotidiano dos atendimentos de emergência deve ser tratado com prioridade, uma vez que sua condição clínica possui a capacidade intrínseca de progredir rapidamente para um estado grave ou fatal. O prognóstico clínico é influenciado tanto pelo rápido reconhecimento da exposição quanto pela própria qualidade do tratamento oferecido nas primeiras horas da admissão na emergência. Para que o correto atendimento seja realizado, medidas geralmente sequenciais como o suporte (ou estabilização), a anamnese e o exame clínico físico são adotadas. Adicionalmente, a análise toxicológica de urgência deve ser solicitada sempre que o médico suspeitar de uma intoxicação ou necessitar de um diagnóstico diferencial entre uma intoxicação e outro estado patológico. Portanto, as análises toxicológicas fornecem subsídios para a elaboração de uma avaliação precisa da intoxicação e mesmo os resultados negativos são, muitas vezes, essenciais para descartar o envolvimento de

substâncias específicas, alertando assim os profissionais da emergência para investigar outras possíveis causas da sintomatologia do paciente. Além de ser útil para a avaliação da gravidade da intoxicação, a determinação da concentração do toxicante auxilia na escolha das intervenções e na monitorização da eficácia do tratamento empregado (AMARAL; HERNANDEZ, 2014; BOYLE; BECHTEL; HOLSTEGE, 2009; HIEMKE et al., 2011; HOVING; VEALE; MULLER, 2011; OLIVEIRA; MENEZES, 2003; OLSON, 2014).

Diversos agentes exógenos são comumente encontrados na prática clínica, representando um desafio para as metodologias de detecção disponíveis nos laboratórios de toxicologia. Para que a análise seja realizada de modo abrangente e inequívoca, espera-se que os métodos utilizados contemplem parâmetros como a precisão e a exatidão; contudo, o custo, a simplicidade e rapidez também devem ser considerados (HORI et al., 2006; MAURER, 2012; UGES, 2011; ZHANG; KWONG, 2014).

1.1 Toxicologia Clínica e Centros de Controle de Intoxicação

A toxicologia clínica é considerada uma área específica do campo da toxicologia e os seus principais objetivos são o estudo dos efeitos tóxicos das substâncias, o diagnóstico, incluindo análises toxicológicas e o tratamento de intoxicações e emergências toxicológicas. A definição da toxicologia clínica aborda questões como a exposição acidental a picadas de animais ou produtos químicos utilizados de forma não-terapêutica e exposição ambiental aos subprodutos químicos de indústrias, tais como gases, hidrocarbonetos (solventes), radiação e/ou componentes de agricultura, como os praguicidas e também os efeitos tóxicos do álcool e drogas de abuso (MAURER, 2007a, 2012; ZHANG; KWONG, 2014).

Intoxicações intencionais ou não, incluindo tentativas de suicídio e overdoses, são uma importante causa de morbidade e mortalidade e têm aumentado ao longo dos últimos 10 anos, sendo responsáveis por uma proporção considerável de todo atendimento prestado pelos serviços de emergência. É importante ressaltar a crescente necessidade e interesse de toxicologistas clínicos para estabelecer interações estreitas entre pesquisa e prática clínica, auxiliando assim os médicos e os hospitais no tratamento de pacientes intoxicados e na prevenção dessas intoxicações (BOHNERT et al., 2010; BOCHNER, 2013; DESCOTES, 2003;

LANGMAN; KAPUR, 2006; MARGONATO; THOMSON; PAOLIELLO, 2009; MAURER, 2007a).

Um benefício social proeminente da toxicologia no Brasil foi o desenvolvimento de Centros de Informação e Assistência Toxicológica (CIATs). Esse sistema abrange os Centros de Informações Toxicológicas, Centros de Assistência Toxicológica, Centros de Atendimento Toxicológico e os Centros de Controle de Intoxicações (CCIs), e todos eles são representados pela Associação Brasileira de Centros de Informação e Assistência Toxicológica e Toxicologistas Clínicos - ABRACIT, que é uma sociedade sem fins lucrativos de âmbito nacional (AMARAL; HERNANDEZ, 2014).

Em 1971 foi criado no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo o primeiro centro no Brasil, denominado Centro de Controle de Intoxicações do município de São Paulo (CCI-SP), que em 1981 foi transferido para o Hospital Municipal Dr. Arthur Ribeiro de Saboya (HMARS) onde está alocado até o momento. A partir de 1980 foram criados mais de 30 centros, havendo atualmente cerca 35 centros ativos no país, localizados em 18 estados brasileiros e no Distrito Federal. Contudo, para um país extenso e populoso como o Brasil, o número atual de centros é ainda insuficiente. Os centros, além de assessorar os profissionais durante o atendimento ao paciente intoxicado, fornecem dados nacionais sobre casos de intoxicações. Os dados estatísticos gerados são essenciais para definir a causa, incidência e gravidade das intoxicações que ocorrem na população (AMARAL; HERNANDEZ, 2014; ABRACIT, 2016).

O SINAN, implantado no Brasil no início da década de 90, tem como escopo principal a coleta, o controle de registros e o processamento de dados sobre agravos de notificação em todo o território nacional, fornecendo informações para análise do perfil da morbidade e contribuindo, desta forma, para a tomada de decisões em nível municipal, estadual e federal. Este sistema é alimentado, sobretudo, pela notificação e investigação de casos de doenças e agravos que constam da lista nacional de doenças de notificação compulsória, que inclui por meio da portaria nº 1.271 de 6 de junho de 2014 as intoxicações exógenas (por substâncias químicas, incluindo agrotóxicos, gases tóxicos e metais pesados) (BRASIL, 2007, 2014; LAGUARDIA et al., 2004). No entanto, o registro das intoxicações no Brasil não é favorável a uma boa compreensão das ocorrências e muitas vezes os resultados apresentados são

subestimados, uma vez que várias fontes coletam os dados adotando diferentes classificações, além das subnotificações.

1.2 Agentes exógenos comumente encontrados na prática clínica

As mudanças tecnológicas ocorridas a partir do século XX geraram um maior desenvolvimento de indústrias como um todo. Neste contexto, a indústria farmacêutica aprimorou-se rapidamente, promovendo a síntese de novos compostos, gerando assim, mudanças no uso de medicamentos em todo o mundo (MARGONATO; THOMSON; PAOLIELLO, 2009). Os tipos de substâncias utilizadas se alteram em resposta às tendências do mercado e à criação de leis que proíbem seu uso; e é um importante desafio para centros de intoxicações se manterem atualizados sobre os efeitos farmacológicos e toxicológicos destes agentes emergentes. Paralelamente, a proporção de casos de intoxicação devido a overdoses dessas substâncias aumentou, tornando-se imprescindíveis o estudo e a atualização constante dos dados toxicológicos sobre suas concentrações no organismo, para auxiliar no ajuste de dose, remoção da droga do mercado e no tratamento dos pacientes intoxicados. Considerando o panorama brasileiro das intoxicações, as mais comuns são causadas principalmente por medicamentos, drogas de abuso e praguicidas (HILL; THOMAS, 2011).

Abaixo serão descritos os aspectos gerais das substâncias de interesse deste trabalho.

Paracetamol

A *N*-(4-hidroxifenil)etanamida, comumente conhecida como paracetamol, é o analgésico mais utilizado no Brasil e apesar da sua relativa segurança quando utilizado corretamente, é um dos principais responsáveis pela alta incidência de casos de intoxicação relatados pelos CCIs. A ingestão de 6 a 7 g (adultos) ou 200 mg/kg (crianças) dessa substância é potencialmente hepatotóxica (BUCARETCHI; BARACT, 2005; LOPES; MATHEUS, 2012; OLSON, 2014).

O paracetamol é rapidamente absorvido pelo organismo e sofre um extenso metabolismo hepático, sendo 85% da fração livre convertida em produtos inativos sulfatados e glicuronados por reações de fase II, e posteriormente eliminados pela

via urinária. Entretanto, cerca de 10% do fármaco é oxidado pela enzima CYP2E1 durante a fase I da biotransformação a um intermediário reativo, N-acetil-para-benzoquinona-imina (NAPQI), que normalmente é conjugado e inativado com a glutationa, formando produtos com a cisteína e com o ácido mercaptúrico. Em doses tóxicas, a produção contínua de NAPQI, resulta na depleção de glutationa, favorecendo a ligação desse intermediário eletrofílico com macromoléculas, conforme ilustrado na **Figura 1**. Essa depleção é apenas um mecanismo de uma cascata de eventos intracelulares que incluem o estresse oxidativo mitocondrial, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e mudanças no padrão de sinalização celular, que por sua vez modulam a transcrição gênica. Crianças menores de 10 anos de idade parecem ser menos susceptíveis a hepatotoxicidade promovida pelo fármaco, uma vez que apresentam um sistema hepático ainda em desenvolvimento (BUCARETCHI; BARACT, 2005; BUNCHORNTAVAKUL; REDDY, 2013; DESCOTES, 2003; HODGMAN; GARRARD, 2012; OLSON, 2014).

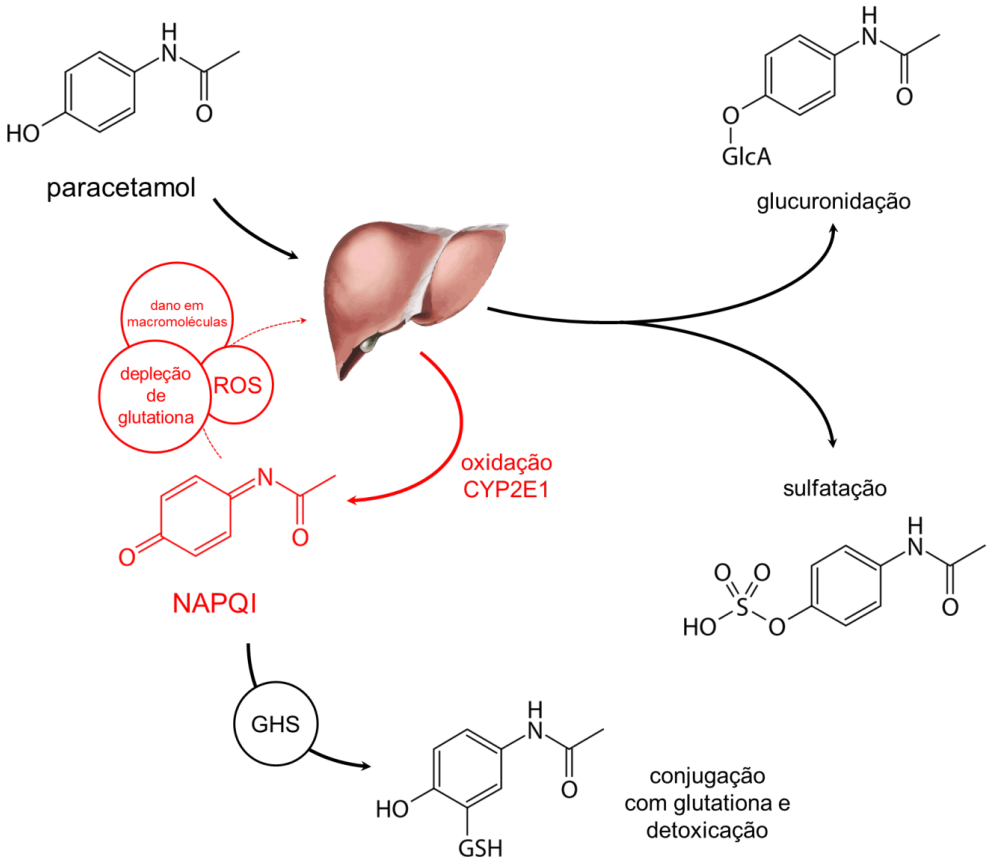


Figura 1. Mecanismo de biotransformação e toxicidade do paracetamol. NAPQI: N-acetil-para-benzoquinona imina; GHS: glutationa; GlcA: ácido glicurônico; ROS: espécies reativas de oxigênio.

O uso concomitante de fármacos que induzem o sistema enzimático P450, tais como fenitoína, fenobarbital e carbamazepina, pode potencializar a toxicidade do paracetamol pelo aumento da produção de NAPQI pela via oxidativa. Adicionalmente, a superdosagem durante a gravidez tem sido associada a abortos espontâneos ou morte fetal (BUNCHORNTAVAKUL; REDDY, 2013; LOPES; MATHEUS, 2012).

As manifestações clínicas decorrentes da intoxicação por paracetamol são estratificadas em quatro estágios: (*i*) nas primeiras 24 horas podem ocorrer náuseas, vômitos, mal-estar, letargia, sudorese (alguns pacientes permanecem assintomáticos); (*ii*) entre 24 e 72 horas o paciente pode permanecer assintomático ou apresentar sintomatologia leve, semelhante às primeiras horas da intoxicação; (*iii*) após 72 horas, os sintomas sistêmicos do primeiro estágio reaparecem seguidos de icterícia, encefalopatias e acidose láctica, podendo ocorrer ainda pancreatite aguda. Em casos graves, a falência múltipla de órgãos com progressão para óbito pode ser observada; (*iv*) o último estágio é caracterizado pela recuperação. Geralmente, a função hepática se normaliza no período de quatro semanas após o tratamento (BUNCHORNTAVAKUL; REDDY, 2013; OLSON, 2014).

O antídoto comumente utilizado nos casos de overdose é a N-acetilcisteína (NAC), que preferencialmente deve ser administrada nas primeiras horas da intoxicação (8 a 10 horas). A NAC é um composto que pode ser desacetilado para a cisteína, um aminoácido que é utilizado intracelularmente para a síntese de glicina e glutamato, precursores da glutationa. Adicionalmente, a NAC exerce ação se ligando diretamente ao NAPQI, reduzindo assim a hepatotoxicidade induzida pelo paracetamol (HOWLAND; HENDRICKSON, 2011).

Benzodiazepínicos

Os benzodiazepínicos (BZD) são um dos grupos de fármacos mais utilizados em nível global, tendo sua comercialização no Brasil controlada pela Portaria nº. 344/1998 e se encontram na lista B1 de substâncias psicotrópicas sujeitas a “Notificação de Receita B”. A nível nacional, os BZD lideram a lista dos cinco medicamentos controlados mais vendidos de acordo com o Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados (SNGPC), gerenciado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Só no estado de São Paulo, os três

princípios ativos industrializados mais consumidos no período de 2009 a 2011 foram o clonazepam, alprazolam e bromazepam, somando um total de mais de 11 milhões de unidades (ANVISA, 2018; BRASIL, 1998; PERSONA et al., 2015).

Essas substâncias depressoras do Sistema Nervoso Central (SNC) são prescritas em uma grande variedade de indicações terapêuticas tais como, ansiolíticos, sedativos, hipnóticos, anticonvulsivantes e relaxantes musculares. Outros efeitos demonstrados em ensaios clínicos e na prática médica incluem tratamento da ansiedade associada a algumas formas de depressão e esquizofrenia, podendo ser utilizados também como anestésicos (GRIFFIN et al., 2013; NOZAWA et al., 2015).

Os fármacos dessa classe possuem alta afinidade e seletividade a um único sítio dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), contendo as subunidades α1, α2, α3 ou α5 e uma subunidade ɣ. Atuam como moduladores alostéricos positivos sobre $GABA_A$, potencializando a regulação dos canais na presença de GABA. A classe farmacológica dos BZD inclui diversos compostos que variam amplamente em sua potência, duração de efeito, presença ou ausência de produtos de biotransformação ativos e seu uso clínico. Eles podem ser divididos em compostos de ação curta (triazolam e midazolam), ação intermediária (oxazepam, alprazolam, bromazepam) e longa duração (diazepam e clonazepam), sendo os de ação curta preferíveis para tratamento da insônia e os de ação intermediária ou longa utilizados para o tratamento dos transtornos de ansiedade. Todos os BZD apresentam uma estrutura molecular básica, formada por um anel benzênico ligado a um anel heterocíclico ou diazepínico e modificações estruturais realizadas nesse núcleo básico podem alterar a sua atividade ansiolítica (ENGIN et al., 2014; RANG et al., 2007; REYNOLDS et al., 2012; OCHOA; KILGO, 2016).

Os BZD podem ser administrados por via intramuscular, intravenosa, oral, sublingual ou intranasal. A maioria desses fármacos é biotransformada pelas enzimas do complexo citocromo P450, conjugadas com ácido glicurônico e quase completamente excretadas na urina. Alguns produtos de biotransformação tem atividade farmacológica, fator que deve ser considerado ao se prescrever esses medicamentos (GRIFFIN et al., 2013; HOFFMAN; NELSON; HOWLAND, 2011; MERCOLINI et al., 2009; SAARI et al., 2011). As estruturas químicas e as principais vias de biotransformação dos benzodiazepínicos estão descritos na **Figura 2**.

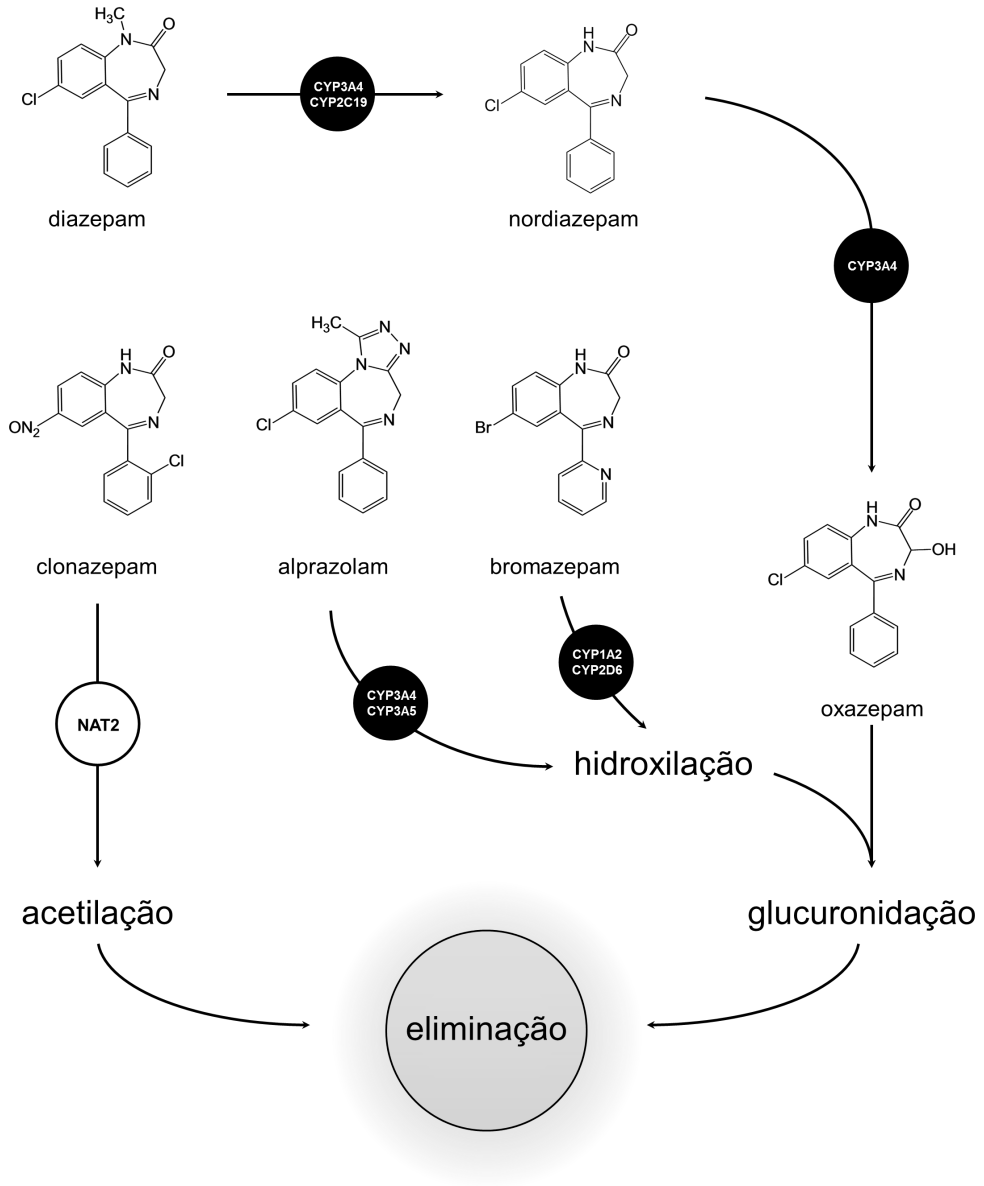


Figura 2. Estruturas químicas e principais vias de biotransformação dos benzodiazepínicos. NAT2: N-acetiltransferase2.

A extensa utilização dos BZD tem sido atribuída à ampla margem de segurança terapêutica e os mínimos efeitos adversos graves. A segurança relativa dos benzodiazepínicos provém de sua atividade limitada na modulação dos receptores $GABA_A$ e mesmo que administrados em altas doses, raramente conduzem ao óbito. Entretanto, existe risco quando essa classe de fármacos é consumida concomitantemente com outros fármacos depressores do SNC, analgésicos opioides, antidepressivos tricíclicos ou álcool. O intervalo das concentrações terapêuticas é de 0,02 – 1,5 $\mu g.mL^{-1}$, enquanto que os efeitos tóxicos podem ocorrer em concentrações superiores a 1,5 $\mu g.mL^{-1}$ (JEONG et al., 2015;

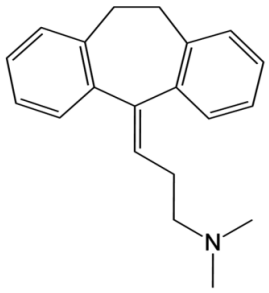
KURKO et al., 2015; LEE et al., 2016; PAPOUTSIS et al., 2010; RACAMONDE et al., 2014; SCHULZ et al., 2012).

De acordo com a *Substance Abuse and Mental Health Services Adminstration* (SAMHSA), cerca de 20,4% dos atendimentos emergenciais hospitalares nos Estados Unidos em 2011 foram associados a utilização indevida de benzodiazepínicos (SAMHSA, 2013). Os efeitos adversos mais comuns dos benzodiazepínicos incluem sonolência, fraqueza muscular, tontura, vertigem, ataxia, diplopia, visão turva, confusão, apatia e vertigem. O risco relativo de tais efeitos varia com a susceptibilidade individual e com as características fisiológicas de cada paciente, como por exemplo, as alterações farmacocinéticas associadas com o envelhecimento podem promover aumento da ocorrência desses efeitos adversos em idosos (HOWARD et al., 2014; SAARI et al., 2011).

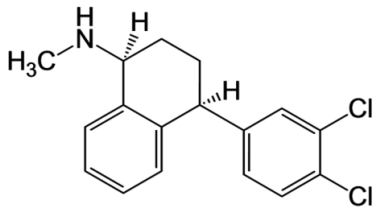
As primeiras preocupações da possível dependência em relação aos BZD foram expressas em meados dos anos 1960, seguidas de campanhas de saúde pública na década de 1970 com o objetivo de reduzir o consumo desses fármacos. Desde 1980 várias diretrizes clínicas foram publicadas com a recomendação consistente de que a duração do tratamento com os BZD deve ser tão limitada quanto possível, com o máximo de quatro semanas. A justificativa desta recomendação baseia-se no desenvolvimento de tolerância e do elevado risco de dependência causada pela utilização desses fármacos, somados à evidência relativamente fraca referente à sua eficácia com o uso prolongado (KURKO et al., 2015).

Antidepressivos

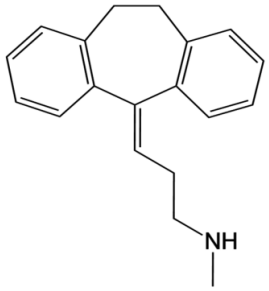
Os antidepressivos têm sido utilizados no tratamento dos sintomas da depressão desde que foram introduzidos no mercado no final do ano de 1950. Os principais fármacos com ação antidepressiva podem ser divididos em quatro classes: antidepressivos tricíclicos (ATC), inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), inibidores da monoaminoxidase e antidepressivos atípicos. Dentre estes grupos, apenas os dois primeiros serão abordados neste trabalho e os principais fármacos representantes dessas duas classes estão descritos na **Figura 3**. Os antidepressivos se diferem na sua especificidade e na afinidade para os receptores de serotonina, noradrenalina e dopamina (WHISKEY; TAYLOR, 2013).



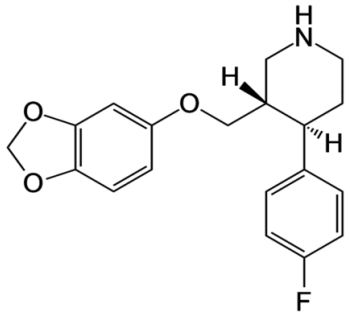
amitriptilina



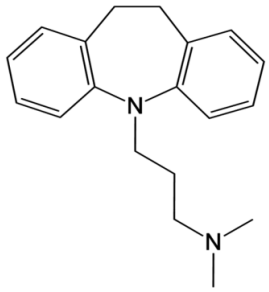
sertralina



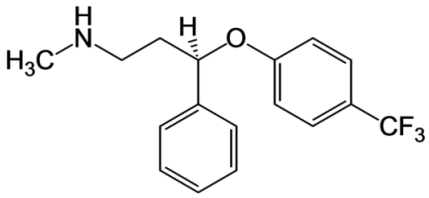
nortriptilina



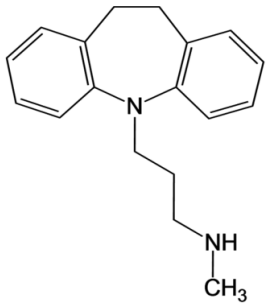
paroxetina



imipramina



fluoxetina



desipramina

Figura 3. Estrutura química dos antidepressivos estudados.

Os antidepressivos são frequentemente prescritos em inúmeras combinações, levando a possíveis interações medicamentosas. Somando-se ao fato de serem amplamente utilizados nas tentativas de suicídio, esses fármacos têm se destacado na toxicologia de emergência (DEAR; BATEMAN, 2016; JUDGE; RENTMEESTER, 2013).

Os ATCs foram a primeira classe de fármacos utilizados para tratar a depressão. Esses fármacos produzem os seus efeitos terapêuticos por meio do bloqueio da recaptação de monoaminas em terminações nervosas adrenérgicas e/ou serotoninérgicas, aumentando assim a concentração desses neurotransmissores no interior da fenda sináptica e uma intensificação das respostas pós-sinápticas. Alguns representantes desta classe incluem a amitriptilina, a nortriptilina, a imipramina e a desipramina (BLOCK; NEMEROFF, 2014; NADAL-VICENS; CHYUNG; TURNER, 2009).

O intervalo das concentrações terapêuticas para a maioria dos tricíclicos é de aproximadamente 0,1 – 0,3 $\mu g.mL^{-1}$, enquanto que os efeitos tóxicos podem ocorrer em concentrações superiores a 0,5 $\mu g.mL^{-1}$. A ação tóxica desses fármacos resulta da sua capacidade de ligação a outros receptores além de seus alvos terapêuticos. O bloqueio de canais de sódio (Na^+), por exemplo, é o provável mecanismo responsável por variações na toxicidade dos diferentes tipos de antidepressivos, sendo as mortes causadas principalmente pela cardiotoxicidade e por crises convulsivas em pacientes gravemente intoxicados. Esses fármacos são rapidamente absorvidos por via oral e ligam-se fortemente às proteínas plasmáticas (90 – 95%). São biotransformados no fígado e a sua inativação ocorre pela conjugação com o ácido glicurônico, sendo então eliminados na urina (DEAR; BATEMAN, 2016; GHAMBARIAN; YAMINI; ESRAFIL, 2012; MEYER; WEBER; MAURER, 2014; SCHULZ et al., 2012; VINCENTI et al., 2013).

Um importante avanço no tratamento da depressão foi alcançado com a introdução, em 1987, dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) na prática clínica. O primeiro ISRS introduzido no mercado foi a fluoxetina, que continua sendo um dos ISRS mais largamente prescritos. Outros ISRS incluem o citalopram, a paroxetina, a sertralina e o escitalopram. Embora a eficiência desses fármacos seja semelhante à dos ATC, eles possuem maior seletividade e segurança, os tornando fármacos de primeira linha para o tratamento da depressão, bem como para a ansiedade e o transtorno obsessivo-compulsivo. Assim como os

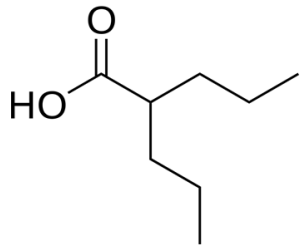
benzodiazepínicos, a comercialização dos antidepressivos é controlada pela Portaria nº. 344/1998 (BRASIL, 1998; BLOCK; NEMEROFF, 2014).

Os ISRS assemelham-se aos ATC quanto a seu mecanismo de ação, inibindo a recaptação de monoaminas; no entanto, são significativamente mais seletivos para os transportadores de serotonina, como o próprio nome da classe sugere. Essa seletividade confere aos ISRS menor probabilidade de produzir efeitos adversos quando utilizados em doses terapêuticas. Contudo, alguns efeitos mais frequentemente relatados são: náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, erupção cutânea, sudorese e agitação. Esses fármacos são biotransformados no fígado pelo complexo citocromo P450, possuem elevada taxa de ligação às proteínas plasmáticas e apresentam grande volume de distribuição. Os níveis plasmáticos máximos são atingidos de 2 a 10 horas. As meias-vidas para os ISRS são variáveis, mas a maioria tem uma meia-vida de 20 a 24 horas; entretanto, uma exceção é a fluoxetina e seu produto de biotransformação ativo, norfluoxetina, que possui uma meia-vida de 2 a 4 dias e 8 a 9 dias, respectivamente (ATTARD, 2012; BLOCK; NEMEROFF, 2014; JUDGE; RENTMEESTER, 2013).

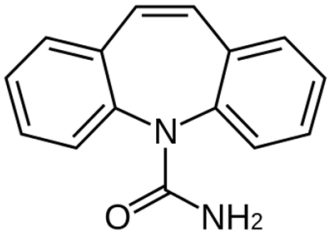
Anticonvulsivantes

As crises convulsivas são caracterizadas por episódios de duração limitada da disfunção cerebral, resultantes da descarga anormal e excessiva dos neurônios cerebrais, que podem comprometer ou ocasionar a perda de consciência. Em condições fisiológicas, a propagação rápida e descontrolada da atividade elétrica cerebral é controlada e inibida por meio da inativação dos canais de Na^+ e da inibição mediada pelo GABA. Contudo, quando ocorre qualquer alteração, seja por lesão e degeneração dos neurônios GABAérgicos, gradientes iônicos anormais induzidos por lesões expansivas ou qualquer mutação que altere a função dos canais, esse sistema de inibição não irá atuar e consequentemente poderá ocasionar as crises convulsivas. Os fármacos anticonvulsivantes ou antiepilépticos reparam a capacidade inibitória inerente do cérebro e exemplos de fármacos com essa ação incluem a fenitoína e a carbamazepina, que aumentam a inativação dos canais de Na^+, bem como o fenobarbital e ácido valpróico, que aumenta a inibição mediada pelo GABA (GRIFFIN JR; LOWENSTEIN, 2009; MUNIZ, 2017). As

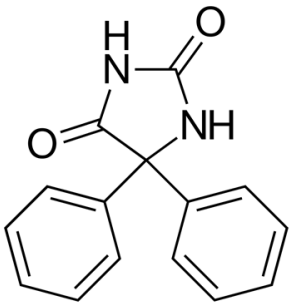
estruturas químicas desses fármacos anticonvulsivantes estão descritas na **Figura 4**.



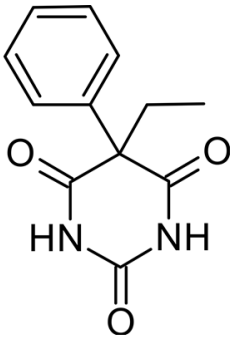
Ácido valpróico



Carbamazepina



Fenitoína



Fenobarbital

Figura 4. Estrutura química dos fármacos anticonvulsivantes.

A fenitoína foi introduzida no mercado em 1938 e conhecida por décadas como difenil-hidantoína, sendo considerada o anticonvulsivante não sedativo mais antigo e altamente eficaz em várias formas de crises parciais e generalizadas. Entretanto, seu uso não é eficiente no tratamento de crises de ausência. A fenitoína promove sua ação farmacológica atuando diretamente sobre os canais de Na^+, diminuindo a velocidade de recuperação do canal de seu estado inativado para o estado fechado, promovendo assim o aumento no limiar dos potenciais de ação e impedindo a descarga repetitiva. A fenitoína também aumenta a concentração cerebral de GABA (GRIFFIN JR; LOWENSTEIN, 2009; PORTER; MELDRUN, 2014).

Dentre suas características farmacocinéticas destaca-se a alta ligação às proteínas plasmáticas, com cerca de 95% ligada à albumina plasmática. Apenas a fração livre é responsável por seus efeitos clínicos e toxicológicos. As concentrações

plasmáticas terapêuticas situam-se entre 10 – 20 $\mu g.mL^{-1}$, e o tempo para atingir essas concentrações é de 1,5 a 3 horas para as formulações normais e 4 a 12 horas para as formulações de liberação prolongada. Apresenta propriedades de cinética de saturação (cinética de ordem zero), por meio das quais pequenos aumentos na dose podem produzir aumentos acentuados e frequentemente imprevisíveis na sua concentração plasmática. Essas alterações nas concentrações plasmáticas de fenitoína estão relacionadas ao aumento do risco de efeitos adversos, incluindo ataxia, falta de coordenação motora, confusão, hiperplasia gengival, anemia megaloblástica e exantema cutâneo sistêmico. A fenitoína é biotransformada pelo sistema enzimático microssomal hepático P450 a compostos inativos que são excretados na urina, sendo uma pequena parcela da dose (menos de 1%) excretada inalterada na urina. Fármacos que inibem o sistema P450 podem promover um aumento nas concentrações plasmáticas da fenitoína, quando utilizados de forma conjunta (ANSEEUW et al., 2016; GRIFFIN JR; LOWENSTEIN, 2009; PORTER; MELDRUN, 2014; SCHULZ et al., 2012).

A carbamazepina (CBZ) é um fármaco anticonvulsivante estruturalmente relacionado com os antidepressivos tricíclicos, utilizado como estabilizador do humor principalmente no tratamento da epilepsia e do transtorno bipolar, exercendo sua atividade anticonvulsivante de maneira semelhante à fenitoína. As concentrações terapêuticas e tóxicas da CBZ são de 4 – 12 $\mu g.mL^{-1}$ e 10 $\mu g.mL^{-1}$, respectivamente. No entanto, assim como outros fármacos antiepiléticos, há uma fraca correlação entre as concentrações plasmáticas de CBZ e sua dose, especialmente em crianças, dessa forma é essencial o monitoramento terapêutico quando se utiliza esses fármacos. Além disso, a carbamazepina induz o sistema P450 hepático, aumentando o metabolismo da fenitoína e reduzindo, assim, as concentrações plasmáticas de fenitoína quando ambos os fármacos são utilizados concomitantemente. A CBZ é biotransformada principalmente no fígado pela citocromo P450, formando seu produto ativo carbamazepina-10,11-epóxido, que contribui significativamente para produzir os efeitos terapêuticos (BURIANOVÁ; BOŘECKÁ, 2015; SCHULZ et al., 2012; SHOKRY et al., 2015).

O fenobarbital é um barbitúrico de ação prolongada, amplamente utilizado no tratamento de crises convulsivas e que apresenta importância toxicológica, uma vez que é frequentemente relacionado com intoxicações agudas. Seu principal mecanismo de ação envolve a potencialização da neurotransmissão inibitória do

GABA. Outros mecanismos são a inibição da neurotransmissão excitatória do glutamato, inibição da condutância de canais de sódio dependentes de voltagem, inibição da liberação dos neurotransmissores dependentes de cálcio e estimulação direta dos receptores GABA (ALMEIDA; SILVA, 2014). Concentrações terapêuticas entre 2 e 30 $\mu g.mL^{-1}$ são necessárias para produção do efeito anticonvulsivante (SHULZ et al., 2012). Este fármaco é bem absorvido por via oral embora a absorção seja relativamente lenta, tendo o início de ação entre 30 a 60 minutos. As concentrações plasmáticas máximas atingem-se entre 8 a 12 horas e cerca de 40 – 60% do fármaco se ligam às proteínas plasmáticas. Após a absorção, o fenobarbital é biotransformado no fígado pelo sistema enzimático P450 em dois produtos inativos, sendo cerca de 25% do fármaco excretado de modo inalterado na urina (VINCENTI et al., 2013). Fadiga, fraqueza, insônia e hipertensão são relatados como efeitos colaterais cognitivos e comportamentais ao fenobarbital (VOSOUGH, GHAFGHAZI E SABETKASAEI, 2014). Segundo os dados do SNGPC foram consumidos no Brasil mais de dois milhões de unidades de fenobarbital entre os anos de 2009 e 2011 (ANVISA, 2018).

O ácido valpróico é um fármaco antiepilético de primeira linha utilizado no tratamento de crises epiléticas parciais e generalizadas. Também é o fármaco indicado no tratamento de doenças psiquiátricas como transtornos bipolares e esquizofrenia, fobias sociais e dor neuropática (JAWIEN et al., 2017; MUÑIZ, 2017). O mecanismo exato da ação anticonvulsivante do ácido valpróico ainda não é totalmente elucidado. No entanto, sabe-se que ele promove um aumento indireto nas concentrações cerebrais do GABA por meio de vários mecanismos, reduz ainda a liberação de gama-hidroxibutirato e bloqueia os receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA). A faixa de concentrações terapêuticas variam entre 50 $\mu g.mL^{-1}$ e entre 100 e 150 $\mu g.mL^{-1}$ (MUÑIZ, 2017; SZTAJNKRYCER, 2002). Apesar de sua estrutura simples, o ácido valpróico possui um processo de biotransformação extenso e complexo envolvendo principalmente as vias de glicuronidação e oxidação. Cerca de 3% da dose inicial é eliminada inalterada na urina (GAO et al., 2011; JAWIEN et al., 2017). A meia-vida plasmática varia de 8,7 a 21,5 h. No entanto, em overdoses, a meia-vida é prolongada até 30 h (MUÑIZ, 2017).

Drogas de abuso e substâncias relacionadas

Segundo os dados do *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNODC), estima-se que cerca de 5% da população adulta global utilizaram uma droga ilegal ao menos uma vez no ano de 2015. Um dado ainda mais alarmante, de acordo com esse mesmo relatório publicado em 2017, cerca de 29,5 milhões de indivíduos desse grupo sofrem de transtornos decorrentes do consumo de drogas. O *ranking* de consumo é liderado pelo uso de *Cannabis*, seguido por opioides, cocaína e anfetaminas, com predominância local distinta (UNODC, 2017). No Brasil, dados obtidos pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID) apontam um panorama específico com a prevalência do consumo de álcool, *Cannabis*, cocaína / crack e anfetaminas (CEBRID, 2005). No decorrer deste trabalho serão abordadas as intoxicações ocasionadas por depressores do SNC (álcool e opioides) e estimulantes do SNC (cocaína, anfetaminas e derivados).

O etanol ou álcool é uma substância psicoativa, indutora de dependência, amplamente consumida por nossa sociedade. Os problemas de saúde e sociais associados com o seu uso variam amplamente em todo o mundo, entretanto, correlações significativas com transtornos, incapacidade e morte podem ser evidenciadas na maioria das populações que o consomem. De acordo com o Centro de Informações sobre Saúde e Álcool (CISA), o consumo total de álcool estimado no Brasil é equivalente a 8,7 litros por pessoa, quantidade superior à média mundial (6,2 litros). Estima-se ainda que homens consumam 13,6 litros por ano e as mulheres, 4,2 litros por ano (CISA, 2016; OMS, 2014).

Segundo o último relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2012, cerca de 3,3 milhões de mortes foram associadas ao consumo de álcool. Este número corresponde a 5,9% de todas as mortes (7,6% para os homens, 4,0% para as mulheres) ou uma em cada vinte mortes no mundo no respectivo ano. Esse valor é superior, por exemplo, a proporção de mortes por HIV/AIDS (2,8%), violência (0,9%) ou a tuberculose (1,7%) (OMS, 2014). O consumo crônico de álcool também tem sido relacionado com o suicídio e a violência e é um fator causal identificado em mais de 200 formas distintas de doenças e injúrias, incluindo manifestações neuropsiquiátricas, doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral isquêmico, doença isquêmica do coração, doenças do aparelho digestivo e diabetes, além de ser considerado um fator risco em certos tipos de câncer. Estipulou-se que no ano de 2012, cinco por cento da carga global de doenças e lesões (139 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade) seria atribuível ao consumo de álcool

(MACDONALD et al., 2013; REHM; KANTERES; LACHENMEIER, 2010; SHIELD; PARRY; REHN, 2013).

O etanol é um depressor do SNC por atuar potencializando a atividade inibitória do GABA mediada pelos receptores $GABA_A$ e diminuindo a atividade excitatória do glutamato (inibição dos receptores NMDA e aumento da recaptura de glutamato pelo terminal pré-sináptico). É uma substância de caráter polar, solúvel no tecido adiposo e que apresenta rápida absorção e distribuição a todos os tecidos e fluidos do organismo. O etanol tem a capacidade de prejudicar o julgamento e reduzir a inibição e, em grandes quantidades, pode causar perda da consciência e do controle físico. As alterações no comportamento e nas funções cognitivas e motoras dependem de vários fatores, como a dose ingerida, a velocidade de absorção, o peso e a sensibilidade do indivíduo, assim como o desenvolvimento da tolerância (MALBEGIER; PILEGGI; SCIVOLETTO, 2014).

De acordo com Milhorn Jr (1990), uma concentração de álcool no sangue de 0,5 $g.L^{-1}$ é suficiente para promover as primeiras alterações significativas. Há um prejuízo definitivo do equilíbrio e do movimento com concentrações de 1,5 $g.L^{-1}$ e com concentrações em torno de 3 $g.L^{-1}$ pode ocorrer perda da consciência. O indivíduo vem a óbito com concentrações sanguíneas de 5 $g.L^{-1}$.

A intoxicação alcoólica aguda promove diminuição da coordenação motora, consciência, cognição, percepção do comportamento, sendo a mais frequente ocorrência atendida em serviços de emergência. As manifestações clínicas e a intensidade dos sintomas apresentam forte correlação com a concentração de álcool no sangue; contudo, outros elementos como a condição genética do indivíduo e sua associação com outras substâncias podem influenciar a suscetibilidade do paciente intoxicado, a contaminação com metanol (proveniente de bebidas adulteradas) é um bom exemplo. Vale ressaltar ainda que essa condição não é exclusiva dos adultos, sendo cada vez mais presente também em adolescentes. Desta maneira, considera-se fundamental o diagnóstico laboratorial para a constatação da intoxicação alcoólica aguda, representando uma importante ferramenta para a equipe médica no que se refere ao tratamento do paciente bem como no acompanhamento da sua evolução clínica (CAZENAVE; CHASIN, 2009; OMS, 2014; TAYLOR et al., 2010).

A cocaína é o principal alcaloide extraído das folhas de duas espécies do gênero *Erythroxylon,* planta originária da zona tropical dos Andes. Seus efeitos estimulantes já eram conhecidos há mais de 4.000 anos na história da humanidade,

quando as pessoas mascavam suas folhas, sendo considerado o mais potente estimulante de origem natural. No final do século XIX, o interesse sobre a toxicidade da cocaína aumentou devido aos crescentes casos de intoxicação e mortes relacionadas ao uso da droga (BORTOLOTTI et al., 2012; YONAMINE; SILVA, 2002; ZIMMERMAN, 2012).

De acordo com o UNODC, o consumo de cocaína se manteve estável ao longo dos últimos anos, com 17 milhões de usuários, representando 0,4% da população mundial com idade entre 15 e 64 anos (UNODC, 2017). No Brasil, de acordo com o Segundo Levantamento Nacional de Álcool e Drogas, cerca de 6 milhões de brasileiros (4% da população adulta) já utilizaram cocaína na vida (INPAD, 2014).

Os padrões de uso da cocaína incluem a sua utilização como cloridrato de cocaína, como base livre (*crack*) e também como pasta ou merla. O *crack* é resultante do aquecimento da solução aquosa do cloridrato de cocaína com uma substância básica. O produto resultante da pirólise da cocaína é a anidroecgonina metil éster (AEME) (**Figura 5**) e a presença deste produto em matrizes biológicas diferenciam os consumidores de *crack* daqueles que utilizam a cocaína pelas demais vias (GARCIA et al., 2012). A cocaína é bem absorvida pelas membranas da mucosa nasal, oral e intestinal, pelos pulmões e pode ser também administrada por via intravenosa. A velocidade de absorção, a máxima concentração plasmática e, consequentemente, os efeitos fisiológicos da cocaína são dependentes da via de introdução, da forma de cocaína utilizada e da utilização concomitante com outras drogas. A via mais rápida de absorção é a respiratória, onde o aparecimento de efeitos ocorre mais rapidamente com a cocaína inalada na forma de *crack* (3-5 segundos), seguido da via intravenosa (10 – 60 segundos). O aparecimento de efeitos é retardado com a utilização pela via intranasal (em 5 minutos), devido à vasoconstrição tópica. Por outro lado, a duração dos efeitos é maior com o uso intranasal de cocaína (60 – 90 minutos) e mais curto com a inalação de *crack* (5 – 15 minutos). Essa curta duração do efeito decorrente da inalação pode induzir a doses repetidas para se manter os efeitos desejados (BORTOLOTTI et al., 2012; CHASIN; SILVA; CARVALHO, 2014; ZIMMERMAN, 2012).

A cocaína apresenta uma meia-vida curta de 0,7 a 1,5 horas, sendo rapidamente biotransformada pelo fígado e também no plasma pelas enzimas colinesterases. É convertida, quase em sua totalidade, em produtos de

biotransformação e eliminada na urina como benzoilecgonina (15 a 50%), ecgonina metil éster (15 a 35%), ecgonina (1 a 8%), norcocaína (2 a 6%) e na forma inalterada (cerca de 3%). O uso concomitante de cocaína e álcool resulta na formação hepática do cocaetileno (**Figura 5**), que apresenta efeitos eufóricos e simpaticomiméticos semelhantes à cocaína, mas também pode promover maior toxicidade, uma vez que apresenta meia-vida de aproximadamente 2,5 horas (BORTOLOTTI et al., 2012; DRUMMER, 2011; HEARD; PALMER; ZAHNISE, 2008; WHITE; LAMBE, 2003; ZIMMERMAN, 2012).

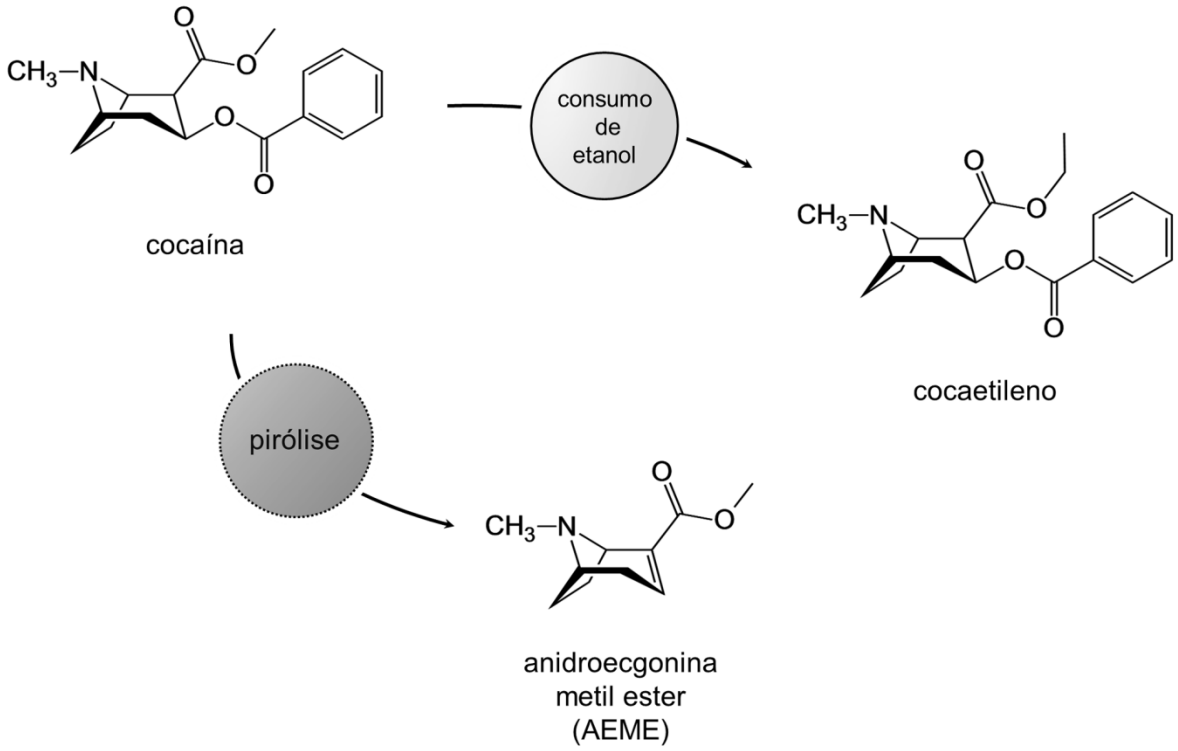


Figura 5. Mecanismo de formação do cocaetileno (pelo consumo concomitante de etanol e cocaína) e da anidroecgonina metil éster (pirólise da cocaína).

O uso da cocaína pode levar aos efeitos desejáveis de euforia, autoconfiança, aumento da atenção, redução do apetite, entre outros, mas também ocasiona os efeitos indesejáveis tais como ansiedade, paranoia, crises convulsivas, comportamento egocêntrico, disforia, anorexia e ilusões. Distúrbios cognitivos como dificuldade de aprendizagem e memória são relatados na maioria dos usuários

crônicos de cocaína e em crianças de mãe dependentes. A exposição crônica também pode ocasionar erosão dental, má nutrição, cardiomiopatias, diminuição da síntese de neurotransmissores e dependência. A cocaína é também um potente vasoconstritor e anestésico local (BODMER et al., 2014; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009; HEARD; PALMER; ZAHNISE, 2008; VALE, 2007).

A cocaína exerce sua ação pelo bloqueio da recaptação de dopamina e noradrenalina presentes nas membranas plasmáticas dos neurônios pré-sinápticos, devido à ligação da cocaína aos sítios transportadores de dopamina. Esses neurotransmissores estão envolvidos em diferentes processos fisiológicos e, portanto, o bloqueio dos seus transportadores pode ser responsável pelas ações específicas da substância. Portanto, o acúmulo de dopamina nos receptores pós-sinápticos D1 e D2 está relacionado com o mecanismo fisiopatológico pela qual ocorre a euforia. A noradrenalina é responsável pelos efeitos adrenérgicos observados no uso da cocaína, como a midríase, vasoconstricção, hipertensão, taquicardia e taquipneia. As alterações comportamentais parecem ser mediadas pela dopamina, além de efeitos como intensa euforia, aumento da excitação sexual e da autoconfiança (CHASIN; SILVA; CARVALHO, 2014; PROSSER; HOFFMAN, 2011; ZIMMERMAN, 2012, WHITE; LAMBE, 2003).

Os estimulantes do tipo das anfetaminas (ATS) são uma classe de substâncias de estimulantes sintéticos que inclui o grupo das anfetaminas e substâncias do grupo *ecstasy* - 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA). Alguns exemplos de anfetaminas são ilustrados na **Figura 6**. De acordo com o último relatório do UNODC, publicado em 2017, cerca de 37 milhões de indivíduos na idade de 15 – 64 anos consumiram alguma das substâncias do grupo das anfetaminas (UNODC, 2017).

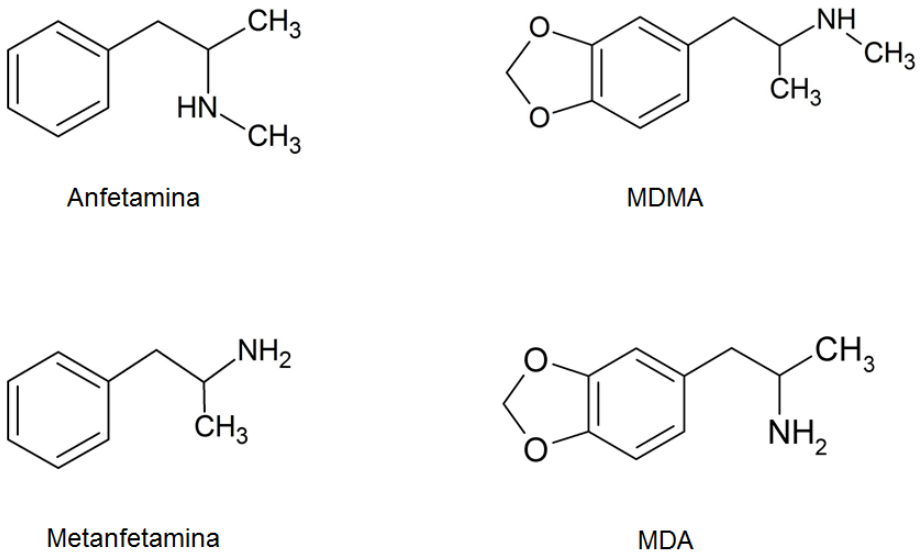


Figura 6. Estruturas químicas dos estimulantes do tipo das anfetaminas (ATS).

Sendo considerada uma das mais potentes drogas simpaticomiméticas, a anfetamina produz os seus efeitos por meio do aumento dos níveis sinápticos de dopamina, noradrenalina e serotonina, mediante quatro principais mecanismos de ação: promove a liberação de neurotransmissores (dopamina, noradrenalina e serotonina) na sinapse neuronal; inibe a degradação dessas monoaminas pela enzima monoamina oxidase; inibe ainda a recaptura de neurotransmissores e atuando diretamente sobre os receptores. Estas ações promovem a acumulação das monoaminas, que podem, em seguida, serem transportadas para a fenda sináptica (HEAL et al., 2013; SILBER et al., 2006).

Embora a anfetamina possa se ligar a todos os transportadores de monoaminas, os seus efeitos estimulantes comportamentais são mediados principalmente pela dopamina e dependem do transportador de dopamina. Os ATS, em particular a anfetamina, apresentam um alto potencial de abuso e consequentemente propiciam o desenvolvimento de farmacodependência. Os mecanismos envolvidos nas propriedades de reforço parecem se relacionar com o aumento extracelular de dopamina no núcleo *acumbens* e núcleo caudado; no entanto, o exato mecanismo pelo qual ocorre ainda não está elucidado (BERMAN et al., 2009; DE LA TORRE et al., 2004; HUTSON et al., 2014).

A anfetamina existe como dois estereoisômeros que diferem em efeitos. O L-enantiômero (levoanfetamina) produz mais efeitos cardiovasculares e periféricos do que o D-enantiômero (dextroanfetamina). Em doses baixas, a levoanfetamina produz

maior excitação que a dextroanfetamina. Em doses mais elevadas, as propriedades estimulantes da dextroanfetamina são de 3 a 4 vezes mais intensas que aquelas produzidas pela levoanfetamina (BERMAN et al., 2009; HEAL et al., 2013).

As anfetaminas são relativamente lipofílicas e, portanto, atravessam facilmente a barreira hematoencefálica alcançando os seus principais locais de ação no cérebro. A administração aguda de anfetamina produz alterações comportamentais dependentes da dose, incluindo o aumento da estimulação e o estado de vigília, a anorexia, paranoia, psicose, hiperatividade, e, em particular, um considerável estado de euforia, geralmente responsável pelo abuso da droga. Os efeitos adversos incluem principalmente perturbações do humor e do comportamento, sendo considerados efeitos "tempo limitado", cessando rapidamente após a interrupção da exposição ao estimulante. Outros efeitos incluem a perda de apetite, insônia, nervosismo e febre (CHIANG, 2011; DE LA TORRE et al., 2004).

As anfetaminas são comumente ingeridas, injetadas ou fumadas. O processo de eliminação das substâncias ocorre por múltiplas vias, incluindo diversas rotas de transformação hepática e por eliminação renal. Esta é substancial para a anfetamina (30%) e para o MDMA (65%). Anfetaminas são bases fortes com pKa em torno de 9 – 10 e a eliminação renal é dependente do pH urinário. A meia-vida das anfetaminas varia significativamente (anfetamina, 8 – 30 horas e MDMA, 5 – 10 horas) (CHIANG, 2011; DE LA TORRE et al., 2004; KRAEMER; MAURER, 2002).

O MDMA tem cerca de um décimo do efeito estimulante comparado à anfetamina, no entanto, seu mecanismo de ação envolve preferencialmente à liberação de serotonina. A concentração de MDMA necessária para estimular a liberação desse neurotransmissor é dez vezes menor do que a requerida para a liberação de dopamina ou norepinefrina. Os efeitos agudos incluem a dilatação das pupilas, ranger dos dentes, perda de apetite, boca seca e taquicardia. Os efeitos relacionados ao uso prolongado incluem insônia, depressão, dores de cabeça e rigidez muscular. Uma das consequências clínicas mais comumente reportadas à utilização do *ecstasy* tem sido a hipertermia e/ou hiperpirexia e esse efeito tem sido relacionado com mortes decorrentes do uso dessa substância. Infelizmente, a extensão do problema não é conhecida, uma vez que apenas uma pequena fração dos indivíduos procuram cuidados médicos. A hipertermia é acompanhada geralmente por um número de problemas clínicos, incluindo crises convulsivas,

coagulação intravascular disseminada, rabdomiólise, insuficiência renal e hepática, que pode ser induzida ou exacerbada pela hipertermia (FREEDMAN; JOHANSON; TANCER, 2005; GOWING et al., 2002).

Os opiáceos são substâncias encontradas na planta conhecida popularmente como papoula (*Papaver somniferum*). Sua utilização para o alívio da dor já era realizado há mais de 4.000 anos na história da humanidade. No entanto, a morfina só foi isolada em 1803 por Friedrich Serturner na Alemanha. Essas substâncias são consideradas os agentes analgésicos mais potentes existente, no entanto com grande potencial de causar dependência, além de promover outros efeitos adversos graves como depressão respiratória, constipação e tolerância (DACHER; NUGENT, 2011; IWAI et al., 2012). Além do uso recreacional como droga de abuso, o uso prescrito dessas substâncias também está aumentando de forma alarmante. De acordo com a UNODC as utilizações dessas substâncias afetam cerca de 0,4% da população mundial entre 15 e 64 anos. Embora a *Cannabis* seja a droga mais consumida no mundo, são os opiáceos que causam o maior impacto negativo na saúde (UNODC, 2017).

Os efeitos dos opiáceos é decorrente da sua interação com receptores opioides (μ (mi), κ (kappa) e δ (delta)) distribuídos por várias estruturas no SNC. Dentre os tipos de receptores, a morfina, a codeína e a heroína promovem seus efeitos de analgesia, euforia, miose, depressão respiratória e dependência por meio da interação com os receptores μ. A intoxicação ocorre com uma concentração de morfina de 1 $\mu g.mL^{-1}$ aproximadamente (OLIVEIRA; CAMARGO, 2014).

A morfina é bem absorvida e sofre biotransformação principalmente por glicuronidação formando a morfina-3-glicuronideo e morfina-6-glicuronideo. Este último é considerado um produto ativo e possui afinidade pelos receptores μ, sendo mais potente que a própria morfina; no entanto com pouca possibilidade de atravessar a barreira hematoencefálica. A principal via de eliminação dessa substância é por via renal (SANCHES et al., 2012).

Nas análises toxicológicas, somente a detecção de morfina não é suficiente para a interpretação do resultado. O entendimento do processo de biotransformação dos opiáceos é essencial para diferenciar o consumo de morfina, heroína e codeína. Após o consumo de heroína, ela é biotransformada em 6-monoacetilmorfina, que por meio da desacetilação é convertida em morfina (**Figura 7**). Portanto, a presença do produto 6-monoacetilmorfina é essencial para diferenciar o consumo de heroína e

morfina. A codeína também é biotransformada em morfina (reação de desmetilação), dessa forma a análise de codeína, além da morfina também deve ser realizada durante o procedimento analítico.

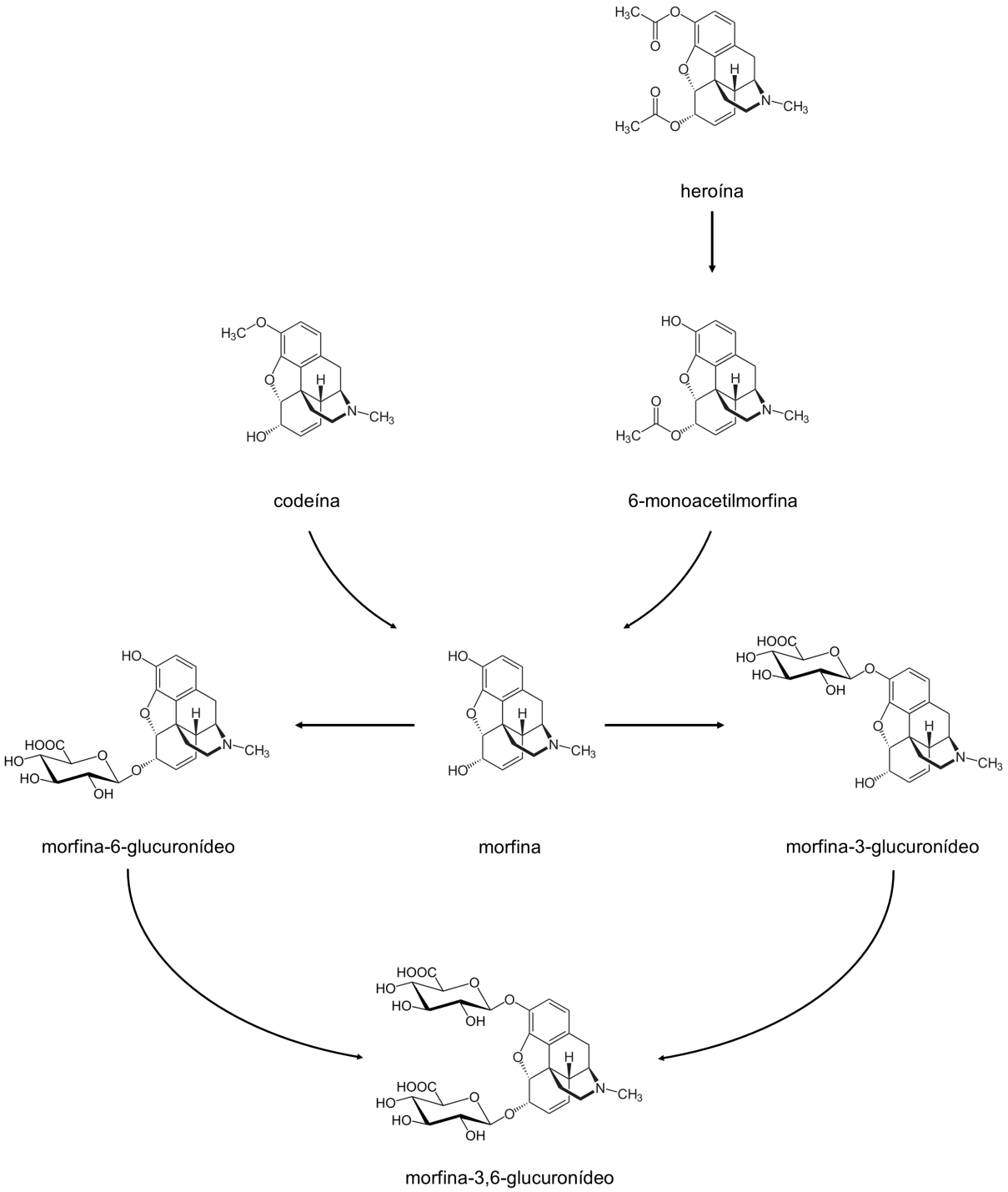


Figura 7. Mecanismo de biotransformação dos opiáceos.

Praguicidas carbamatos

A exposição a altos níveis de praguicidas, tanto de forma ocupacional quanto por tentativas de suicídio, é considerada um problema alarmante, em especial nos países onde esses produtos altamente tóxicos estão prontamente disponíveis à população (AMENO et al., 2001; FREIRE; KOIFMAN, 2013; KING; AARON, 2015).

Os praguicidas carbamatos estão incluídos na lista da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos – EPA, no intuito de regulamentar o registro, a venda e as condições de uso destes produtos. A elevada toxicidade dos carbamatos, mesmo em baixas concentrações, criou interesse em sua determinação em diversas matrizes. Os principais representantes dessa classe de praguicidas estão o aldicarbe e o carbofuran (GOURLART et al., 2010). As estruturas destes compostos são mostradas na **Figura 8.**

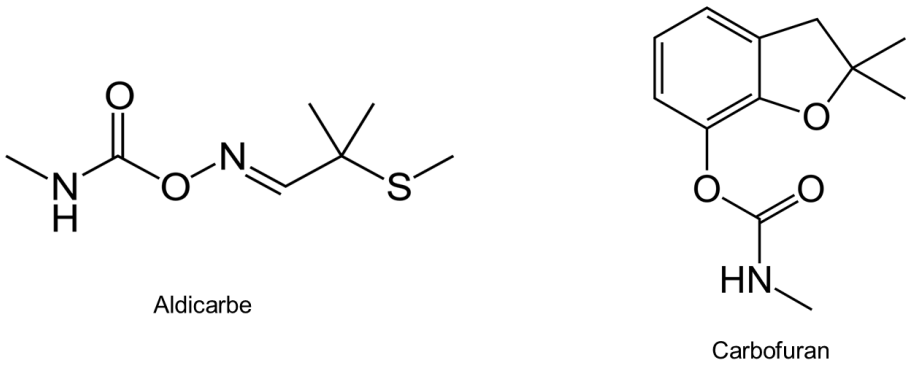


Figura 8. Estrutura dos praguicidas carbamatos aldicarbe e carbofuran.

O aldicarbe (*2-metil-2*(metiltio)-propionaldeído O-(metilcarbamoil) oxima), também conhecido no Brasil com o nome de “chumbinho”, devido ao seu aspecto físico semelhante a pequenos grânulos de chumbo, é um rodenticida ilegal usado no Brasil desde a década de 1990. O aldicarbe foi sintetizado na década de 1960 e introduzido como produto de uso agrícola na década de 1970. De acordo com a OMS esse produto é classificado como extremamente perigoso (Classe Ia, LD50 em ratos 0,93 mg/kg) (BUCARETCHI et al., 2012). O aldicarbe teve seu registro suspenso no Brasil em outubro de 2012 devido à alta incidência de intoxicações

humanas e de envenenamento de animais, devido ao desvio de uso do referido agrotóxico (ANVISA, 2017a).

O carbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-benzofurano-7-metilcarbamato) é um carbamato inseticida e nematicida de amplo espectro. De acordo com a classificação recomendada pela OMS, foi classificado como classe tóxica Ib (LD50 em ratos 8 mg / kg). O carbofuran está disponível em formulações líquidas e granuladas (PINAKINI; KUMAR, 2006; TENNAKOON; KARUNARATHNA; UDUGAMPALA, 2013). Até o ano de 2017 o carbofuran foi comercializado e utilizado em diversas produções agrícolas. No entanto, no final do referido ano a Diretoria Colegiada da Anvisa – Dicol, finalizou a reavaliação toxicológica do ingrediente ativo, iniciada em 2008. A deliberação é pelo banimento após seis meses de prazo para descontinuação do uso. A decisão foi tomada após a conclusão que o uso regular do praguicida resulta em níveis residuais em alimentos, o que tem potencial de causar toxicidade frente a exposição à esse composto (ANVISA, 2017b).

O mecanismo de ação dos carbamatos ocorre por meio da inibição enzimática, mais especificamente, da acetilcolinesterase, constituindo assim o principal alvo da toxicidade. A inibição dessa enzima resulta no acúmulo de acetilcolina nas terminações nervosas, o que promove um quadro clínico constituído por efeitos muscarínicos, nicotínicos e do SNC. A estimulação excessiva dos receptores muscarínicos produz salivação, lacrimejamento, miose intensa e broncoespasmos. A toxicidade no SNC pode se manifestar como cefaleias, tonturas, desconforto, agitação, ansiedade e tremores (BUCARETCHI et al., 2012; KING; AARON, 2015; WASEEM et al., 2010).

Os carbamatos são rapidamente absorvidos através do trato gastrointestinal. O processo de biotransformação do aldicarbe envolve reações de hidrólise e oxidação originando compostos ativos (sulfóxido e sulfona) que inibem a enzima colinesterase. É excretado completamente na urina dentro de 24 horas. A meia-vida desses praguicidas variam de minutos a poucas horas dependendo do composto e da via de administração (BUCARETCHI et al., 2012; WASEEM et al., 2010).

O diagnóstico é realizado por meio da sintomatologia do paciente e no reconhecimento da síndrome colinérgica. Pode ser ainda verificado a atividade da colinesterase. O tratamento das intoxicações por carbamatos incluem tratamento de suporte e medidas específicas como a administração de atropina. O uso de oximas

em intoxicação por carbamato ainda é bastante controverso (BUCARETCHI et al., 2012; KING; AARON, 2015; WASEEM et al., 2010).

1.3 Métodos analíticos

As análises toxicológicas de urgência devem ser solicitadas sempre que o médico clínico, ao atender um paciente, suspeitar de uma intoxicação ou necessitar de um diagnóstico diferencial. Considerando o amplo espectro de substâncias químicas que podem estar envolvidas e, frequentemente, a ausência de informação sobre o histórico do paciente, a correta confirmação e quantificação de substâncias químicas se torna uma ferramenta de fundamental importância para a eficaz interpretação dos resultados e também para a elucidação da intoxicação. Diante disso, técnicas de identificação foram estudadas, desenvolvidas e colocadas em prática. Partiram de níveis simples de complexidade, chegando aos dias atuais aos mais avançados níveis moleculares. Com o dinamismo dessa ciência, o aperfeiçoamento das técnicas tende a evoluir cada vez mais, acompanhando a evolução tecnológica dos recursos disponíveis às pesquisas científicas (BREAUD et al, 2010; LANGMAN; KAPUR, 2006; LINDEN et al, 2007).

Para o adequado diagnóstico e tratamento no departamento de emergência, muitas vezes é necessário saber se a condição de um paciente pode ser explicada pela intoxicação com fármacos, drogas de abuso ou praguicidas. Assim, o *screening* toxicológico é normalmente conduzido quando o paciente se apresenta sintomático ou com histórico de ingestão de determinada substância (ATTEMA-DE JONGE; PEETERS; FRANSSEEN, 2012).

Geralmente, o sangue (plasma, soro ou sangue total) representa a matriz de escolha nas análises toxicológicas emergenciais, pois os efeitos farmacológicos e tóxicos podem ser, na maioria das vezes, correlacionados com a concentração plasmática do analito. Contudo, as concentrações sanguíneas do analito caem abaixo dos níveis detectáveis dentro de poucas horas após o consumo; assim, a utilização da urina pode ser útil nesses casos. O período de detecção da urina é apropriado, podendo refletir o uso de substâncias e/ou os produtos de biotransformação com um intervalo maior de tempo entre a exposição e a análise laboratorial. Uma grande variedade de substâncias de interesse toxicológico pode ser detectada no sangue ou também na urina, em uma única análise desde que os

procedimentos de extração não seletivos sejam utilizados para reduzir os efeitos da matriz e potenciais interferências. Quando não há conhecimento dos analitos ou interferentes presentes na amostra, os procedimentos preliminares de triagem mostram-se necessários para a identificação da substância envolvida (BERGO, 2007; DE BRABANTER et al., 2013; LI et al., 2013; MAURER, 2005, 2007b, 2012; OLIVEIRA et al., 2008; PANTALEÃO; PARANHOS; YONAMINE, 2012; PRAGST, 2007; PIZZOLATO; ALDA; BARCELÓ, 2007; SCHEIDWEILER; DESROSIERS; HUESTIS, 2012; VERSTRAET; PEAT, 2011; VINCENTI et al., 2013).

A capacidade de identificação e quantificação de analitos desconhecidos em matrizes biológicas é de interesse das diversas áreas da sociedade, incluindo serviços hospitalares de emergência, patologistas forenses, investigação criminal entre outras. A maioria dos métodos analíticos são baseados em cromatografia gasosa ou líquida, sendo a cromatografia gasosa (GC) fortemente associada com a separação de compostos orgânicos voláteis. Os principais detectores acoplados aos sistemas de GC são o detector de ionização de chama (GC-FID), detector de nitrogênio-fósforo (GC-NPD) e o espectrômetro de massas (GC-MS). O FID é o detector mais popular para cromatografia gasosa. Ele fornece uma resposta quase universal aos compostos orgânicos, baixos limites de detecção, simplicidade de operação, uma resposta rápida e uma faixa linear de resposta excepcional. Atualmente, o GC-MS é utilizado nas análises toxicológicas confirmatórias, devido, em parte, à sua especificidade, mas também pela disponibilidade de grandes bibliotecas de espectros de massas por ionização por elétrons. No entanto, uma vez que essa técnica é limitada à análise de compostos voláteis e termicamente estáveis, além de geralmente requerer uma derivatização específica para analitos polares, outros métodos cromatográficos têm se destacado (FREDERICK; BISSELL, 2012; POOLE, 2015; WOOD et. al., 2006, VINCENTI et al., 2013).

O sistema de HPLC-DAD é considerado uma ferramenta analítica útil que permite a detecção satisfatória, a identificação e quantificação de substâncias em análises toxicológicas sistemáticas e também na monitorização terapêutica de fármacos. O HPLC-DAD tem se mostrado uma técnica adequada às análises toxicológicas, especialmente devido à alta sensibilidade, reprodutibilidade e capacidade de separação, além de permitir a quantificação simultânea de vários compostos, algo que não pode ser feito com os métodos imunológicos mais frequentemente utilizados em laboratórios clínicos (ALABDALLA, 2005; FLORIANI et

al., 2014; MORENO; NAVAS; ASUERO, 2014; PRAGST; HERZLER; ERXLEBEN, 2004).

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) tornou-se cada vez mais importante nos últimos anos, pois combinam a elevada seletividade da detecção por espectrometria de massas com a possibilidade de analisar diretamente amostras aquosas e analitos hidrofílicos, termolábeis e não voláteis. A elevada sensibilidade do LC-MS proporciona uma alternativa atrativa comparada aos outros métodos (GC-NPD, GC-MS e HPLC), se tornando assim método de escolha por laboratórios de toxicologia forense e clínica. Todavia, sua principal desvantagem é o alto custo inicial (MAURER, 2007b; PETERS, 2011; VIETTE; HOCHSTRASSER; FATHI, 2012).

1.4 Análise estatística multivariada

Nos últimos anos, as pesquisas científicas estão utilizando métodos de análises multivariados para verificarem se as variáveis possuem correlação. Como exemplo a classificação de leucemias (BINET, 1981), o fator de predição de resultado após tratamento para fumantes (RICHMOND; KEHOE; WEBSTER, 1993), simulação de probabilidades estatísticas (MAVRIS; BANDTE, 1997), a avaliação de variabilidade química de plantas (OLIVEIRA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2008; TRESVENZOL et al., 2010), entre outros.

De acordo com a *Pan American Health Organization*, a criação e manutenção de um banco de dados confiável auxilia nas intervenções em saúde e favorece a identificação das população-alvo e suas suscetibilidades. Assim, recomenda-se que médicos, especialistas, legisladores e administradores em saúde adotem em sua rotina uma coleta de dados sistêmica e integrada para o mapeamento e caracterização das intoxicações. Neste cenário, técnicas de análises multivariadas podem ser empregadas para evidenciar diversas intercorrelações; contudo, seu uso ainda não é comum em toxicologia clínica (DESCOTES; TESTUD, 2005; PAHO, 2009).

De acordo com Hair Jr et al. (2009), a utilização da análise multivariada fornece informações potencialmente úteis e que não seriam alcançadas apenas com a avaliação entre duas variáveis. Hardyck e Petrinovich (1976) publicaram em 1976 um livro afirmando que os métodos estatísticos multivariados seriam muito

explorados no futuro e que a utilização dessas ferramentas auxiliaria os pesquisadores de diversas áreas a solucionar seus problemas e planejar as pesquisas. E atualmente, com o avanço e desenvolvimento da tecnologia computacional e o crescente número de *softwares* estatísticos que possuem ferramentas de análise multivariada, como por exemplo, SAS, MINITAB, BMDP, STATISTICA, S-PLUS, SYSTAT, ORIGIN e R, promoveram a expansão e a utilização dessas técnicas estatísticas favorecendo assim, a difusão desses conhecimentos entre o meio acadêmico (PARREIRA, 2003).

Os métodos estatísticos que analisam determinadas variáveis podem ser divididos em técnicas univariadas e multivariadas. A análise univariada correlaciona apenas uma variável com sua resposta, já a análise multivariada corresponde às técnicas que utilizam, simultaneamente, todas as variáveis na interpretação teórica do conjunto de dados obtidos. As técnicas estatísticas multivariadas permitem avaliar um conjunto que dados que devem estar dispostos em uma matriz $X_{(n \times p)}$, onde *n* são os objetos (amostras, indivíduos, substâncias) e *p* são as variáveis que serão analisadas (absorbâncias em diferentes comprimentos de onda, tempo de retenção, concentração plasmática). Para escolher o tipo de análise multivariada devem ser consideradas as características das variáveis, ou seja, se ela é dependente ou não. Caso haja dependência entre as variáveis podem ser utilizadas a regressão múltipla e regressão logística. Caso não haja dependência entre as variáveis pode-se utilizar a análise fatorial e análise discriminante. Há ainda métodos estatísticos que geralmente são utilizados para verificar a correlação entre determinadas amostras, entre eles: a análise hierárquica de cluster ou HCA (do *inglês Hierarchical Cluster Analysis*); a análise de componentes principais ou PCA (do *inglês Principal Component Analysis*) e a análise de correspondência múltipla ou MCA (do inglês *Multiple Correspondence Analysis*) (BEEBE; PEEL; SEASHOLTZ, 1998; HAIR JR et al., 2009; JOHNSON; WICHERIN, 2007; NETO, 2004; PARREIRA, 2003; REIS, 2002; RINGNÉR, 2008; WERNER, 2003).

A HCA é um método de análise estatística que busca classificar e agrupar as amostras que se correlacionam, baseando na similaridade em um mesmo grupo e nas diferenças entre os membros de classes diferentes por meio de medidas de proximidades, sendo que quanto menor a distância entre as amostras maior será a sua similaridade. Para classificar ou estipular a distância existente entre dois objetos, pode-se empregar o coeficiente de correlação de *Pearson*, a distância

Euclidiana ou a distância de Manhattan. Os resultados gerados são representados em forma de um gráfico denominado dendograma, onde é possível visualizar os grupos formados e a similaridade entre as amostras e/ou variáveis (BRATCHELL, 1989; HAIR JR et al., 2009; HELFER et al., 2006).

A PCA é um algoritmo matemático que consiste em identificar dentro de um hiperespaço qual direção que contém o maior número de informações. Por meio de projeções dos resultados analíticos de cada amostra no espaço formado pelas novas componentes principais é possível demonstrar diferenças entre as amostras, determinando quais as principais variáveis envolvidas. O fundamento central da PCA é reduzir a dimensão de um conjunto de dados em que há um grande número de variáveis inter-relacionadas, mantendo o máximo possível da variação presente no conjunto de dados. Assim, ao se aplicar a PCA em um conjunto de amostras, por exemplo, o conjunto original é substituído por um novo conjunto de amostras denominado de componentes principais (CPs), que são correlacionadas e que são ordenadas de modo que os primeiros CPs retenham a maior parte da variação presente em todas as variáveis estudadas. As amostras podem em seguida serem representadas graficamente, tornando possível avaliar visualmente suas diferenças e semelhanças, definindo ainda se as amostras podem ser agrupadas (BROWN, 1995; FERREIRA, 2002; JOLLIFFE, 2002; RINGNÉR, 2008; SABIM; FERRÃO; FURTADO, 2004; WOLD, 1987).

A MCA permite investigar o padrão de relações de várias variáveis categóricas dependentes, sendo considerada útil para mapear variáveis e indivíduos, permitindo assim a construção de mapas visuais complexos cuja estruturação pode ser interpretada.

A concepção geral da MCA, entre outros aspectos, é a inclusão de variáveis categóricas, apropriadas para dados nominais, pois é capaz de transformar dados qualitativos em frequências de dados, ou seja, em dados quantitativos, podendo ser calculados pela HCA. Recebe o nome de MCA pelo fato de estudar a correspondência entre as variáveis e indivíduos (linhas e colunas). Este método permite a visualização gráfica das relações importantes de um grande conjunto de variáveis entre si (categóricas e contínuas categorizadas ou contínuas ilustrativas) (CARVALHO; STRUCHINER, 1992; ABDI; VALENTIN, 2007; AYELE; ZEWOTIR; MWAMBI, 2014).

A MCA é considerada a PCA de dados categóricos, pois possui a etapa de transformação dos categóricos em contínuos. A PCA, bem como a MCA, foi utilizada para estabelecer as inter-relações entre as variáveis coletadas, através de multiplicação da matriz original com a matriz transposta (HAIR-JUNIOR, 2009).

A PCA e MCA parte de uma matriz de dados e converge para um gráfico que exibe as linhas e as colunas da matriz como pontos de um espaço vetorial de dimensão menor que a original, de maneira a estabelecer relações entre linhas, colunas e, entre linhas e colunas, que possam ser interpretáveis (GREENACRE; HASTIE, 1987; ABDI; VALENTIN, 2007; GREENACRE, 2007), também calcula os autovalores e determina o quantitativo de informações presentes em cada eixo do gráfico (ABDI; VALENTIN, 2007). Para MCA o quantitativo de informação representado por porcentagem de informação deve ser reavaliado para descontar a superestimação de codificação presentes em cada variável (GREENACRE, 2007).

A análise de regressão logística múltipla (MLRA) explica a probabilidade de um evento binário, utilizada em dados categóricos, que não podem ser explicados pela análise de regressão tradicional usando o modelo do método dos mínimos quadrados (HAIR, 2009).

Diante do exposto, consideramos que a elaboração de bases de dados sobre intoxicações é uma ferramenta essencial no desenvolvimento de programas de toxicovigilância. Além de fornecer informações para aprimorar e auxiliar os profissionais de saúde no atendimento toxicológico de emergência, essas informações são um importante instrumento para o planejamento, organização, desenvolvimento e avaliação das ações pelos serviços de saúde, como também para normalização de atividades técnicas correlatas. Ela deve ser convincente, estendida a todos os níveis da organização, incluindo a população, de forma a desencadear ações para a redução e controle desses riscos e sua eficaz prevenção. Portanto, com o auxílio da análise multivariada nos casos de intoxicação, é possível caracterizar os eventos e fornecer informação suficiente para o embasamento de ações educativas na prevenção de intoxicações, além de assessorar os tratamentos das intoxicações e ampliar a capacidade do diagnóstico de comportamentos suicidas nos serviços de emergência.

OBJETIVO

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar agentes exógenos em amostras biológicas provenientes do Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo (CCI-SP), correlacionando os dados obtidos dessas análises com o desfecho clínico dos pacientes, por meio da análise multivariada.

Para tanto, o plano de trabalho foi desenvolvido conforme o descrito abaixo:

a. O trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Bioética em Medicina do Hospital participante (**ANEXO I**) e também pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP (**ANEXO II**).

b. Amostras de sangue e urina (n = 320) foram coletadas para análise da(s) substância(s) envolvida(s) nas intoxicações utilizando técnicas cromatográficas.

c. Preenchimento da Ficha de Atendimento Hospitalar (**ANEXO III**).

d. Desenvolvimento e validação de métodos para quantificação de álcoois, fármacos, drogas de abuso e substâncias relacionadas e praguicidas em sangue e urina.

e. Tratamento dos dados por meio da análise multivariada e estabelecimento de possíveis correlações entre os indivíduos.

f. Identificação por meio da aplicação da análise multivariada associações entre os resultados analíticos, sintomatologia e prognóstico dos pacientes atendidos no CCI-SP.

Por meio da análise estatística avaliamos as seguintes hipóteses:

H1: os indivíduos agrupados de acordo com o resultado da análise toxicológica em sangue apresentam semelhanças quanto a sintomatologia;

H2: os indivíduos agrupados de acordo com o resultado da análise toxicológica em sangue apresentam semelhanças quanto a avaliação do caso.

MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Reagentes

Os reagentes metanol, acetonitrila, hexano, acetato de etila, ácido acético, ácido fosfórico e ácido fórmico foram obtidos da empresa Merck (Darmstadt, Alemanha). Acetato de amônio, formiato de amônio e hidróxido de sódio foram obtidos da empresa Synth (São Paulo, Brasil). A enzima β-glicuronidase foi adquirida da empresa Sigma-Aldrich (> 99%; St. Louis, EUA).

3.1.2. Padrões

Padrões de referência de paracetamol, antidepressivos (amitriptilina, desipramina, fluoxetina, imipramina, norfluoxetina, nortriptilina, paroxetina, sertralina), anticonvulsivantes (carbamazepina, fenobarbital, fenitoína, ácido valpróico), benzodiazepínicos (alprazolam, aminoclonazepam, bromazepam, clonazepam, clordiazepóxido, diazepam, flunitrazepam, midazolam, nitrazepam, nordiazepam, oxazepam, temazepam) e drogas de abuso e substâncias relacionadas (6-acetilmorfina, AEME, anfetamina, benzoilecgonina, cocaetileno, cocaína, codeína, MDA, MDMA, metanfetamina, morfina, norcocaina, THC-COOH) na concentração de 1 $mg.mL^{-1}$ em metanol ou acetonitrila, foram adquiridos da empresa Ceriliant Corporation (Round Rock, EUA). Padrões internos deuterados (6-acetilmorfina-d_3, aminoclonazepam-d_4, amitriptilina-d_5, benzoilecgonina-d_3, cocaetileno-d_3, cocaína-d_3, codeína-d_3, desipramina-d_3, fenobarbital-d_5, fluoxetina-d_6, imipramina-d_3, MDA-d_5, MDMA-d_5, morfina-d_3, nordiazepam-d_5, norfluoxetine-d_6, nortriptilina-d_3, oxazepam-d_5, THC-COOH-d_3) na concentração de 100 $\mu g.mL^{-1}$ em metanol ou acetonitrila, foram adquiridos da empresa Ceriliant Corporation (Round Rock, EUA). Etanol e metanol foram obtidos da empresa Merck (> 99.9%; Darmstadt, Alemanha). Difenilamina, *n*-propanol, aldicarbe e carbofuran foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich (> 99%; St. Louis, EUA).

3.1.3 Equipamentos

3.1.3.1 Equipamentos básicos

Foram utilizados os seguintes equipamentos para a realização dos procedimentos experimentais: Agitador multi-tubo (modelo VX-2500, VWR, EUA), centrífuga (modelo 5702, Eppendorf, Alemanha), microcentrífuga (modelo Mikro 120, marca Hettich, Alemanha), concentrador de amostra com fluxo de nitrogênio (Reacti-therm III, Thermo Fischer Scientific, Alemanha) e balança analítica (modelo AT261–DeltaRange, EUA). Colunas analíticas para cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram obtidas das empresas Phenomenex (Torrence, EUA) e Restek (Bellefonte, USA). A água utilizada nos experimentos e sistemas analíticos foi deionizada em um sistema Milli–Q (Millipore, Bedford, EUA).

3.1.3.2 GC-FID

Para a determinação de álcoois foi utilizado um cromatógrafo gasoso série 6890 (Hewlett Packard, EUA), com detector de ionização de chama (GC-FID). O cromatógrafo foi equipado com coluna capilar de sílica fundida Poraplot-Q (Varian, Holanda) com as dimensões de 10 m x 0,32 mm x 5µm. As injeções foram realizadas manualmente com uma seringa *gas-tight* de 500 µL (Hamilton, EUA). Os dados foram processados utilizando o software HPCHEM (Hewlett Packard, EUA).

3.1.3.3 HPLC–DAD

As análises de fármacos e drogas de abuso foram realizadas utilizando o sistema analítico constituído por um cromatógrafo líquido com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) série 2030LC 3D (Shimadzu, Japão). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Luna C18 (2) 250 mm x 4,6 mm, ID, 5 µm, (Phenomenex, Torrance, CA) com uma pré-coluna C18 4,0 x 3,0 mm (Phenomenex, Torrance, CA). Os dados foram processados utilizando o software LabSolutions® Multi PDA (Shimadzu, Japão).

Para a obtenção dos cromatogramas os dados brutos foram extraídos do software LabSolutions® e plotados no programa Microsoft Excel® 2016. A otimização

dos sistemas e as condições cromatográficas empregadas são descritas no decorrer do texto.

3.1.3.4 UHPLC-ESI-MS/MS

As análises confirmatórias em sangue e o método de *screening* em urina foram desenvolvidos no equipamento de UHPLC série Nexera X2 Shimadzu (Tóquio, Japão), equipado com duas bombas em modo binário (LC-30AD), forno para coluna (CTO-30A), injetor automático (SIL-30AC), controlados por um módulo de comunicação (CBM-20A) e pelo software LabSolutions® 5.85 (Shimadzu, Japão). Foi utilizada uma coluna Coluna Raptor bifenil 50 mm x 3 mm, ID, 2.7 µm, (Restek, USA). O sistema de UHPLC é integrado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo modelo LC-MS 8050 (Shimadzu, Japão) disponibilizado pela empresa Shimadzu do Brasil. O espectrômetro de massas foi operado em modo de monitoramento de reação múltipla (MRM). Para a obtenção dos cromatogramas e resultados os dados brutos foram extraídos do software LabSolutions® e plotados no programa Microsoft Excel® 2016.

3.1.4 Amostras

Amostras negativas

Amostras de sangue e urina negativas foram obtidas de voluntários que declararam a não utilização de qualquer substância elencada nesse estudo. Para a verificação da negatividade, uma alíquota de cada amostra foi extraída e analisada de acordo com os métodos propostos no **item 3.2** de **Material e Métodos**.

Amostras

As amostras biológicas (sangue e urina) foram coletadas, pela equipe de saúde sob a responsabilidade da Dra. Ligia Veras Gimenez Fruchtengarten (Diretora Clínica, CCI-SP), de pacientes com suspeita de intoxicação, passíveis de análises toxicológicas, atendidos pelo CCI de São Paulo durante o período de dezembro de 2014 à dezembro de 2017. Durante o atendimento foi aplicado o Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE; **ANEXO IV**) e, somente após a autorização do paciente, as amostras foram incluídas no estudo. Pacientes com idade inferior a 18 anos e/ou em estado inconsciente somente foram incluídos no estudo mediante a autorização de um responsável legal. Após a coleta, as amostras de sangue (aproximadamente 3 mL, em tubos Vacutainer® com EDTA) e urina foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Toxicológicas da Universidade de São Paulo (LAT-USP), onde se procederam as análises descritas nos itens subsequentes. Concomitantemente, foi preenchida a Ficha de Atendimento Hospitalar padronizada pelo CCI-SP, onde foram coletadas informações como idade, sexo e peso do indivíduo, tipo de ocorrência, circunstância, via de exposição, tipo de exposição, manifestações clínicas, provável substância utilizada e exames laboratoriais.

3.1.5 Analitos

A escolha dos grupos de agentes exógenos (medicamentos, drogas de abuso e praguicidas) segue em concordância com os registros do banco de dados do SINAN (SINAN, 2016). Os analitos determinados na análise de *screening* em sangue por HPLC, foram selecionados com base na ocorrência dos atendimentos dos casos de intoxicação do CCI-SP, durante o período de 2013 – 2014 (registro interno). Para o método de *screening* em urina e confirmação em sangue por UHPLC-ESI-MS/MS foram avaliados um maior número de analitos. Dessa forma, a **Tabela 1** descreve as substâncias analisadas em cada método desenvolvido durante o trabalho.

Tabela 1. Analitos estudados em cada método de análise separados por classes de substâncias.

		Substâncias					
		Analgésico	**AC**	**AD**	**BZD**	**Drogas e substâncias relacionadas**	**Praguicidas**
Métodos	Triagem em sangue (HPLC-DAD)	Paracetamol	Carbamazepina Fenitoína Fenobarbital	Amitriptilina Desipramina Fluoxetina Imipramina Nortriptilina Paroxetina Sertralina	Alprazolam Bromazepam Clonazepam Diazepam Oxazepam Nordiazepam	Cocaína Cocaetileno	Aldicarbe Carbofuran
	Confirmação em sangue (UHPLC-ESI-MS/MS)	Paracetamol	Ácido valpróico Carbamazepina Fenitoína Fenobarbital	Amitriptilina Desipramina Fluoxetina Imipramina Norfluoxetina Nortriptilina Paroxetina, Sertralina	Alprazolam Aminoclonazepam Bromazepam, Clonazepam Clordiazepóxido, Diazepam Flunitrazepam, Midazolam Nitrazepam, Nordiazepam Oxazepam, Temazepam	6-Acetilmorfina, AEME Anfetamina, Benzoilecgonina, Cocaína, Cocaetileno Codeína, MDA, MDMA, Metanfetamina Morfina, Norcocaína	Aldicarbe Carbofuran
	Screening em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)	Paracetamol	Ácido valpróico Carbamazepina Fenitoína Fenobarbital	Amitriptilina Desipramina Fluoxetina Imipramina Norfluoxetina Nortriptilina Paroxetina Sertralina	Alprazolam Aminoclonazepam Bromazepam, Clonazepam Clordiazepóxido, Diazepam Flunitrazepam, Midazolam Nitrazepam, Nordiazepam Oxazepam, Temazepam	6-Acetilmorfina, AEME Anfetamina Benzoilecgonina Cocaína, Cocaetileno Codeína, MDA, MDMA, Metanfetamina Morfina, Norcocaína THC-COOH	Aldicarbe Carbofuran
	Alcoolemia (GC-FID)	-	-	-	-	Etanol Metanol	-

*AC, anticonvulsivantes; AD, antidepressivos; BZD, benzodiazepínicos.

3.2 Métodos

3.2.1 Determinação de álcoois em sangue

Uma alíquota de 500 µL da amostra de sangue total foi transferida para um frasco de *headspace* de 6 mL, adicionaram-se 500 µL de água destilada e 1000 µL de *n*-propanol 0,6 $g.L^{-1}$ (IS; padrão interno). O frasco foi lacrado utilizando uma tampa de alumínio com septo de borracha e colocado na estufa a 70 ºC durante 30 minutos. Após esse período recolheu-se, com o auxílio de uma seringa *gas-tight,* 500 µL do vapor e injetou-se diretamente no equipamento GC-FID, descrito no item **3.1.3.2** de **Material e Métodos**. A seguinte condição cromatográfica foi utilizada para as análises: coluna Poraplot-Q (10m x 0,32 mm x 5µm); gás de arraste: nitrogênio, a um fluxo de 1,5 $mL.min^{-1}$; temperatura do injetor: 250 ºC; temperatura do detector: 280 ºC; temperatura do forno: 120 ºC (modo de operação isotérmica). Tempo total de corrida: 15 minutos.

3.2.2 Determinação de substâncias em sangue por HPLC-DAD

Para a determinação dos fármacos e drogas de abuso em sangue foi utilizada a extração líquido-líquido (LLE) baseada na técnica de Vosough, Ghafghazi e Sabetkasaei (2014). As amostras foram preparadas em tubos de centrífuga de 15 mL, adicionando-se 500 µL de sangue, 500 µL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M para ajustar o pH em 12, 50 µL de solução de difenilamina (IS; 100 $\mu g.mL^{-1}$), 3 mL de acetato de etila e 1 mL de hexano. A mistura foi homogeneizada em *vórtex*, agitada por 10 minutos a 1800 rpm e centrifugada a 4.000 rpm por 10 min. Em seguida, a fase orgânica foi transferida para tubos de centrífuga de 15 mL, evaporada sobre fluxo de nitrogênio a temperatura ambiente e o extrato seco foi ressuspendido com 50 µL de metanol. Terminado esse procedimento, alíquotas de 20 µL foram injetadas no equipamento de HPLC-DAD, descrito no item **3.1.3.3** de **Material e Métodos**. Utilizou-se a seguinte condição cromatográfica: eluição com um gradiente de água com ácido fosfórico (0,09%, v/v) (Solução A) e metanol (Solução B), a 40 ºC, com fluxo de 0,5 $mL.min^{-1}$ (0 – 10 min, 15 – 45% de B; 10 – 48 min, 45 – 85% de B; 48 – 50 min, 85 – 15% de B; 50 – 60 min, 15% de B). O

detector de DAD foi fixado em 230 nm para o monitoramento dos analitos, com exceção da imipramina e da difenilamina monitorados em 280 nm.

3.2.3 Determinação de praguicidas em sangue por HPLC-DAD

O método de extração de praguicidas (aldicarbe e carbofuran) em sangue foi o mesmo utilizado para extração das demais substâncias, como descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos**. Terminado esse procedimento de extração, alíquotas de 10 µL foram injetadas no equipamento de HPLC-DAD, descrito no item **3.1.3.3** de **Material e Métodos**. Utilizou-se a seguinte condição cromatográfica: coluna Luna C18 (2) 250 mm x 4,6 mm, ID, 5 µm, (Phenomenex, Torrance, CA) com pré-coluna C18 4,0 x 3,0 mm (Phenomenex, Torrance, CA); eluição com um gradiente de água com ácido fosfórico (0,09%, v/v) (Solução A) e acetonitrila (Solução B), a 40 ºC, com fluxo de 0,8 $mL.min^{-1}$ (0 – 2 min, 50% de B; 2 – 11 min, 50 – 90% de B; 11 – 12 min, 90 – 50% de B; 12 – 20 min, 50% de B). O detector de DAD foi fixado em 247 nm para o monitoramento do aldicarbe e 280 nm para o monitoramento do carbofuran e do padrão interno difenilamina.

3.2.4 Método de screening em urina por UHPLC-ESI-MS/MS

As amostras de urina foram analisadas no método de *screening* multi-analitos. Em 100 µL de urina foram adicionados 20 µL do *pool* de padrão interno deuterado (0,5 $\mu g.mL^{-1}$), 75 µL de tampão acetato de amônio 0,2 M (pH 4,8) e 5 µL de enzima β-glicuronidase (500U). A mistura foi homogeneizada em vórtex por 30 segundos e incubada a 55 ºC por 60 minutos para hidrolisar os analitos conjugados com glicuronídeo. Em seguida, foram adicionados 800 µL de uma solução metanol/água (60:40, v/v) e centrifugado a 9000 g por 6 minutos. Uma alíquota de 15 µL foi injetada no equipamento UHPLC-ESI-MS/MS descrito anteriormente (item **3.1.3.4** de **Material e Métodos)**. As seguintes condições foram utilizadas: As análises foram realizadas em modo negativo (ESI-, $[M-H]^-$) para os analitos ácido valpróico, fenobarbital, fenitoína e THC-COOH; e em modo positivo (ESI+, $[M+H]^+$) para as demais substâncias.

Foram utilizados os seguintes parâmetros otimizados: *ESI-*: fluxo do gás de nebulização, 2 $L.min^{-1}$; fluxo do heating gas, 10 $L.min^{-1}$; fluxo do gás de secagem, 10

L.min^{-1}; temperatura da interface, 300 ºC; temperatura do heat block, 400 ºC; temperatura da DL, 250 ºC. O seguinte sistema cromatográfico foi utilizado: Coluna Raptor bifenil 50 mm x 3 mm, ID, 2.7 µm, (Restek, USA) foi eluída com um gradiente de água com 0,2% de ácido acético (Solução A) e acetonitrila (Solução B), a um fluxo de 600 µL.min^{-1}, 45 ºC, nas seguintes condições: 0 – 1,5 min, 35 – 95 % B; 1 – 1,5 min, 95 % B; 1,7 – 1,8 min, 95 – 35% B. O tempo total de corrida foi de 4 minutos.

ESI+: fluxo do gás de nebulização, 2 L.min^{-1}; fluxo do heating gas, 10 L.min^{-1}; fluxo do gás de secagem, 10 L.min^{-1}; temperatura da interface, 300 ºC; temperatura do heat block, 400 ºC; temperatura da DL, 250 ºC. O seguinte sistema cromatográfico foi utilizado: Coluna Raptor bifenil 50 mm x 3 mm, ID, 2.7 µm, (Restek, USA) foi eluída com um gradiente de tampão formiato de amônio 2 mM com 0,1% de ácido fórmico (Solução A) e acetonitrila (Solução B), a um fluxo de 600 µL.min^{-1}, 45 ºC, nas seguintes condições: 0 – 4 min, 8 – 98 % B; 4 – 4,1 min, 98 – 8 % B. O tempo total de corrida foi de 6 minutos.

3.2.5 Análises confirmatórias em sangue por UHPLC-ESI-MS/MS

As amostras foram preparadas em tubo de polipropileno de 1,6 mL, adicionando-se 100 µL de sangue total, 20 µL de *pool* de padrão interno deuterado (0,5 µg.mL^{-1}) e 880 µL de uma solução acetonitrila/metanol (80:20, v/v). A mistura foi homogeneizada em vórtex por 30 segundos e, em seguida centrifugada a 9000 g por 6 minutos. Uma alíquota foi transferida para um vial e 3 µL foram injetados no sistema de cromatografia. As condições utilizadas para as análises no sistema de UHPLC-ESI-MS/MS foram as mesmas descritas no item **3.2.4** de **Material e Métodos**.

As transições utilizadas no MRM e o modo de operação de cada analito são descritas na **Tabela 2**. Os mesmos parâmetros foram utilizados nas análises de *screening* em urina e confirmação em sangue.

Tabela 2. Descrição do modo de ionização, íon precursor, qualificador, quantificadores e padrões internos (IS) utilizados nos métodos por UHPLC-ESI-MS/MS.

Substância	Modo	Íon Precursor (m/z)	QT (m/z)	QL 1 (m/z)	QL 2 (m/z)	IS
6-Acetilmorfina	+	327.90	165.20	211.10	193.10	1
Ácido valpróico	-	143.00	143.00	-	-	10
AEME	+	182.10	91.10	118.10	122.15	16
Aldicarbe	+	270.90	166.10	89.10	-	20
Alprazolam	+	309.25	281.05	205.10	274.10	17
Aminoclonazepam	+	286.70	121.10	122.10	250.25	2
Amitriptilina	+	278.10	233.20	105.05	117.05	3
Anfetamina	+	136.30	91.10	119.10	65.10	4
Benzoilecgonina	+	290.30	168.15	105.05	77.05	5
Bromazepam	+	315.9/317.9	182.05	182.05	290.05	20
Carbamazepina	+	236.95	194.10	192.15	-	20
Carbofuran	+	222.20	123.05	165.10	-	20
Clonazepam	+	316.20	270.05	214.05	241.05	17
Clordiazepóxido	+	300.70	282.15	227.15	-	17
Cocaetileno	+	317.90	196.20	82.15	-	6
Cocaína	+	304.30	182.20	105.00	82.05	7
Codeína	+	300.40	215.10	152.10	165.20	8
Desipramina	+	267.00	72.10	44.05	193.20	9
Diazepam	+	285.20	193.05	154.05	257.10	17
Fenobarbital	-	231.10	41.95	187.95	84.85	10
Fenitoína	-	250.90	208.15	102.10	-	10
Flunitrazepam	+	314.00	268.10	239.10	183.15	17
Fluoxetina	+	309.95	43.95	184.40	-	11
Imipramina	+	281.00	86.10	58.10	193.10	12
MDA	+	180.20	105.05	163.20	135.10	13
MDMA	+	194.20	163.15	105.10	135.10	14
Metanfetamina	+	150.20	91.05	65.05	119.10	15
Midazolam	+	326.20	291.10	223.15	249.10	17
Morfina	+	285.95	152.15	201.20	165.20	16
Nitrazepam	+	281.90	236.10	180.05	207.20	17
Norcocaína	+	290.00	168.15	136.10	108.10	7
Nordiazepam	+	271.20	140.05	165.05	208.05	17
Norfluoxetina	+	296.30	134.15	30.15	-	18
Nortriptilina	+	264.40	233.20	91.05	105.05	19

continua

Tabela 2: Descrição do modo de ionização, íon precursor, qualificador e quantificadores dos métodos por UHPLC-ESI-MS/MS.

Continuação

Substância	Modo	Íon Precursor (m/z)	QT (m/z)	QL 1 (m/z)	QL 2 (m/z)	IS
Oxazepam	+	287.20	241.20	269.05	104.05	20
Paracetamol	+	152.10	110.05	65.05	93.10	16
Paroxetina	+	329.90	192.25	70.10	44.10	20
Sertralina	+	307.70	161.10	277.10	129.10	20
Temazepam	+	301.20	255.15	283.05	177.10	17
THC-COOH	-	343.20	299.30	191.15	-	21
1. 6-Acetilmorfina-d_3	+	331.00	165.15	211.10	193.10	-
2. Aminoclonazepam-d_4	+	290.25	121.10	226.15	254.15	-
3. Amitriptilina-d_3	+	281.10	233.20	91.15	105.05	-
4. Anfetamina-d_5	+	141.15	96.05	124.15	68.05	-
5. Benzoilecgonina-d_3	+	292.95	171.28	105.05	77.15	-
6. Cocaetileno-d_3	+	321.10	199.15	85.15	-	-
7. Cocaína-d_3	+	307.15	185.10	105.00	85.20	-
8. Codeína-d_3	+	303.05	251.25	125.15	165.15	-
9. Desipramina-d_3	+	270.20	75.10	47.10	208.10	-
10. Fenobarbital-d_5	-	236.20	41.95	193.20	84.95	-
11. Fluoxetina-d_6	+	315.95	44.00	154.40	-	-
12. Imipramina-d_3	+	284.15	89.20	61.10	193.20	-
13. MDA-d_5	+	184.95	168.25	110.10	138.10	-
14. MDMA-d_5	+	199.15	165.15	107.10	135.15	-
15. Metanfetamina-d_5	+	155.05	92.10	121.15	93.10	-
16. Morfina-d_3	+	289.15	152.15	153.10	201.10	-
17. Nordiazepam-d_5	+	276.25	140.05	213.25	165.10	-
18. Norfluoxetina-d_6	+	302.30	140.40	30.00	-	-
19. Nortriptilina-d_3	+	267.10	233.20	91.05	105.05	-
20. Oxazepam-d_5	+	292.25	246.10	274.10	109.10	-
21. THC-COOH-d_3	-	346.20	299.30	191.15	-	-

QT, quantificador; QL 1, qualificador 1; QL 2, qualificador 2.

3.2.6 Validação dos Métodos

Os métodos descritos nos itens anteriores foram validados de acordo com guias nacionais e internacionais, estabelecendo-se os parâmetros de limite de

quantificação, linearidade, exatidão, precisão, seletividade, efeito matriz (ME), estabilidade dos analitos na matriz e integridade de diluição. Os ensaios de precisão e exatidão foram realizados utilizando três diferentes concentrações, baixa, média e alta, contemplando a faixa de variação do procedimento, realizando-se seis replicatas por concentração (ANVISA, 2003; INMETRO, 2007; UNODC, 2009).

Os limites de quantificação dos métodos analíticos foram determinados pelo método empírico que consiste em analisar uma série de amostras reconhecidamente negativas e fortificadas com quantidades decrescentes dos analitos de interesse. As análises foram realizadas em sextuplicata e o coeficiente de variação entre as replicatas não deve ser maior que 15% (ANVISA 2003; INMETRO, 2007; PETERS; DRUMMER; MUSSHOFF, 2007; PETERS; MAURER, 2002).

A linearidade foi realizada em amostra negativa (isenta do analito) adicionada com a substância de interesse em diferentes concentrações uniformemente espaçadas e em no mínimo cinco replicatas para cada concentração. O ensaio foi utilizado para verificar se o método era linear com desvio menor ou igual a 20% em relação à concentração para os limites, desvio menor ou igual a 15% em relação às outras concentrações da curva de calibração e o coeficiente de determinação igual ou superior a 0,98 (ANIVSA, 2003; UNODC, 2009). A faixa de linearidade dos fármacos em sangue compreendeu a maior concentração terapêutica até concentrações plasmáticas tóxicas. A equação da reta e o coeficiente de determinação (r^2) foram calculados utilizando o programa GraphPad Prism 5® (San Diego, CA, EUA).

A precisão de um método analítico é geralmente expressa em termos de repetitividade e precisão intermediária. A precisão intermediária (precisão inter-dia) define a habilidade do método em fornecer os mesmos resultados quando as análises são conduzidas no mesmo laboratório, mas em diferentes dias, por diferentes analistas e diferentes equipamentos. De acordo com ANVISA (2003), a determinação da precisão intermediária deve ser realizada em, no mínimo, dois dias diferentes. Assim, as precisões intra e inter-dia foram avaliadas por meio da determinação do coeficiente de variação (CV%) das áreas relativas (razão entre área absoluta do analito e a área absoluta do padrão interno) exibido entre as replicatas (n=6) preparadas em três níveis de concentração e em três dias consecutivos para cada analito estudado. Os resultados obtidos foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) usando “dia” como variável agrupadora. Foram

considerados satisfatórios os valores de coeficiente de variação entre as replicatas menores que 20% para a concentração mais baixa e de 15% para as concentrações mais elevadas.

A exatidão de um método é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. Todos os resultados devem estar entre ± 20% do valor previsto para as concentrações mais baixas e ± 15% em concentrações superiores (ANVISA, 2003; INMETRO, 2007; UNODC, 2009).

Nas análises toxicológicas de emergência, as amostras biológicas são processadas e analisadas logo após sua coleta, de modo que não se faz necessário o estudo de estabilidade de congelamento/descongelamento da matriz e de longo prazo (MEYER; WEBER; MAURER, 2014). No entanto, durante a validação do método para determinação de etanol em sangue por GC-FID, a estabilidade foi avaliada para verificar a possível produção de etanol após o armazenamento das amostras. O estudo da estabilidade dos analitos foi avaliado em longo prazo para amostras armazenadas a -20 ºC durante seis meses. Para o estudo, foi preparada uma solução mãe de sangue negativo, adicionada com solução padrão dos analitos em uma concentração de 0,6 $g.L^{-1}$. Ao término de cada mês foram analisadas três replicatas da amostra e determinada a concentração de etanol e metanol encontradas por meio de uma curva de calibração realizada paralelamente às amostras.

Foram realizados o estudo de estabilidade dos métodos em sangue por HPLC-DAD e urina por UHPLC-ESI-MS/MS. Para avaliar a integridade de diluição das amostras de sangue, foram preparadas amostras fortificadas em duas concentrações, baixa e alta respectivamente: 50 $\mu g.mL^{-1}$ e 300 $\mu g.mL^{-1}$ para o fenobarbital e fenitoína, e 20 $\mu g.mL^{-1}$ e 150 $\mu g.mL^{-1}$ para os fármacos paracetamol e carbamazepina. As amostras nas concentrações baixas foram diluídas 1:5 antes da extração e análise. Da mesma forma, as amostras de concentrações altas foram diluídas 1:10. As amostras de diluição foram então analisadas em sextuplicata e quantificadas por meio de uma curva de calibração preparada no mesmo dia que as amostras. Para o estudo da diluição no método por UHPLC-ESI-MS/MS, foram preparadas amostras de urina fortificadas em duas concentrações, baixa e alta respectivamente: 8 $\mu g.mL^{-1}$ e 30 $\mu g.mL^{-1}$. As amostras nas concentrações baixas foram diluídas 1:10 antes da extração e análise. Da mesma forma, as amostras de

concentrações altas foram diluídas 1:20. As amostras de diluição foram então analisadas em sextuplicata e quantificadas por meio de uma curva de calibração preparada no mesmo dia.

A seletividade do método foi avaliada quanto a interferentes endógenos e exógenos. Neste estudo foram utilizadas amostras isentas do analito para verificar a interferências de composto endógenos. Adicionalmente, foram analisadas dez amostras adicionadas com as seguintes substâncias: lidocaína, nicotina, atenolol, diclofenaco, difenidramina e cafeína.

Para avaliar o efeito matriz do método de UHPLC-ESI-MS/MS foram utilizadas amostras adicionadas na concentração do controle baixo e os ensaios foram realizados seguindo os métodos propostos por Matuszewski, Constanzer e Chavez-Eng (2003) e por Hegstad et al. (2014). Foram analisadas seis amostras de urina e sangue de diferentes indivíduos adicionadas de padrão (concentração do controle baixo) e a resposta foi comparada frente a resposta da análise realizada na mesma concentração na solução diluente, sendo metanol/água nas análises de urina e acetonitrila/metanol nas análises de sangue. As amostras foram preparadas de acordo com os métodos propostos nos itens **3.2.4** de **Material e Métodos** e **3.2.4** de **Material e Métodos.** A fórmula para o cálculo do efeito matriz relativo (ME relativo %) é dada pela Equação (1):

$$ME\ relativo\ \% = \left(\frac{\left({}^{área\ matriz}/_{área\ PI} \right)_n}{Média\ \left({}^{área\ solução\ diluente}/_{área\ PI} \right)} \right) x\ 100$$

Onde *área matriz* representa a área absoluta de cada amostra de urina e sangue, *área solução diluente* a área absoluta das análises nas soluções, *área PI* a área absoluta do padrão interno e *n* o número de análises. Após o cálculo das seis respostas o valor final foi expresso em CV%.

As concentrações das substâncias em sangue foram determinadas por meio do método de quantificação denominado *one-point calibration* ou calibração de um ponto, que pode ser descrita pela função simples $y = C$, em que y é um sinal analítico (área relativa) obtido para o analito e C é uma constante. Este tipo de calibração é frequentemente utilizado em análises de rotina devido a sua eficiência em relação a carga de trabalho e recursos financeiros. A partir dela é possível

reduzir efetivamente o custo e principalmente o tempo da análise, sendo de particular importância na toxicologia de emergência (BROWN; GILLAM, 2012; FORNAL; STACHNIUK, 2012; MEYER; WEBER; MAURER, 2014; PETERS; MAURER, 2007). Para o cálculo foram utilizados controles com concentrações no ponto médio para cada analito.

3.2.7 Análise comparativa entre as concentrações sanguínea e plasmática

Durante o estudo foram obtidas, aleatoriamente, amostras de plasma juntamente com as de sangue total utilizadas no trabalho. Essas amostras foram utilizadas para avaliar a extrapolação realizada entre a concentração sanguínea e a concentração plasmática.

3.2.8 Análise dos dados

Após a aplicação dos métodos desenvolvidos, os resultados obtidos juntamente com as informações contidas nas fichas de atendimento hospitalar foram tratados por meio das análises estatísticas uni e multivariadas para obter o mapeamento dos casos de intoxicações agudas passíveis de análise atendidos no CCI-SP. Os dados foram coletados em planilha de excel para análise estatística. Foram realizadas análises estatísticas descritiva de frequência e análises multivariadas. Os dados coletados na ficha de investigação foram nominais ou categóricas e a quantificação das substâncias químicas foram contínuos.

As análises estatísticas utilizadas neste trabalho foram análise de regressão logística múltipla (MLRA), a análise de correspondência múltipla (MCA), análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de *cluster* (HCA), também chamada de análise de agrupamentos (EVERITT; DUNN, 2001).

A matriz foi formada por variáveis nas colunas e os indivíduos nas linhas. As variáveis estudadas foram: idade, sexo, possível grupo de agente tóxico, tipo de evento (intoxicação, exposição, reação adversa, diagnóstico diferencial), via de exposição (oral, cutânea, respiratória, parenteral, respiratória, ocular, retal, vaginal, transplacentária, aleitamento materno, outra, ignorada), tipo de exposição (aguda única, aguda repetida, crônica, aguda sobre crônica, ignorada), circunstância da exposição (ocupacional, acidental, ambiental, uso terapêutico, prescrição médica

inadequada, erro de administração, automedicação, abuso, tentativa de suicídio, tentativa de aborto, violência/homicídio, outra), manifestações clínicas (gerais, neurológicas/psíquicas, gastrintestinais, respiratórias, cardiovasculares, renais, cutâneo-mucosa), evolução do caso (cura sem sequela, cura com sequela, óbito por intoxicação, óbito por outra causa, perda de seguimento) e o resultados das amostras determinados pela aplicação dos métodos analíticos desenvolvidos.

Para se realizar o tratamento estatístico dos dados, as variáveis foram auto-escalonadas, fornecendo assim diferentes pesos e tornando possível a comparação entre as variáveis. Foi utilizada ainda a análise de regressão logística múltipla (MLRA) para avaliar a variável dependente e prever as mudanças como respostas nas variáveis independentes. A variável dependente ou a variável a ser explicada foi a avaliação, categórica, que foi recodificada em duas categorias, mais grave e menos grave. As variáveis independentes ou variáveis explanatórias foram as varáveis contínuas ou categóricas

As similaridades entre as amostras foi avaliado por meio da HCA com base na distribuição das variáveis. Foi aplicada a técnica do vizinho mais próximo pelo Algoritmo de Benzécri (BENZÉCRI, 1979) para verificar esta similaridade e os agrupamentos hierárquicos foram formados de acordo com o Método de Variância Mínima de Ward (WARD JR, 1963).

Com a MCA foi possível estipular correspondência entre variáveis e indivíduos (linhas e colunas). A partir dos resultados gerados dessas análises foi possível a visualização gráfica das relações importantes de um grande conjunto de dados entre si. A PCA foi utilizada para estabelecer as inter-relações entre as variáveis estudadas, através de multiplicação da matriz original com a matriz transposta.

A MCA foi realizada com todas as variáveis categóricas e contínuas, porém para as categóricas considerou-se valor de $p < 0,05$ e para as variáveis contínuas foi $< 0,5$. A PCA avaliou todas as variáveis contínuas e as variáveis categóricas suplementares, idade (contínua categorizada neste trabalho), gênero, circunstância, agente tóxico e avaliação, considerando valor de $p < 0,05$.

A MLRA foi realizada considerando a variável avaliação como dependente. A variável foi reclassificada em duas categorias, mais grave e menos grave. A mais grave representou as categorias intoxicação grave e moderada, enquanto que a menos grave representou as categorias intoxicação não excluída, provavelmente

não tóxico e intoxicação leve. Também foi considerado valor de p <0,05. A MLRA foi qualificada pelo modelo linear que estabelece um método baseado na pesquisa de *Likelihood*. É estimada pelo "*Odds ratio*" com intervalo de confiança de 95% (HAIR, 2009), que calcula indiretamente o risco relativo. O modelo calculado estabelece uma situação preditiva medido pelo valor de R^2 (HAIR, 2009).

A Análise de Correlação Canônica (CCA) correlacionou várias variáveis dependentes e independentes pelo procedimento SAS CANCOR. Todas as variáveis foram testadas como dependentes e independentes. Avaliou-se a habilidade preditiva pela análise de redundância canônica (SAS, 1996). Utilizou-se o teste de Tuckey para a comparação entre as concentrações das substâncias. Considerou-se valor de p < 0,05 (HAIR, 2009).

Após o tratamento dos dados, os resultados foram expressos por meio de um dendrograma, que representa uma síntese gráfica do trabalho desenvolvido. No dendrograma vertical, a interpretação é realizada da direita para esquerda, onde o eixo y indica as distâncias entre os grupos formados; e o eixo x representa os grupos unidos por ordem decrescente de semelhança, conforme a **Figura 9**.

Para as variáveis contínuas foram aceitos valores de p <0,5 e para as variáveis categóricas valores de p <0,05.

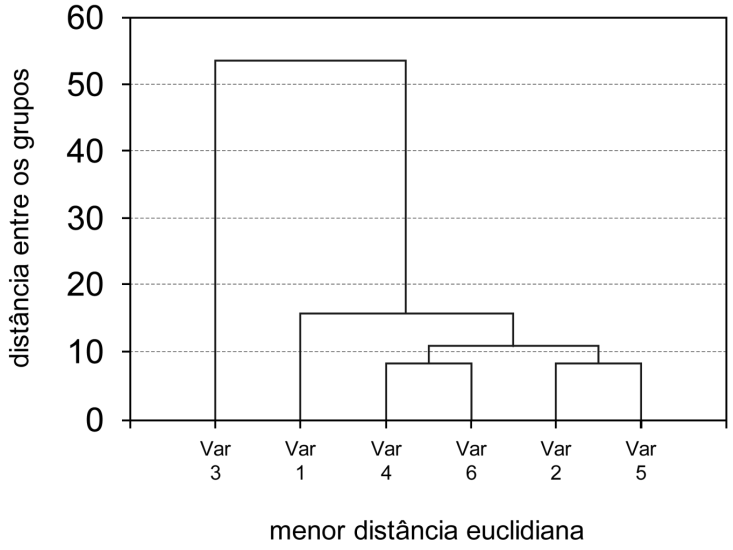


Figura 9. Exemplo de dendrograma da análise hierárquica, com base na distância entre grupos.

O programa estatístico utilizado foi o pacote *Système Portable d`Analyse* - SPAD, Coheris (2010), versão profissional (LEBART; MORINEAU; LAMBERT, 1994) e o Sistema de Análise Estatística/SAS, Cary, NC (1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante o trabalho foram divididos em (*i*) Resultados do desenvolvimento analítico e (*ii*) Resultados da aplicação clínica e análise de dados, sendo a parte analítica subdividida de acordo com o método de análise.

(*i*) Resultados do desenvolvimento analítico

4.1 Determinação de álcoois em sangue

Métodos para a identificação e correta quantificação de álcoois por GC-FID já estão bem estabelecidos na literatura (FELTRACO; ANTUNES; LINDEN, 2009; MONTEIRO et al., 2014; PONTES et al., 2009; TISCIONE et al., 2011; FRANCO DE OLIVEIRA et al., 2016). Devido a sua sensibilidade, precisão e relativa especificidade, esta metodologia foi selecionada para a realização das análises de álcoois descritas neste trabalho. As amostras foram preparadas conforme o descrito no item **3.2.1** de **Material e Métodos**. Na **Figura 10** é apresentado o cromatograma obtido por GC-FID de uma amostra de sangue negativo adicionada com metanol e etanol na concentração de 2 $g.L^{-1}$. As condições cromatográficas selecionadas durante o desenvolvimento do método resultaram em uma considerável resolução e eficiente separação dos analitos. O método foi considerado sensível, rápido, fácil de executar, tornando-o adequado para as análises de emergência.

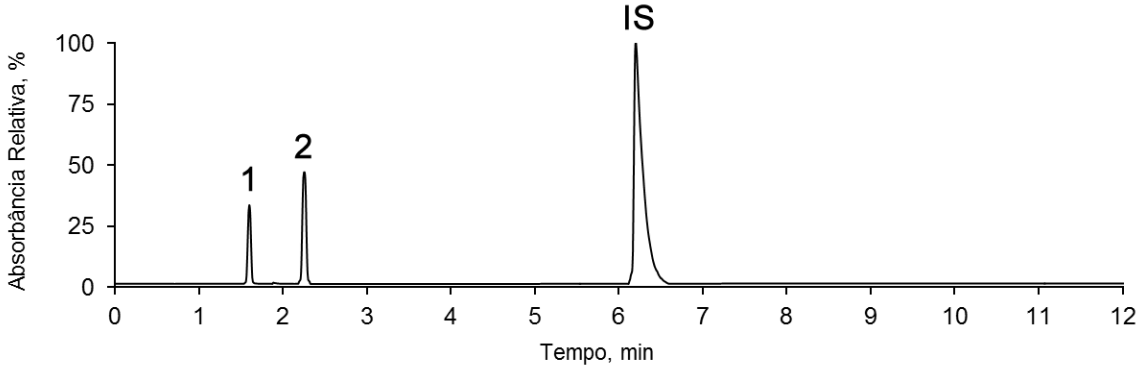


Figura 10. Cromatograma obtido com a análise por *headspace* e GC-FID de sangue adicionado de metanol (1; 1,59 min) e etanol (2; 2,36 min) na concentração de 2 $g.L^{-1}$. IS, padrão interno n-propanol (6,20 min).

4.1.1 Resultados da validação do método

4.1.1.1 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) encontrados no método de determinação de etanol em sangue foram de 0,005 $g.L^{-1}$ e 0,1 $g.L^{-1}$ respectivamente. E para o metanol, o LOD e LOQ encontrados foram 0,01 e 0,1 $g.L^{-1}$ respectivamente. Esses valores foram considerados satisfatórios e são condizentes com a literatura (FELTRACO; ANTUNES; LINDEN, 2009; MONTEIRO et al., 2014; PONTES et al., 2009).

4.1.1.2 Linearidade

A linearidade foi determinada em seis diferentes concentrações, dentro da faixa de trabalho de 0,1 a 5 $g.L^{-1}$ para os dois analitos estudados (**Figura 9** e **Figura 10**). A análise foi realizada em seis replicatas para cada concentração. Foi obtido um valor de coeficiente de determinação (r^2) maior que 0,99 para os dois analitos estudados. Na faixa de concentração estipulada para a curva de calibração do etanol e do metanol, o método foi considerado linear e os parâmetros avaliados estavam de acordo com os critérios de aceitação (ANVISA, 2003; UNODC, 2009).

As equações da regressão linear encontradas para os dois analitos, etanol e metanol, foram respectivamente: $y = 0{,}409x - 0{,}014$, r^2 = 0,9993 e $y = 0{,}170x - 0{,}0034$, r^2 = 9989.

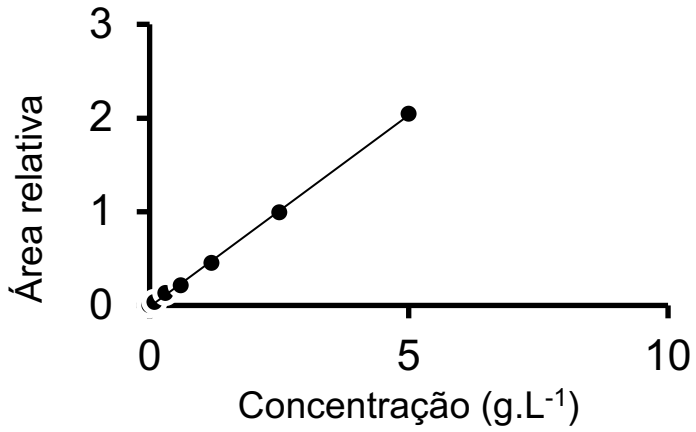


Figura 11. Linearidade do método de determinação de etanol em sangue na faixa de concentração de 0 a 5 $g.L^{-1}$.

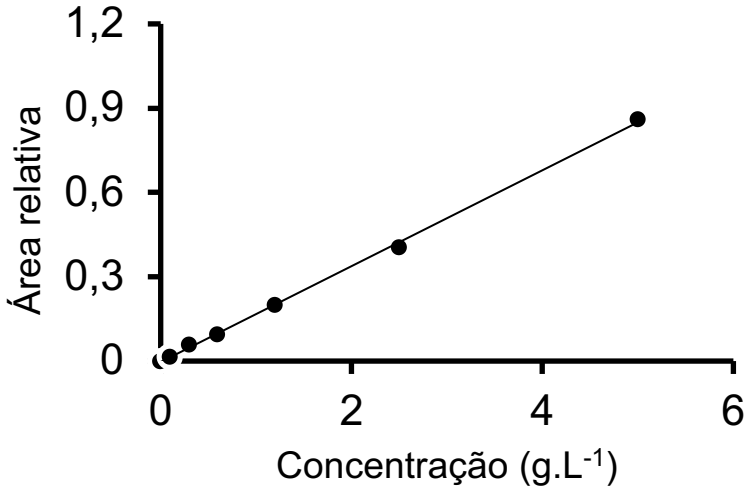


Figura 12. Linearidade do método de determinação de metanol em sangue na faixa de concentração de 0 a 5 $g.L^{-1}$.

4.1.1.3 Precisão intra e inter-dia

Na **Tabela 3** são apresentados os resultados da precisão do método, definido pelo coeficiente de variação para análise de etanol e metanol em sangue. A precisão intra-dia apresentou uma variação de 2,3% a 10,7%, já os valores encontrados na precisão inter-dia foram de 5,6% a 13,9%. Todos os resultados encontrados estão dentro do limite de variação aceitável.

Tabela 3. Coeficientes de variação correspondentes às precisões intra e inter-dia obtidos com a aplicação do método proposto para determinação de álcoois em sangue.

	Precisão intra-dia (CV%)			Precisão inter-dia (CV%)		
	CB[1]	CM[2]	CA[3]	CB[1]	CM[2]	CA[3]
Etanol	2,3	7,3	6,6	5,6	13,5	11,9
Metanol	6,5	10,7	3,2	12,8	12,9	7,4

[1]Controle Baixo (0,1 $g.L^{-1}$); [2]Controle Médio (2 $g.L^{-1}$); [3]Controle Alto (4 $g.L^{-1}$)

4.1.1.4 Exatidão

O ensaio de exatidão foi realizado utilizando três diferentes concentrações e seis replicatas por concentração. Os valores encontrados estão de acordo com as normas adotadas para validação de métodos onde a exatidão do método deve estar entre ± 20% para a concentração baixa e ± 15% para as concentrações média e alta. Os resultados da exatidão do método estão apresentados na **Tabela 4.**

Tabela 4. Exatidão do método proposto para determinação de álcoois em sangue.

		Exatidão (%)	
		Etanol	Metanol
Controles	CB[1]	110,0	80,6
	CM[2]	93,0	88,6
	CA[3]	99,0	95,6

[1]Controle Baixo (0,1 $g.L^{-1}$); [2]Controle Médio (2 $g.L^{-1}$); [3]Controle Alto (4 $g.L^{-1}$)

4.1.1.5 Estudo da estabilidade do analito na matriz

O estudo da estabilidade dos analitos foi avaliado para amostras armazenadas a -20 ºC durante 6 meses. A cada término do mês foram analisadas três replicatas da amostra e determinada a concentração dos analitos. Não foram encontradas variações estatisticamente significativas nas concentrações de etanol e metanol durante o período de armazenamento (coeficientes de variação de 5,4 e 6,5% para o etanol e metanol, respectivamente). De acordo com estes resultados, podemos concluir que não há produção de etanol durante o armazenando e assim a sua análise mesmo após seis meses reportou resultados confiáveis.

4.1.2 Resultados da análise das amostras

Após a validação do método para determinação de álcoois em sangue, o mesmo foi aplicado em amostras (n = 320) provenientes do CCI-SP. Do total de amostras analisadas, 101 apresentaram resultados positivos para etanol (32%) (**Figura 13**). Nenhuma amostra foi considerada positiva para metanol. Dentre as

amostras positivas, 78 apresentaram alcoolemia superior a 0,5 $g.L^{-1}$, concentração sanguínea onde são observadas alterações iniciais da intoxicação por etanol (MALBEGIER; PILEGGI; SCIVOLETTO, 2014). Considerando esse grupo de amostras, cerca de 40% obtiveram concentrações entre 0,5 – 1,5 $g.L^{-1,}$ 36% entre 1,5 – 3,0 $g.L^{-1}$ e 24% com concentrações superiores a 3 $g.L^{-1}$.

Nos Estados Unidos cerca de 8,8 mortes por 1 milhão de habitantes, entre 2010 e 2012, são decorrentes à intoxicação alcoólica aguda, o que representa uma média de seis mortes diárias (ASFAR et al., 2016). Diversos estudos e publicações sugerem que altas concentrações de álcool no sangue (BAC) podem resultar em fatalidades (HOLMGREN; JONES, 2010; BOENISCH et al., 2010). Esses dados são de extrema importância, pois fornecem subsídios para o desenvolvimento e implementação de ações preventivas com o objetivo de reduzir o número de intoxicações que podem culminar em tentativas de suicídios ou demais fatalidades.

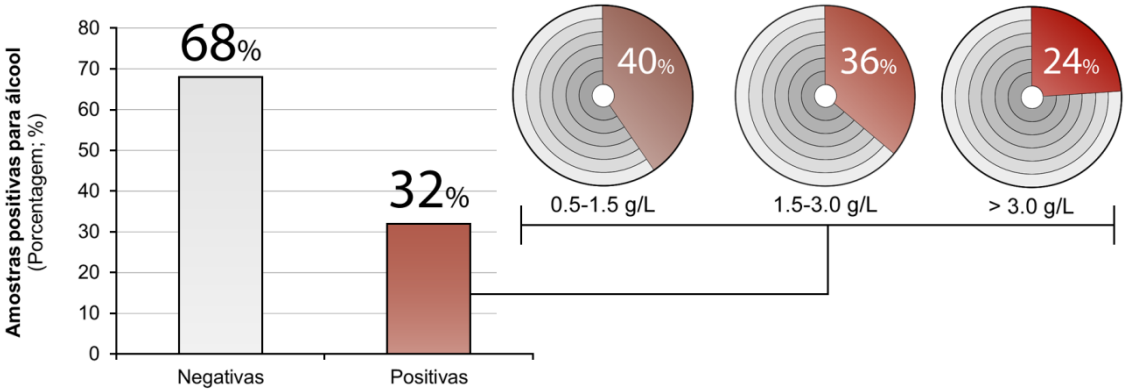


Figura 13. Resultados das análises de etanol em sangue, sendo 68% considerada negativa e 32% positiva. Dentre as amostras positivas, 78 apresentaram alcoolemia superior a 0,5 $g.L^{-1}$.

4.2 Determinação de substâncias em sangue por HPLC-DAD

Metodologias multi-analitos para identificação e quantificação de substâncias psicoativas em amostras biológicas são ferramentas relevantes para a toxicologia clínica, uma vez que permitem o diagnóstico simultâneo de inúmeras substâncias usando um único procedimento de extração. Nesse cenário, a técnica de extração líquido-líquido, descrita no item **3.2.2** de **Material e Métodos,** foi escolhida para a determinação de substâncias psicoativas em sangue pelas suas características

como baixo consumo de amostra, fácil operação, não requer dispositivos específicos e baixo custo.

Para a otimização do procedimento de extração foram testados solventes orgânicos (éter etílico, tolueno, hexano e acetato de etila) utilizados na técnica de extração líquido-líquido em amostras de sangue adicionadas com um *pool* de padrões na concentração de 100 $\mu g.mL^{-1}$. Toda a etapa da otimização do método foi realizada em três replicatas. Os melhores resultados foram encontrados com a utilização de uma mistura de acetato de etila e hexano (3:1), onde foi verificada uma melhor eficiência extrativa para a maioria dos analitos estudos.

Várias condições cromatográficas, tais como a fase móvel, tipo de coluna e o seu comprimento, a taxa de fluxo da fase móvel, pH da fase móvel, temperatura da coluna e volume de injeção foram estudados para se obter uma separação cromatográfica satisfatória (boa resolução e eficiência) para todos os compostos.

Nas **Figuras 14 - 19** são apresentados respectivamente os cromatogramas e espectros de absorbância obtidos por HPLC-DAD de amostras de sangue adicionadas com padrões de paracetamol, fármacos benzodiazepínicos, antidepressivos, anticonvulsivantes e drogas de abuso submetidas ao método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos.**

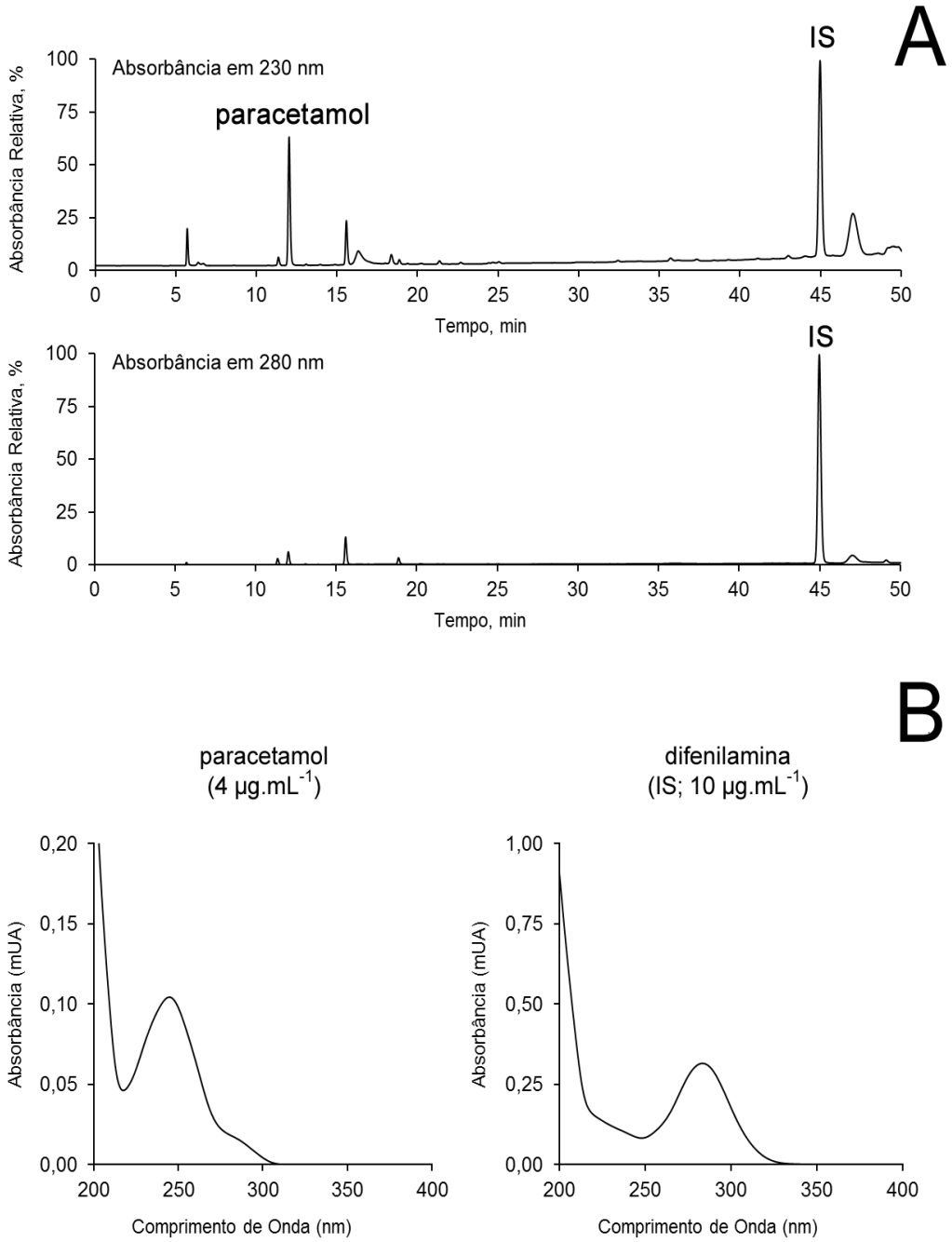


Figura 14. Análise de paracetamol por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 4 µg.mL^{-1} do fármaco e 10 µg.mL^{-1} de padrão interno (IS). **A.** Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos**. Tempo de Retenção: paracetamol (12 min); e IS, difenilamina (45 min). **B.** Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm.

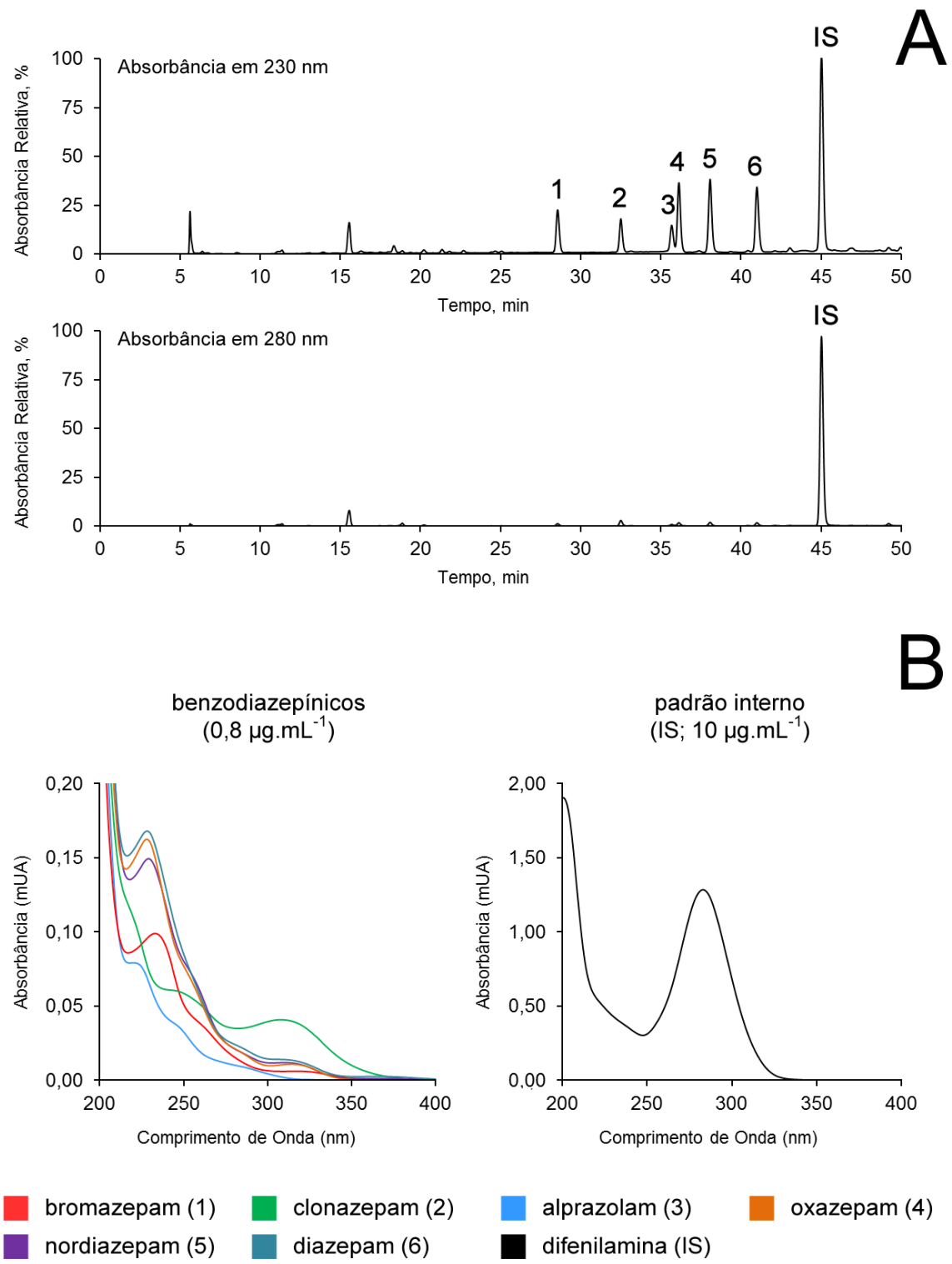


Figura 15. Análise de benzodiazepínicos por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 0,8 µg.mL^{-1} de cada fármaco e 10 µg.mL^{-1} de padrão interno (IS). **A.** Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos.** Tempo de Retenção: 1, bromazepam (26,6 min); 2, clonazepam (32,7 min); 3, alprazolam (35,8 min); 4, oxazepam (36,3 min); 5, nordiazepam (38,2 min); 6, diazepam (41,1 min); e IS, difenilamina (45 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm.

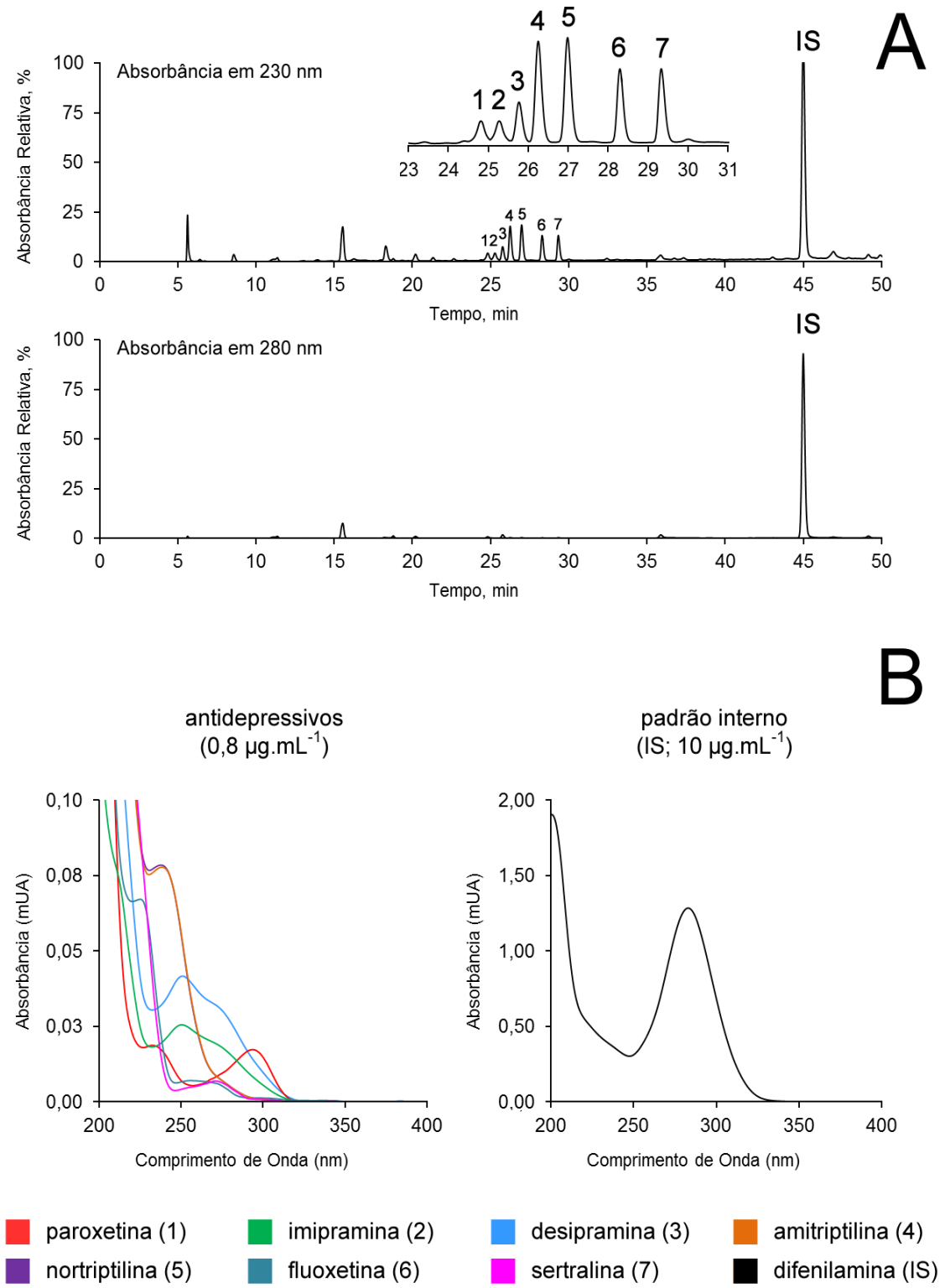


Figura 16. Análise de antidepressivos por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 0,8 µg.mL^{-1} de cada fármaco e 10 µg.mL^{-1} de padrão interno (IS). **A**. Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos.** Tempo de Retenção: 1, paroxetina (24,9 min); 2, imipramina (25,1 min); 3, desipramina (25,7 min); 4, amitriptilina (26,1 min); 5, nortriptilina (26,9 min); 6, fluoxetina (28,4 min); sertralina (29,1 min); e IS, difenilamina (45 min). **B.** Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm.

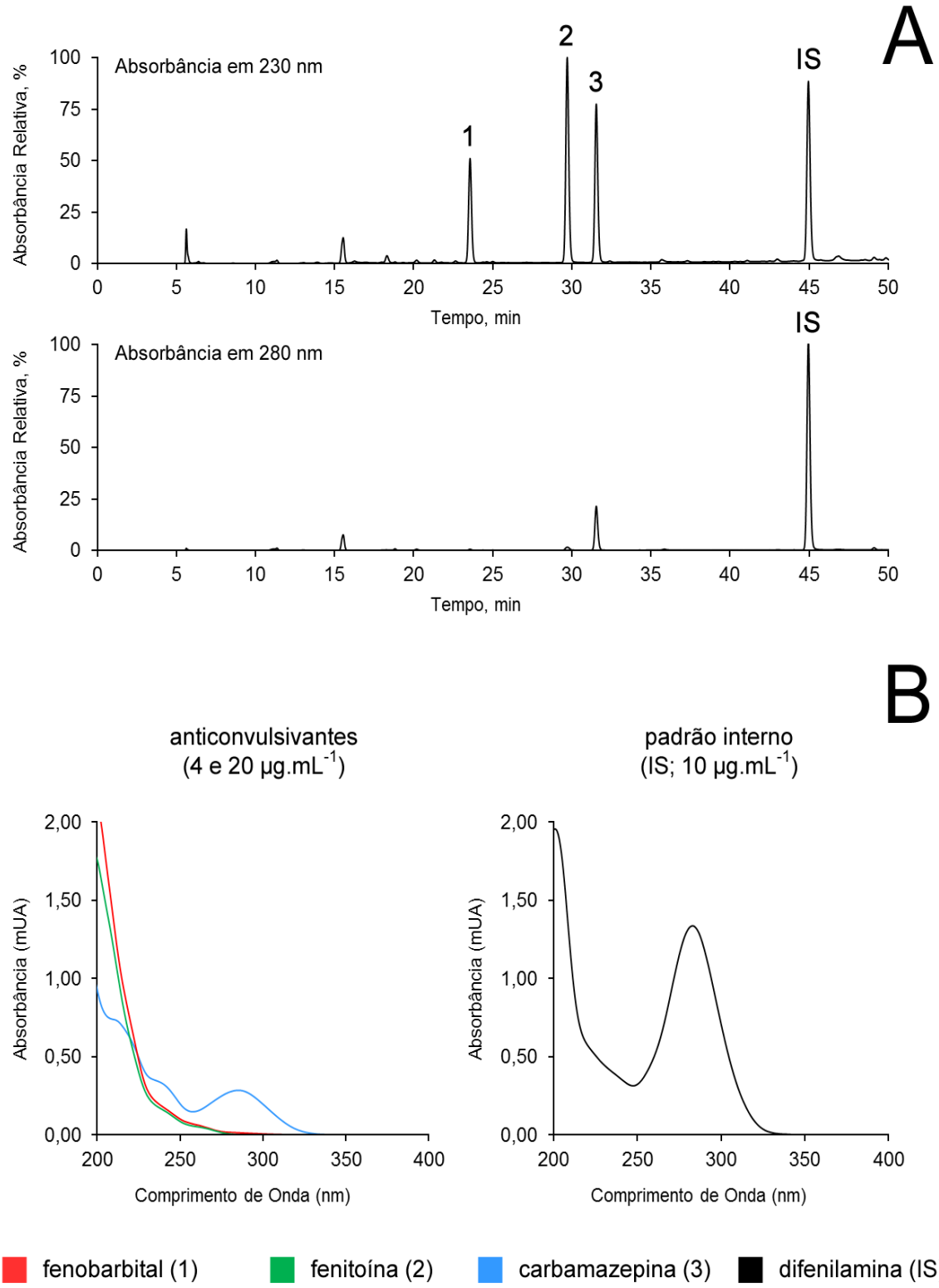


Figura 17. Análise de anticonvulsivantes por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 4 µg.mL^{-1} de carbamazepina; 20 µg.mL^{-1} de fenitoína e fenobarbital, e 10 µg.mL^{-1} de padrão interno (IS). **A.** Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos**. Tempo de Retenção: 1, fenobarbital (23,8 min); 2, fenitoína (29,9 min); 3, carbamazepina (31,7 min); e IS, difenilamina (45 min). **B.** Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm.

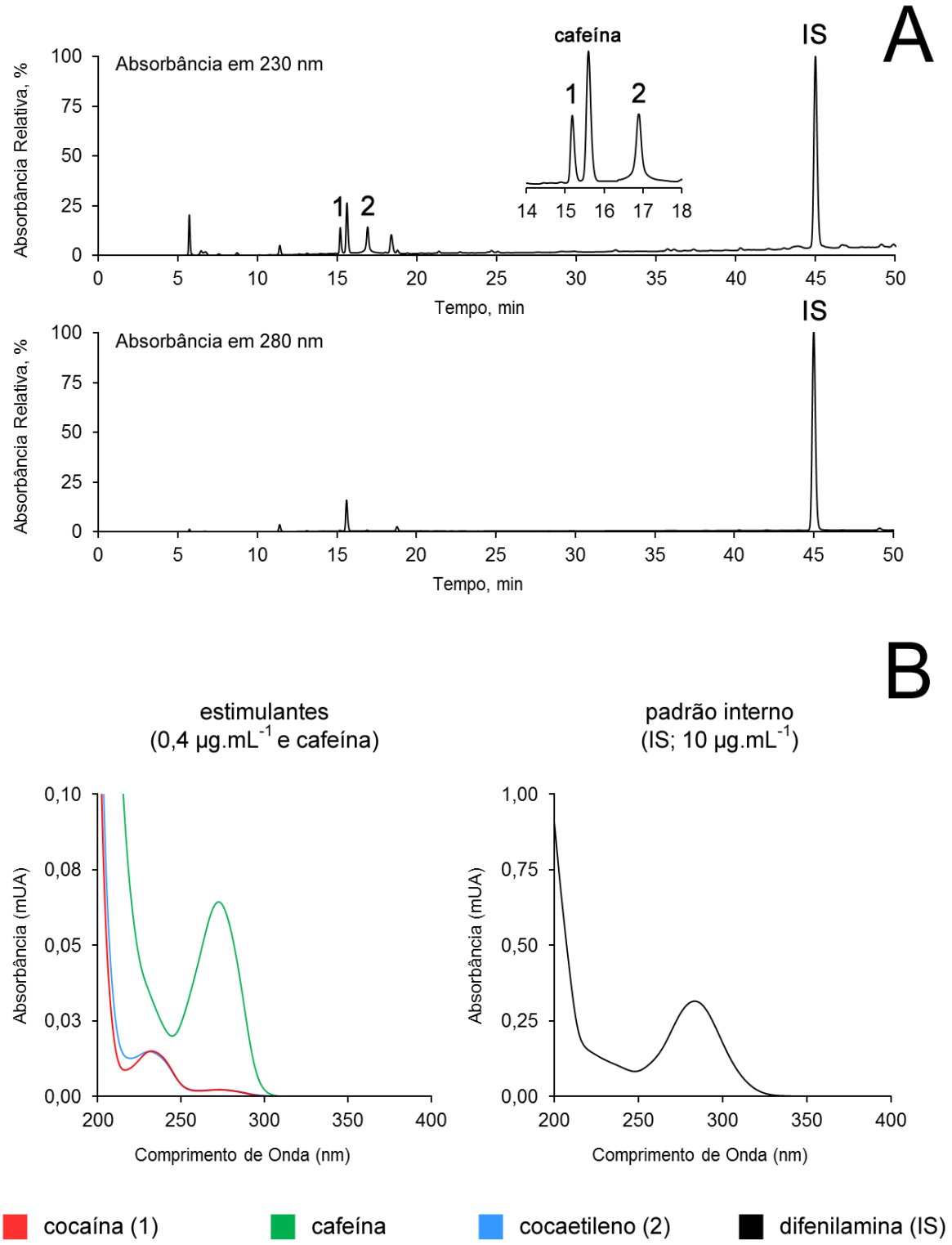


Figura 18. Análise de drogas de abuso por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 0,4 µg.mL^{-1} de cada analito e 10 µg.mL^{-1} de padrão interno (IS). **A.** Cromatogramas obtidos em 230 nm e 280 nm com a aplicação do método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos**. Tempo de Retenção: 1, cocaína (15,1 min); 2, cocaetileno (16,8 min); e IS, difenilamina (45 min). **B.** Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm.

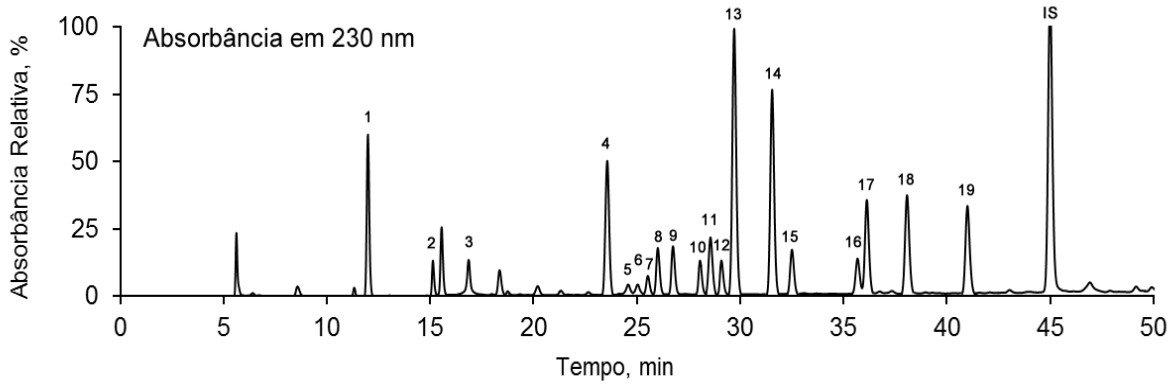


Figura 19. Cromatograma da análise por HPLC-DAD de uma amostra de sangue adicionada com 4 µg.mL^{-1} de paracetamol; 0,8 µg.mL^{-1} de cada fármaco benzodiazepínico e antidepressivo; 4 µg.mL^{-1} de carbamazepina; 20 µg.mL^{-1} de fenitoína e fenobarbital; 0, 4 µg.mL^{-1} de cocaína e cocaetileno de acordo com descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos**. Analitos: 1, paracetamol; 2, cocaína; 3, cocaetileno; 4, fenobarbital; 5, paroxetina; 6, imipramina; 7, desipramina; 8, amitriptilina; 9, nortriptilina; 10, fluoxetina; 11, bromazepam; 12, sertralina; 13, fenitoína; 14, carbamazepina; 15, clonazepam; 16, alprazolam; 17, oxazepam; 18, nordiazepam; 19, diazepam; IS, padrão interno difenilamina.

4.2.1 Resultados da validação do método

4.2.1.1 Menor limite de quantificação

Os coeficientes de variação entre as replicatas obtidos foram menores que 15% para todos os analitos estudados, estando de acordo com os valores preconizados pelos guias (INMETRO, 2007; UNODC, 2009) e foram condizentes com a literatura (BORGES et al., 2009; FLORIANI et al., 2014; MUT et al., 2015). Não foram necessários estipular valores de LOD, uma vez que, para os fins desse trabalho, foi fundamental a quantificação e não somente a identificação a substância. Os valores determinados para o LLOQ são descritos na **Tabela 5**.

Tabela 5. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método para determinação de substâncias em sangue.

Analito	µg.mL^{-1}	CV %
Paracetamol	1,0	9,7
Alprazolam	0,05	13,2
Bromazepam		14,6
Clonazepam		12,7
Diazepam		12,6
Nordiazepam		12,3
Oxazepam		11,6
Amitriptilina	0,05	14,8
Desipramina		14,4
Fluoxetina		12,7
Imipramina		13,0
Nortriptilina		8,9
Paroxetina		11,6
Sertralina		12,9
Carbamazepina	1,0	10,5
Fenitoína		13,9
Fenobarbital		12,7
Cocaetileno	0,1	10,0
Cocaína		14,3

4.2.1.2 Linearidade

A linearidade foi determinada em cinco diferentes concentrações e em seis replicatas para cada concentração. As faixas de concentrações para cada curva analítica foram determinadas levando em consideração, quando possível, as

concentrações terapêuticas e tóxicas de cada substância. Assim, as faixas de trabalho foram: 1 a 40 $\mu g.mL^{-1}$ para o fenobarbital e fenitoína; 1 a 16 $\mu g.mL^{-1}$ para o paracetamol e carbamazepina; 0,05 a 2,2 $\mu g.mL^{-1}$ para os benzodiazepínicos e antidepressivos e 0,1 a 1,6 $\mu g.mL^{-1}$ para a cocaína e cocaetileno. De acordo com a **Tabela 6**, o método foi considerado linear para todos os analitos estudados dentro da faixa de trabalho estipulada

As curvas de calibração de alguns analitos apresentaram o fenômeno de heterocedasticidade (avaliada através da distribuição F), provavelmente devido à ampla faixa de concentração considerada no estudo da linearidade dessas substâncias. Portanto, os métodos de regressão linear dos mínimos quadrados comuns poderiam resultar em grandes erros no cálculo das concentrações, especialmente em valores menores. Usando os mínimos quadrados ponderados de regressão linear o fator de ponderação utilizada foi de $1/x^2$ para a sertralina, fluoxetina, amitriptilina, fenobarbital e fenitoína, $1/x$ para o diazepam e $1/y^2$ para a carbamazepina. As equações da regressão linear encontradas e os coeficientes de determinação estão descritos na **Tabela 6**.

Alguns trabalhos publicados utilizam concentrações inferiores para o primeiro ponto da curva de calibração (VOSOUGH, GHAFGHAZI E SABETKASAEI, 2014; PETRUCZYNIK et al.,2016) quando comparados aos valores utilizados nesse trabalho. No entanto, é importante ressaltar que o objetivo nesses trabalhos publicados foi o monitoramento dos fármacos, necessitando assim detectá-los em baixas concentrações.

Tabela 6. Equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos elencados no estudo.

Analito	Equação da reta	Coeficiente de determinação
Paracetamol	$y = 0,0292\ x + 0,0149$	$r^2 = 0,9952$
Carbamazepina	$y = 0,0786\ x + 0,0153$	$r^2 = 0,9907$
Fenitoína	$y = 0,0202\ x + 0,0055$	$r^2 = 0,9980$
Fenobarbital	$y = 0,0082\ x + 0,0017$	$r^2 = 0,9996$
Alprazolam	$y = 0,0720\ x + 0,0053$	$r^2 = 0,9909$
Bromazepam	$y = 0,2308\ x + 0,0004$	$r^2 = 0,9988$
Clonazepam	$y = 0,1742\ x + 0,0024$	$r^2 = 0,9998$
Diazepam	$y = 0,1885\ x + 0,0021$	$r^2 = 0,9967$
Nordiazepam	$y = 0,2092\ x - 0,0011$	$r^2 = 0,9904$
Oxazepam	$y = 0,3411\ x - 0,0038$	$r^2 = 0,9977$
Amitriptilina	$y = 0,0502\ x + 0,0003$	$r^2 = 0,9962$
Desipramina	$y = 0,0536\ x + 0,0017$	$r^2 = 0,9987$
Fluoxetina	$y = 0,0330\ x + 0,0008$	$r^2 = 0,9969$
Imipramina	$y = 0,0068\ x + 0,0005$	$r^2 = 0,9901$
Nortriptilina	$y = 0,1181\ x + 0,0034$	$r^2 = 0,9983$
Paroxetina	$y = 0,0304\ x + 0,0007$	$r^2 = 0,9991$
Sertralina	$y = 0,0342\ x + 0,0005$	$r^2 = 0,9957$
Cocaetileno	$y = 0,0492\ x – 0,0028$	$r^2 = 0,9940$
Cocaína	$y = 0,0348\ x – 0,0014$	$r^2 = 0,9923$

4.2.1.3 Precisão intra e inter-dia

As precisões intra e inter-dia apresentaram valores dentro do limite de variação aceitável até 20% para o controle baixo e até 15% para os controles médio e alto. Mut et al. (2015) encontram valores semelhantes em sua pesquisa, no entanto para o preparo de amostra foi utilizado o procedimento de extração em fase

sólida (SPE), que é mais demorado e possui um maior custo agregado quando comparado método desenvolvido nesse trabalho. No trabalho publicado por Borges et al. (2009), foi realizada a comparação entre os métodos de extração LLE e SPE para a detecção de benzodiazepínicos. Os resultados de precisão apresentados pelo método de LLE são superiores quando comparados ao SPE, confirmando assim a aplicabilidade e eficiência desse método para a extração de substâncias em matrizes biológicas. Os resultados da precisão do método obtidos pela aplicação do método estão apresentados nas **Tabelas 7, 8** e **9.**

Tabela 7. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia dos fármacos anticonvulsivantes e do paracetamol.

		Precisão (CV%)	
		Intra-dia	Inter-dia
Carbamazepina	CB (3 $\mu g.mL^{-1}$)	11,0	7,4
	CM (9 $\mu g.mL^{-1}$)	11,1	8,3
	CA (15 $\mu g.mL^{-1}$)	6,4	6,5
Fenitoína	CB (3 $\mu g.mL^{-1}$)	9,3	6,5
	CM (19 $\mu g.mL^{-1}$)	12,8	8,0
	CA (35 $\mu g.mL^{-1}$)	8,8	5,9
Fenobarbital	CB (3 $\mu g.mL^{-1}$)	8,5	7,3
	CM (19 $\mu g.mL^{-1}$)	7,4	9,7
	CA (35 $\mu g.mL^{-1}$)	9,2	9,7
Paracetamol	CB (3 $\mu g.mL^{-1}$)	12,4	9,9
	CM (9 $\mu g.mL^{-1}$)	12,7	7,9
	CA (15 $\mu g.mL^{-1}$)	7,8	6,0

[1]Controle Baixo; [2]Controle Médio; [3]Controle Alto

Tabela 8. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia dos fármacos benzodiazepínicos e antidepressivos.

	Precisão (CV%)					
	Intra-dia			Inter-dia		
	CB[1]	CM[2]	CA[3]	CB[1]	CM[2]	CA[3]
Alprazolam	10,7	9,9	12,9	13,4	11,5	12,5
Bromazepam	7,2	8,4	8,6	13,6	5,7	10,9
Clonazepam	7,8	8,9	6,8	9,4	5,9	13,5
Diazepam	8,5	8,4	10,3	14,1	11,1	6,2
Nordiazepam	5,7	5,2	7,5	18,2	14,6	11,4
Oxazepam	9,7	10,1	7,5	9,9	7,9	8,8
Amitriptilina	13,3	6,1	5,2	16,9	9,6	13,9
Desipramina	4,8	5,4	4,4	18,2	10,1	4,9
Fluoxetina	8,7	7,4	8,7	10,7	8,3	13,9
Imipramina	11,5	7,3	13,1	13,0	13,9	10,9
Nortriptilina	5,0	4,8	6,9	7,9	11,5	9,2
Paroxetina	6,9	7,6	5,8	7,1	4,9	6,1
Sertralina	11,8	6,2	6,3	13,4	6,9	13,4

[1]Controle Baixo (0,15 $\mu g.mL^{-1}$); [2]Controle Médio (1,0 $\mu g.mL^{-1}$); [3]Controle Alto (2,0 $\mu g.mL^{-1}$)

Tabela 9. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia da cocaína e cocaetileno.

	Precisão (CV%)					
	Intra-dia			Inter-dia		
	CB[1]	CM[2]	CA[3]	CB[1]	CM[2]	CA[3]
Cocaetileno	13,4	13,8	14,9	17,2	13,6	9,3
Cocaína	14,9	8,4	10,8	18,8	14,6	10,7

[1]Controle Baixo (0,3 $\mu g.mL^{-1}$); [2]Controle Médio (0,8 $\mu g.mL^{-1}$); [3]Controle Alto (1,3 $\mu g.mL^{-1}$)

4.2.1.4 Exatidão

O ensaio para determinar a exatidão do método foi realizado utilizando três diferentes concentrações em seis replicatas para cada concentração. As **Tabelas 10, 11** e **12** apresentam os valores obtidos. Para todos os analitos estudados, os controles foram quantificados dentro dos limites de aceitação, com uma variação de 81,3% (CB, nortriptilina) a 113,7% (CM, nortriptilina).

Tabela 10. Exatidão obtida com a determinação de anticonvulsivantes e paracetamol.

	Exatidão (%)		
	CB[1]	CM[2]	CA[3]
Carbamazepina	108,9	95,3	96,5
Fenitoína	105,2	99,2	94,4
Fenobarbital	98,7	94,2	100,2
Paracetamol	110,5	97,7	100,9

[1]Controle Baixo; [2]Controle Médio; [3]Controle Alto. Carbamazepina e paracetamol: CB 3 $\mu g.mL^{-1}$; CM 9 $\mu g.mL^{-1}$; CA 15 $\mu g.mL^{-1}$. Fenitoína e fenobarbital: CB 3 $\mu g.mL^{-1}$; CM 19 $\mu g.mL^{-1}$; CA 35 $\mu g.mL^{-1}$).

Tabela 11. Exatidão obtida com a determinação de benzodiazepínicos e antidepressivos.

	Exatidão (%)		
	CB[1] (0,15 µg.mL^{-1})	CM[2] (1,0 µg.mL^{-1})	CA[3] (2,0 µg.mL^{-1})
Alprazolam	85,8	92,6	108,5
Bromazepam	92,1	106,5	96,5
Clonazepam	93,2	114,3	96,9
Diazepam	97,8	97,1	112,2
Nordiazepam	98,9	100,9	93,7
Oxazepam	109,6	110,9	90,6
Amitriptilina	106,2	108,5	102,4
Desipramina	92,6	112,3	103,0
Fluoxetina	98,4	106,2	103,8
Imipramina	99,5	87,3	102,8
Nortriptilina	81,3	113,7	100,7
Paroxetina	94,0	90,8	92,8
Sertralina	102,7	101,1	100,1

[1]Controle Baixo; [2]Controle Médio; [3]Controle Alto

Tabela 12. Exatidão obtida com a determinação de cocaína e cocaetileno.

	Exatidão (%)		
	CB (0,3 µg.mL^{-1})	CM (0,8 µg.mL^{-1})	CA (1,3 µg.mL^{-1})
Cocaetileno	97,3	96,1	106,7
Cocaína	92,7	90,7	104,8

[1]Controle Baixo; [2]Controle Médio; [3]Controle Alto

4.2.1.5 Integridade de diluição das amostras

Alguns fármacos como o paracetamol e os anticonvulsivantes apresentam concentrações terapêuticas e tóxicas bem elevadas e, devido à necessidade de se economizar padrões analíticos, a faixa de concentração definida para curva de calibração dessas substâncias foram inferiores ao encontrados nas amostras. Os resultados encontrados (**Tabela 13**) apresentaram variações aceitáveis de exatidão e coeficientes de variação (< 15%), sendo considerados satisfatórios. Desse modo, após o estudo de integridade de diluição, concluímos que as amostras processadas após a diluição obtiveram resultados confiáveis comparados àquelas que não foram diluídas.

Tabela 13. Integridade de diluição das amostras.

Analitos	Controles	Exatidão	CV %
Carbamazepina	CB[1] (20 µg.mL^{-1})	98,0	7,5
	CA[2] (150 µg.mL^{-1})	94,6	8,4
Fenitoína	CB[1] (50 µg.mL^{-1})	89,6	1,7
	CA[2] (300 µg.mL^{-1})	99,1	10,4
Fenobarbital	CB[1] (50 µg.mL^{-1})	101,7	6,5
	CA[2] (300 µg.mL^{-1})	109,2	7,3
Paracetamol	CB[1] (20 µg.mL^{-1})	86,5	17,3
	CA[2] (150 µg.mL^{-1})	90,9	7,7

[1]Controle Baixo; [2]Controle Alto

Nas análises toxicológicas de emergência, os procedimentos de triagem devem ser abrangentes e geralmente utilizam-se técnicas como GC-MS e LC-MS, pois apresentam alta sensibilidade e confiabilidade na identificação de compostos (MAURER, 2012). No entanto, em países em desenvolvimento, como o Brasil, os

recursos tecnológicos analíticos em laboratórios de emergência geralmente são escassos, por isso é adequado incluir outros recursos analíticos disponíveis. Assim, o método desenvolvido nesse trabalho para triagem multi-analitos em sangue por HPLC-DAD mostrou-se como uma alternativa a ser implementada nos laboratórios de emergência. O preparo de amostra é relativamente barato, fácil e rápido. Além disso, os resultados obtidos na validação do método estão de acordo com publicações recentes que analisam determinadas classes de substâncias por HPLC (VOSOUGH, GHAFGHAZI E SABETKASAEI, 2014; MUT et al., 2015; PETRUCZYNIK et al., 2016). O método desenvolvido nesse trabalho possui a vantagem de analisar simultaneamente 19 substâncias de diferentes classes como benzodiazepínicos, anticonvulsivantes, antidepressivos, analgésicos e drogas de abuso. Isso confirma sua eficácia e aplicabilidade para a análise toxicológica de emergência. Além desse fato, a utilização do método de quantificação denominado *one point calibration* facilitou e promoveu ganho de tempo em relação ao preparo da curva com múltiplos pontos, agilizando assim o processo de emissão de resultados que é crucial nas análises de emergência (PETERS; MAURER, 2007; MEYER et al. 2014)

Os limites de quantificação do método foram adequados e não se constatou a necessidade de reduzir esses valores, pois as amostras com concentrações subterapêuticas não se enquadravam no escopo desse estudo. De fato, foi possível identificar nas amostras todas as substâncias que apresentaram valores tóxicos e terapêuticos, uma vez que os limites de quantificação encontrados foram inferiores à concentração tóxica e próximos às terapêuticas de cada substância.

4.3 Determinação de praguicidas em sangue por HPLC-DAD

Na **Figura 20** é apresentado o cromatograma obtido por HPLC-DAD da amostra de sangue adicionada com padrões de aldicarbe e carbofuran submetidas ao método descrito no item **3.2.3** de **Material e Métodos.**

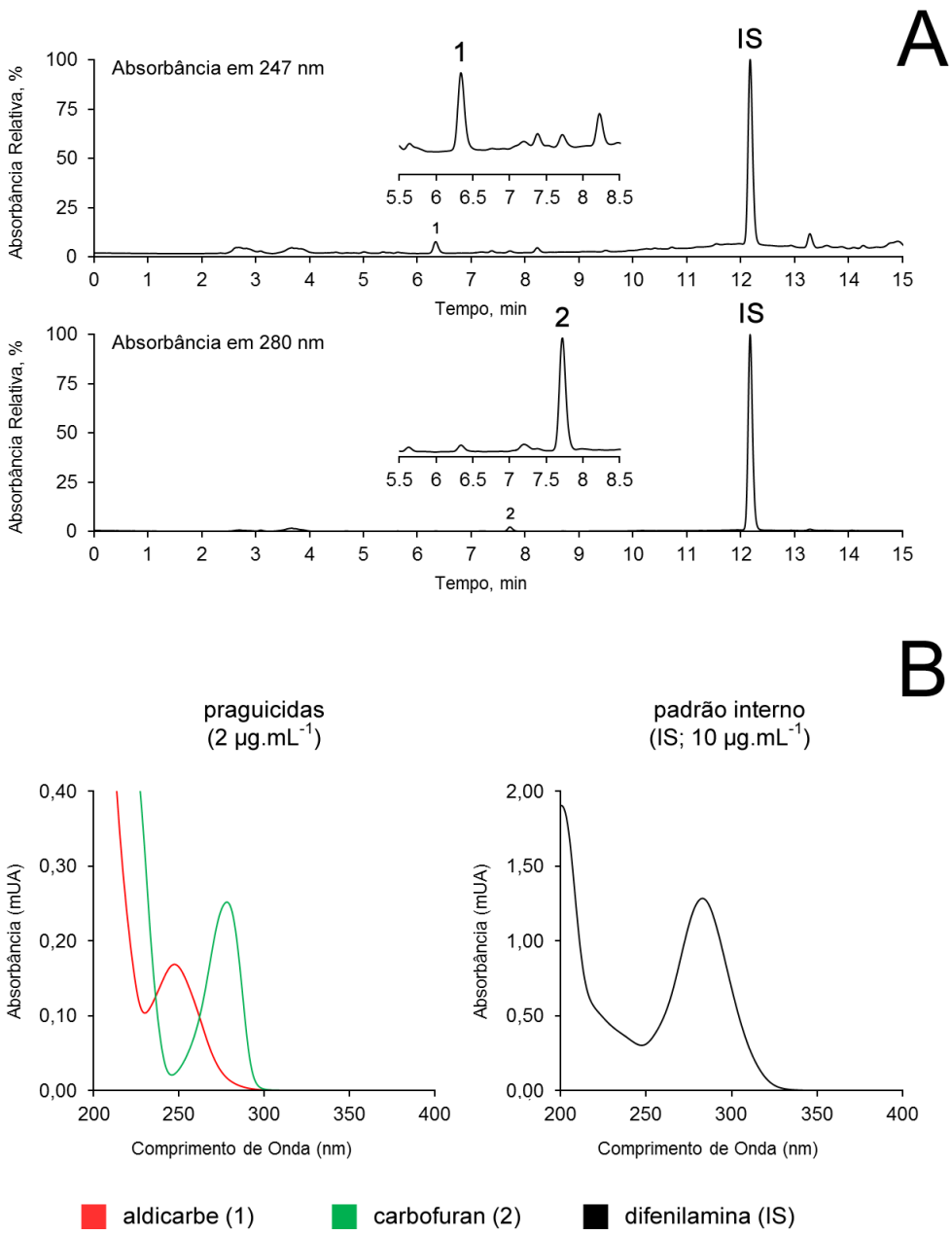


Figura 20. Análise de praguicidas por HPLC-DAD em amostra de sangue adicionada com 2 µg.mL^{-1} de cada analito e 10 µg.mL^{-1} de padrão interno (IS). A. Cromatogramas obtidos em 247 nm para o aldicarbe e 280 nm para o carbofuran e IS com a aplicação do método descrito no item **3.2.3** de **Material e Métodos**. Tempo de Retenção: 1, aldicarbe (6,3 min); 2, carbofuran (7,7 min); e IS, difenilamina (12,1 min). B. Espectros de absorbância obtidos no intervalo de 200 a 400 nm.

4.3.1 Resultados da validação do método

4.3.1.1 Menor limite de quantificação

Os menores limites de quantificação dos praguicidas aldicarbe e carbofuran foram ambos de 0,2 µg.mL^{-1}. Os LLOQs determinados em nosso trabalho estão de

acordo com os valores reportados em publicações que utilizam técnicas semelhantes (TENNAKOON; PERERA; HATURUSINGHE, 2009; DULAURENT et al., 2010).

4.3.1.2 Linearidade

A linearidade foi determinada dentro da faixa de trabalho de 0,2 a 2 $\mu g.mL^{-1}$ para os dois analitos estudados. A análise foi realizada em seis replicatas para cada concentração. Foi obtido um valor de coeficiente de determinação (r^2) maior que 0,99, para os dois analitos. As equações da reta são dadas a seguir. Aldicarbe, y = 0,0082x + 0,0003; r^2 = 0,9903; carbofuran, y = 0,0107x + 0,0003; r^2 = 0,9952.

4.3.1.3 Precisão intra e inter-ensaio

As precisões intra e inter-dia foram consideradas aceitáveis de acordo com os valores estabelecidos por guias nacionais e internacionais de validação e são condizentes com os valores reportados na literatura (TENNAKOON; PERERA; HATURUSINGHE, 2009; BUCARETCHI et al., 2012). No estudo realizado por Tracqui et al. (2001), utilizando técnicas semelhantes, os valores encontrados de precisão apresentaram variação entre 3,4 e 7,9%, valores próximos aos determinados no presente estudo. Os resultados são apresentados na **Tabela 14**.

Tabela 14. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia dos praguicidas.

	Precisão (CV%)					
	Intra-dia			Inter-dia		
	CB[1]	CM[2]	CA[3]	CB[1]	CM[2]	CA[3]
Aldicarbe	3,1	6,9	8,1	13,7	7,7	6,5
Carbofuran	7,8	5,2	9,1	8,1	5,9	5,7

[1]Controle baixo (0,6 $\mu g.mL^{-1}$); [2]Controle médio (1,2 $\mu g.mL^{-1}$); [3]Controle alto (1,8 $\mu g.mL^{-1}$)

4.3.1.4 Exatidão

A exatidão do método desenvolvido foi avaliada em três diferentes concentrações e os valores encontrados estão de acordo com as normas adotadas para validação de métodos (ANVISA, 2003; UNODC, 2009) e com publicações recentes (DULAURENT et al., 2010; BUCARETCHI et al., 2012). O método desenvolvido por HPLC-DAD apresentou resultados (**Tabela 15)** comparáveis aos encontrados por DeArmond et al. (2015), que utilizou LC-MS e obteve valores de exatidão entre 86 e 116%.

Tabela 15. Exatidão obtida com a determinação de praguicidas em sangue.

	Exatidão (%)		
	CB (0,6 µg.mL^{-1})	CM (1,2 µg.mL^{-1})	CA (1,8 µg.mL^{-1})
Aldicarbe	102,8	96,6	101,9
Carbofuran	101,3	109,3	111,0

[1]Controle Baixo; [2]Controle Médio; [3]Controle Alto

Encontrou-se grande dificuldade na determinação de praguicidas em sangue, uma vez que, em nenhuma amostra analisada por HPLC foi detectado aldicarbe ou carbofuran, mesmo naquelas reconhecidamente positivas (análise de conteúdo gástrico realizado pelo CCI). Esse resultado se tornou preocupante, no entanto, a dúvida pertinente seria em relação ao motivo da ausência do praguicida no sangue. Duas suposições podem ser consideradas: o método desenvolvido não apresenta sensibilidade suficiente para detectar baixas concentrações desses compostos e/ou o seu processo de biotransformação representa um fator limitante. Essa última hipótese é estabelecida e bem reportada na literatura científica. De fato, essas substâncias apresentam uma rápida biotransformação influenciando a disponibilidade plasmática, fator que ainda pode ser modulado pelo tempo decorrido da exposição até o momento da coleta da amostra (BUCARETCHI et. al., 2012).

Mediante a essas observações, as amostras provenientes dos casos suspeitos de intoxicação por praguicidas foram analisadas em sangue pelo sistema analítico UHPLC-ESI-MS/MS e foi verificado a presença de aldicarbe e carbofuran em quatro amostras, no entanto em concentrações menores que o LLOQ obtido por

HPLC-DAD (0,2 μg.mL^{-1}). Como o LLOQ obtido no equipamento de UHPLC-ESI-MS/MS é bem inferior (aldicarbe, 0,02 e carbofuran, 0,0005 μg.mL^{-1}), foi possível realizar a identificação e quantificação dessas substâncias. Com a interpretação dos resultados concluímos que a técnica por HPLC-DAD não foi sensível suficiente para detectar os praguicidas quando a amostra é coletada após um longo tempo decorrido da exposição.

Diante do exposto, uma importante consideração fundamentada a partir das análises toxicológicas, é o tempo decorrente entre exposição, admissão na emergência e coleta da amostra. Um longo tempo decorrido entre essas etapas têm uma influência significativa no resultado analítico, principalmente nos casos de intoxicação por praguicidas. Fato importante a se considerar e registrar durante o atendimento dos pacientes e a análise das amostras. Após as análises comparativas entre as matrizes sangue e urina, concluímos que devido ao longo tempo decorrente entre a exposição e a análise laboratorial, muitas vezes não é possível a detecção das substâncias no sangue. Desta forma, a urina pode ser considerada uma matriz biológica a ser utilizada paralelamente ao sangue nas análises de emergência.

4.4 Método de *screening* em urina por UHPLC-ESI-MS/MS

Vários procedimentos multi-analitos, baseados em LC-MS/MS, foram publicados recentemente para detectar substâncias em urina. Esses métodos geralmente incluem grupos de compostos que são similares estruturalmente ou possuem os mesmos efeitos farmacológicos (HEGSTAD et al., 2014; TANG et al., 2014; SHIM et al., 2014; DZIADOSZ et al. 2018). Nesse trabalho foi desenvolvido um método para detectar diferentes classes de substâncias, incluindo praguicidas, não reportados nos trabalhos citados anteriormente.

O método desenvolvido para o *screening* em urina por UHPLC-ESI-MS/MS, foi baseado em um rápido e simples preparo de amostra, utilizando apenas a precipitação de proteínas e diluição da amostra.

Todas as amostras de urina foram analisadas e os resultados do *screening* estão em sua maioria em concordância com a triagem feita pelo CCI (método imunoenzimático). No entanto, nosso procedimento é mais abrangente e assim

encontramos resultados além daqueles reportados pelo CCI, como discutido a seguir.

Os picos de todos os analitos analisados no método foram identificados positivamente por uma combinação de tempo de retenção e no mínimo duas transições de MRM.

4.4.1 Resultados da validação do método

4.4.1.1 Menor limite de quantificação (LLOQ) e seletividade

As análises para determinar o LLOQ foram realizadas em sextuplicata e os coeficientes de variação entre as replicatas encontrados foram menores que 15% para todos os analitos estudados, sendo considerados satisfatórios. Os valores de LLOQ foram ligeiramente melhores para algumas substâncias quando comparados aos reportados por Hegstad et al. (2014), Tang et al. (2014) e Shim et al. (2014). As concentrações referentes aos limites e os valores de CV% determinados são descritos na **Tabela 16**. A seletividade foi avaliada e não foram detectados interferentes endógenos. Avaliando ainda a seletividade do método, as substâncias adicionadas para esse ensaio não produziram sinal próximo ao tempo de retenção dos analitos de interesse.

Tabela 16. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método de *screening* em urina.

Analito	**$\mu g.mL^{-1}$**	**CV %**
Paracetamol	0,02	14,2
Alprazolam	0,001	7,1
Aminoclonazepam	0,02	5,1
Bromazepam	0,02	10,7
Clonazepam	0,005	13,0
Clordiazepóxido	0,01	8,1
Diazepam	0,001	7,6
Flunitrazepam	0,005	9,6

continua

Tabela 16. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método de *screening* em urina.

continuação

Analito	**µg.mL^{-1}**	**CV %**
Midazolam	0,001	13,8
Nitrazepam	0,005	10,9
Nordiazepam	0,001	14,2
Oxazepam	0,01	13,4
Temazepam	0,001	13,4
Amitriptilina	0,001	8,7
Desipramina	0,001	7,8
Fluoxetina	0,0005	15,0
Imipramina	0,0005	13,0
Norfluoxetina	0,01	14,1
Nortriptilina	0,0005	9,0
Paroxetina	0,005	10,0
Sertralina	0,001	14,9
Ácido valpróico	0,02	11,1
Carbamazepina	0,0005	13,8
Fenitoína	0,02	14,9
Fenobarbital	0,02	11,7
6-acetilmorfina	0,001	14,5
AEME	0,01	14,6
Anfetamina	0,005	9,7
Benzoilecgonina	0,001	13,5
Cocaetileno	0,001	12,5
Cocaína	0,0005	4,6
Codeína	0,01	13,5
MDA	0,01	14,0
MDMA	0,005	9,2
Metanfetamina	0,0005	8,3
Morfina	0,01	14,8

continua

Tabela 16. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método de *screening* em urina. *continuação*

Analito	µg.mL^{-1}	CV %
Norcocaína	0,001	11,7
THC-COOH	0,005	14,1
Aldicarbe	0,05	13,4
Carbofuran	0,001	13,9

4.4.1.2 Linearidade

As faixas de concentrações para cada curva analítica variam dos valores de LLOQ até no máximo 4 µg.mL^{-1}. As faixas de trabalho utilizadas nesse trabalho estão de acordo com as reportadas na literatura para análise de drogas de abuso e medicamentos em urina. Shin et al. (2014) determinaram as concentrações da curva para drogas de abuso e benzodiazepínicos entre 0,01 a 0,125 µg.mL^{-1}. Já Hegstad et al. (2014) utilizaram concentrações de trabalho entre 1 a 10 µg.mL^{-1}. Os intervalos de concentração utilizados, as equações da regressão linear e os coeficientes de determinação encontrados estão descritos na **Tabela 17**.

Tabela 17. Intervalos de concentração, equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos elencados no método de *screening* em urina.

Analito	Intervalo de Concentração (µg.mL^{-1})	Equação da reta	Coeficiente de determinação
Paracetamol	0,02 – 2	$y = 0{,}0011x + 0{,}1497$	$r^2 = 0{,}9996$
Alprazolam	0,001 – 2	$y = 0{,}0703x + 0{,}5316$	$r^2 = 0{,}9931$
Aminoclonazepam	0,02 – 2	$y = 0{,}0054x + 0{,}0715$	$r^2 = 0{,}9989$
Bromazepam	0,02 – 2	$y = 0{,}0039x – 0{,}0069$	$r^2 = 0{,}9986$
Clonazepam	0,005 – 2	$y = 0{,}0109x – 0{,}2039$	$r^2 = 0{,}9996$
Clordiazepóxido	0,01 – 2	$y = 0{,}0142x – 0{,}4909$	$r^2 = 0{,}9949$

continua

Tabela 17. Intervalos de concentração, equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos elencados no no método de *screening* em urina.

Continuação

Analito	Intervalo de Concentração ($\mu g.mL^{-1}$)	Equação da reta	Coeficiente de determinação
Diazepam	0,001 – 2	$y = 0,0467x – 0,6773$	$r^2 = 0,9997$
Flunitrazepam	0,005 – 2	$y = 0,0525x + 0,7626$	$r^2 = 0,9988$
Midazolam	0,001 – 2	$y = 0,0512x – 0,6047$	$r^2 = 0,9984$
Nitrazepam	0,005 – 2	$y = 0,0171x – 0,1937$	$r^2 = 0,9998$
Nordiazepam	0,001 – 2	$y = 0,0275x + 0,8485$	$r^2 = 0,9982$
Oxazepam	0,01 – 2	$y = 0,0085x + 0,1108$	$r^2 = 0,9983$
Temazepam	0,001 – 2	$y = 0,0344x + 0,0633$	$r^2 = 0,9995$
Amitriptilina	0,001 – 1	$y = 0,0111x + 0,1153$	$r^2 = 0,9904$
Desipramina	0,001 – 1	$y = 0,0072x + 0,1514$	$r^2 = 0,9933$
Fluoxetina	0,0005 – 1	$y = 0,0092x – 0,1060$	$r^2 = 0,9994$
Imipramina	0,0005 – 1	$y = 0,0068x + 0,0424$	$r^2 = 0,9969$
Norfluoxetina	0,01 – 1	$y = 0,0274x + 0,2865$	$r^2 = 0,9964$
Nortriptilina	0,0005 – 1	$y = 0,0084x – 0,0121$	$r^2 = 0,9994$
Paroxetina	0,005 – 1	$y = 0,0110x + 0,0181$	$r^2 = 0,9998$
Sertralina	0,001 – 1	$y = 0,0243x – 0,1592$	$r^2 = 0,9978$
Ácido valpróico	0,02 – 4	$y = 0,0425x – 0,7923$	$r^2 = 0,9957$
Carbamazepina	0,0005 – 2	$y = 0,0163x + 0,0698$	$r^2 = 0,9995$
Fenitoína	0,02 – 4	$y = 0,0101x + 1,1761$	$r^2 = 0,9924$
Fenobarbital	0,02 – 4	$y = 0,0032x + 0,1063$	$r^2 = 0,9964$
6-acetilmorfina	0,001 – 0,1	$y = 0,0235x + 0,0010$	$r^2 = 0,9980$
AEME	0,01 – 4	$y = 0,0383x – 0,2644$	$r^2 = 0,9930$
Anfetamina	0,005 – 4	$y = 0,0075x – 0,0362$	$r^2 = 0,9980$
Benzoilecgonina	0,001 – 4	$y = 0,0026x + 0,0099$	$r^2 = 1,0$
Cocaetileno	0,001 – 4	*y = 0,0014x – 0,0011*	*r2= 0,9997*
Cocaína	0,0005 – 4	*y = 0,0015 x – 0,0472*	*r2= 0,9988*

continua

Tabela 17. Intervalos de concentração, equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos elencados no método de *screening* em urina.

Continuação

Analito	Intervalo de Concentração ($\mu g.mL^{-1}$)	Equação da reta	Coeficiente de determinação
Codeína	0,01 – 4	$y = 0,0037x + 0,0233$	$r^2 = 0,9993$
MDA	0,01 – 4	$y = 0,0049x – 0,0499$	$r^2 = 0,9965$
MDMA	0,005 – 4	$y = 0,0023x – 0,0223$	$r^2 = 0,9911$
Metanfetamina	0,0005 – 4	$y = 0,0155x – 0,0496$	$r^2 = 0,9938$
Morfina	0,01 – 4	$y = 0,0075x + 0,1083$	$r^2 = 0,9985$
Norcocaína	0,001 – 4	$y = 0,0010x – 0,0450$	$r^2 = 0,9941$
THC-COOH	0,005 – 1,2	$y = 0,0103x – 0,1099$	$r^2 = 0,9915$
Aldicarbe	0,05 – 4	$y = 0,0001x – 0,0099$	$r^2 = 0,9995$
Carbofuran	0,001 – 2	$y = 0,0298x + 0,9715$	$r^2 = 0,9950$

4.4.1.3 Precisão intra e inter-dia e exatidão do método

Os valores de precisão intra-dia obtidos apresentaram uma variação de 0,8% a 18,6%, que correspondem aos valores, respectivamente, do controle médio do paracetamol e controle baixo do aldicarbe. Todos os valores obtidos estavam dentro do limite de variação recomendado. Para a precisão inter-dia, os coeficientes de variação encontrados foram de 0,6% a 19,9%, sendo referentes aos controles médio do paracetamol 0,6% e baixo da norfluoxetina, respectivamente. Os valores reportados para precisão estão de acordo com os valores encontrados em trabalhos semelhantes (MONTENARH et al., 2015; STAEHELI et al., 2015).

Os resultados da precisão e exatidão do método desenvolvido neste trabalho estão apresentados na **Tabela 18.**

Tabela 18. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método de *screening* em urina para todos os analitos avaliados.

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
Paracetamol	0,06	8,3	7,0	97,4
	0,75	0,8	0,6	100,7
	1,5	3,8	2,6	113,8
Alprazolam	0,003	9,9	8,6	108,4
	0,75	6,6	8,5	102,3
	1,5	3,5	3,9	102,6
Aminoclonazepam	0,06	9,4	8,0	95,0
	0,75	4,7	11,8	101,3
	1,5	4,0	11,5	100,1
Bromazepam	0,06	10,5	13,0	95,3
	0,75	5,3	5,5	86,3
	1,5	5,6	10,6	99,2
Clonazepam	0,015	10,6	9,9	100,3
	0,75	3,6	8,3	98,1
	1,5	5,4	9,8	103,9
Clordiazepóxido	0,03	8,0	12,7	100,2
	0,75	4,5	8,3	101,5
	1,5	6,2	8,7	114,0
Diazepam	0,003	14,2	15,6	88,3
	0,75	7,3	4,4	100,0
	1,5	8,4	9,8	105,7
Flunitrazepam	0,015	9,7	13,7	90,2
	0,75	4,4	5,4	99,8
	1,5	4,8	4,6	101,4
Midazolam	0,003	11,0	17,5	104,1
	0,75	4,7	14,1	93,6
	1,5	3,6	14,3	95,6
Nitrazepam	0,015	11,7	14,7	99,8
	0,75	3,9	6,0	99,9
	1,5	4,1	6,0	104,4

continua

Tabela 18. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método de *screening* em urina para todos os analitos avaliados.

Continuação

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
Nordiazepam	0,003	12,4	10,5	105,4
	0,75	3,5	5,2	111,4
	1,5	4,1	3,5	108,5
Oxazepam	0,03	8,2	8,3	97,5
	0,75	4,7	3,4	99,9
	1,5	5,4	5,8	100,6
Temazepam	0,003	17,1	15,2	113,9
	0,75	4,1	7,2	98,7
	1,5	7,4	7,7	104,2
Amitriptilina	0,003	6,0	11,4	96,4
	0,4	3,0	2,7	100,3
	0,8	3,3	2,7	102,4
Desipramina	0,003	10,5	12,7	89,5
	0,4	8,9	9,8	111,9
	0,8	6,9	8,9	102,7
Fluoxetina	0,0015	12,7	11,9	88,0
	0,4	5,7	6,4	104,5
	0,8	7,2	11,6	99,0
Imipramina	0,0015	13,6	9,6	88,0
	0,4	3,2	9,4	106,3
	0,8	5,0	3,8	110,7
Norfluoxetina	0,015	10,1	19,9	92,9
	0,4	9,2	6,8	98,6
	0,8	9,7	8,6	99,4
Nortriptilina	0,0015	14,2	9,3	81,9
	0,4	4,5	3,5	104,4
	0,8	4,6	3,5	108,4
Paroxetina	0,015	11,5	17,9	83,6
	0,4	6,7	5,9	97,7
	0,8	7,0	7,0	101,7

Continua

Tabela 18. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método de *screening* em urina para todos os analitos avaliados.

Continuação

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
	0,003	4,7	13,7	95,7
Sertralina	0,4	5,9	6,0	88,5
	0,8	6,6	14,4	98,7
	0,06	12,4	9,2	113,3
Ácido valpróico	0,9	10,9	11,8	96,6
	1,8	13,0	14,4	94,5
	0,0015	18,5	16,5	113,8
Carbamazepina	0,75	5,5	7,2	85,9
	1,5	6,2	12,7	103,8
	0,06	10,0	8,3	89,8
Fenitoína	0,9	8,7	11,2	95,7
	1,8	7,8	11,5	108,7
	0,06	11,3	7,9	108,3
Fenobarbital	0,9	7,9	6,1	102,8
	1,8	11,3	7,4	103,8
	0,003	11,5	7,3	112,5
6-acetilmorfina	0,04	4,9	5,7	105,5
	0,08	4,7	3,5	112,4
	0,03	6,6	4,2	118,0
AEME	0,75	4,5	8,1	102,9
	1,5	8,5	8,2	102,7
	0,015	7,5	10,2	110,2
Anfetamina	0,75	8,6	10,9	96,0
	1,5	7,9	7,0	105,4
	0,003	10,4	18,0	92,2
Benzoilecgonina	0,75	2,7	12,4	103,5
	1,5	3,8	7,8	95,9
	0,003	11,5	10,4	118,6
Cocaetileno	0,75	3,4	2,7	107,8
	1,5	3,3	2,1	109,7

continua

Tabela 18. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método de *screening* em urina para todos os analitos avaliados.

Continuação

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
Cocaína	0,0015	12,3	15,1	108,8
	0,75	3,0	10,1	101,7
	1,5	2,9	6,4	100,5
Codeína	0,03	4,9	4,5	113,9
	0,75	3,5	7,1	101,2
	1,5	3,0	5,3	108,5
MDA	0,03	4,2	6,7	110,1
	0,75	2,5	10,7	102,3
	1,5	3,7	5,0	101,4
MDMA	0,015	4,5	4,5	105,0
	0,75	2,0	6,6	100,7
	1,5	2,8	4,6	102,1
Metanfetamina	0,0015	16,7	18,2	96,6
	0,75	2,6	4,9	109,4
	1,5	3,0	3,4	109,8
Morfina	0,03	8,5	6,4	105,1
	0,75	5,6	7,4	98,8
	1,5	5,2	3,1	100,3
Norcocaína	0,003	7,5	5,3	100,6
	0,75	2,5	3,7	104,4
	1,5	2,3	1,9	101,1
THC-COOH	0,015	8,6	15,6	103,2
	0,5	4,4	13,6	96,6
	1,0	3,4	14,6	110,9
Aldicarbe	0,15	18,6	10,9	112,6
	1,5	8,9	7,4	90,5
	3,0	9,5	13,7	99,7
Carbofuran	0,003	7,8	15,3	110,7
	0,75	6,8	4,3	90,1
	1,5	5,8	8,1	99,5

4.4.1.4 Integridade de diluição das amostras

Foi necessário estudar a integridade de diluição, uma vez que algumas amostras de urina apresentaram concentrações acima da faixa de trabalho. As amostras foram fortificadas em duas concentrações, baixa e alta respectivamente: 8 $\mu g.mL^{-1}$ e 30 $\mu g.mL^{-1}$. As amostras nas concentrações baixas foram diluídas 1:10 antes da extração e análise. Da mesma forma, as amostras de concentrações altas foram diluídas 1:20. As amostras de diluição foram então analisadas em sextuplicata e quantificadas por meio de uma curva de calibração preparada no mesmo dia que as amostras. Todos os resultados encontrados foram considerados satisfatórios (variação < 15%).

4.4.1.5 Efeito matriz

Pelo fato de não se realizar um extenso preparo de amostra, a resposta analítica pode ser influenciada diretamente pela matriz, principalmente pela supressão de sinal (HEGSTAD et al., 2014). Desse modo, é necessário avaliar o efeito matriz e tentar corrigi-lo. Várias estratégias podem ser empregadas, entre elas a utilização de padrões internos isotópicos.

Com a utilização de padrões internos deuterados, o efeito matriz observado foi reduzido para a todos os analitos, exceto para o paracetamol, ácido valpróico e clordiazepóxido. Como o método desenvolvido é um *screening* qualitativo, o efeito matriz observado foi considerado aceitável.

De acordo com Matuszewski, Constanzer e Chavez-Eng (2003), a presença do efeito matriz para um determinado analito não indica necessariamente que o método não é válido. Assumindo que o efeito da matriz promove a mesma resposta para o padrão e o padrão interno em todos as amostras, incluindo a curva de calibração, a concentração do analito não deve ser afetada.

Os resultados encontrados são apresentados na **Tabela 19**.

Tabela 19. Valores de média e coeficientes de variação (CV %) referentes ao efeito matriz do método de *screening* em urina.

Analito	Média (%)	CV %
Paracetamol	135,2	13,7
Alprazolam	87,3	10,0
Aminoclonazepam	104,8	6,0
Bromazepam	119,8	5,1
Clonazepam	99,8	4,1
Clordiazepóxido	171,26	9,9
Diazepam	87,9	13,7
Flunitrazepam	94,4	9,9
Midazolam	99,8	13,4
Nitrazepam	75,8	13,4
Nordiazepam	87,4	8,9
Oxazepam	87,3	3,8
Temazepam	85,6	12,3
Amitriptilina	93,3	8,8
Desipramina	107,3	9,7
Fluoxetina	108,2	12,4
Imipramina	108,7	6,3
Norfluoxetina	100,3	11,5
Nortriptilina	101,4	8,3
Paroxetina	82,8	4,5
Sertralina	60,8	12,1
Ácido valpróico	40,15	6,5
Carbamazepina	83,0	9,0
Fenitoína	91,7	5,3
Fenobarbital	112,6	4,3
6-acetilmorfina	82,2	4,5
AEME	102,0	13,1
Anfetamina	74,0	4,7
Benzoilecgonina	102,0	11,8

continua

Tabela 19. Valores de média e coeficientes de variação (CV %) referentes ao efeito matriz do método de *screening* em urina.

continua

Analito		**CV %**
Cocaetileno	99,6	8,2
Cocaína	67,0	13,9
Codeína	98,6	6,0
MDA	113,3	4,4
MDMA	99,1	3,9
Metanfetamina	97,6	11,4
Morfina	100,1	4,7
Norcocaína	140,9	11,1
THC-COOH	127,9	3,7
Aldicarbe	109,7	9,1
Carbofuran	69,2	7,2

Nas figuras a seguir são apresentados os cromatogramas obtidos por UHPLC-ESI-MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com os compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM). Na **Figura 21** são apresentados os cromatogramas de cada composto separadamente e nas **Figuras 22**, **23** e **24** os cromatogramas totais de cada classe de substâncias.

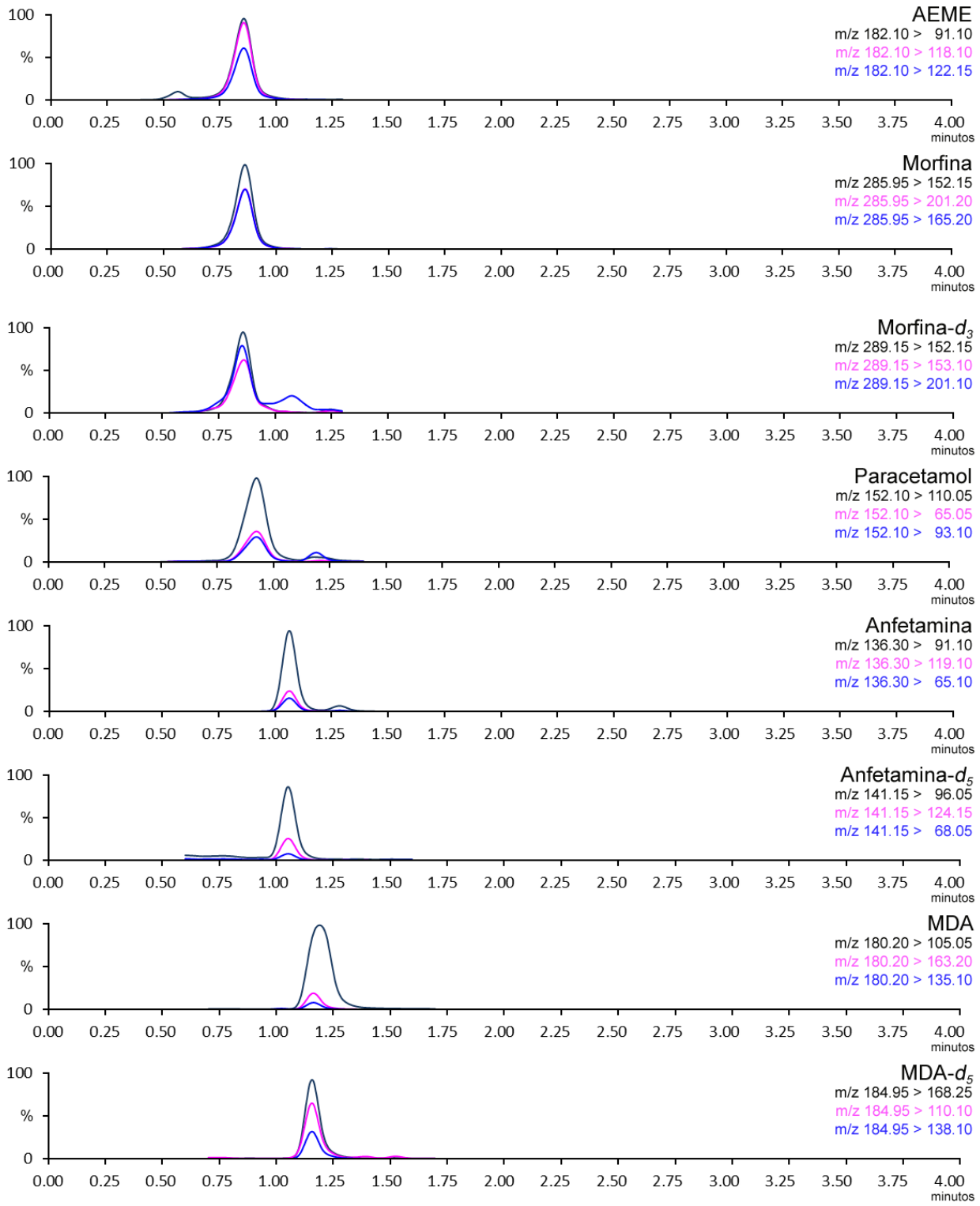
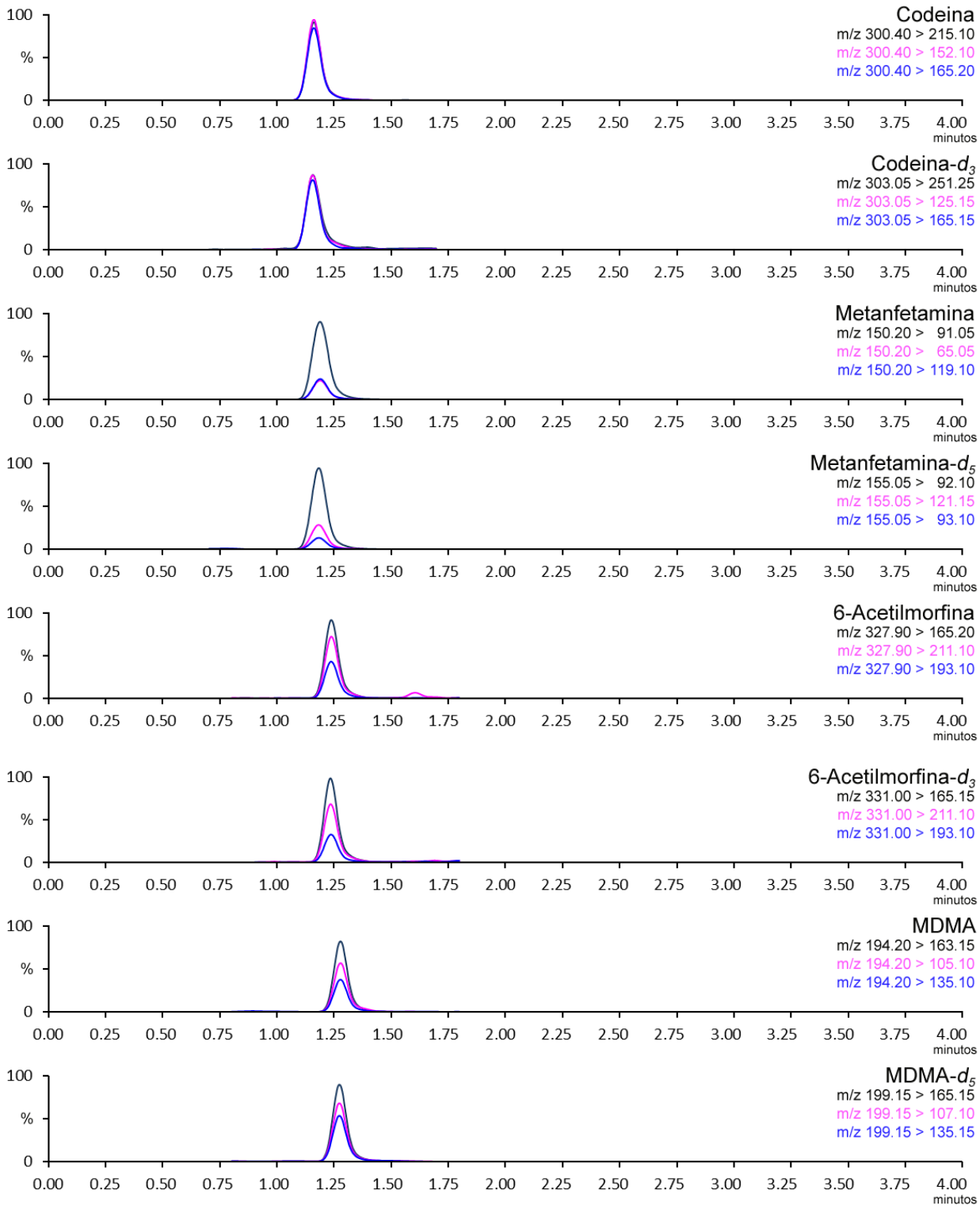
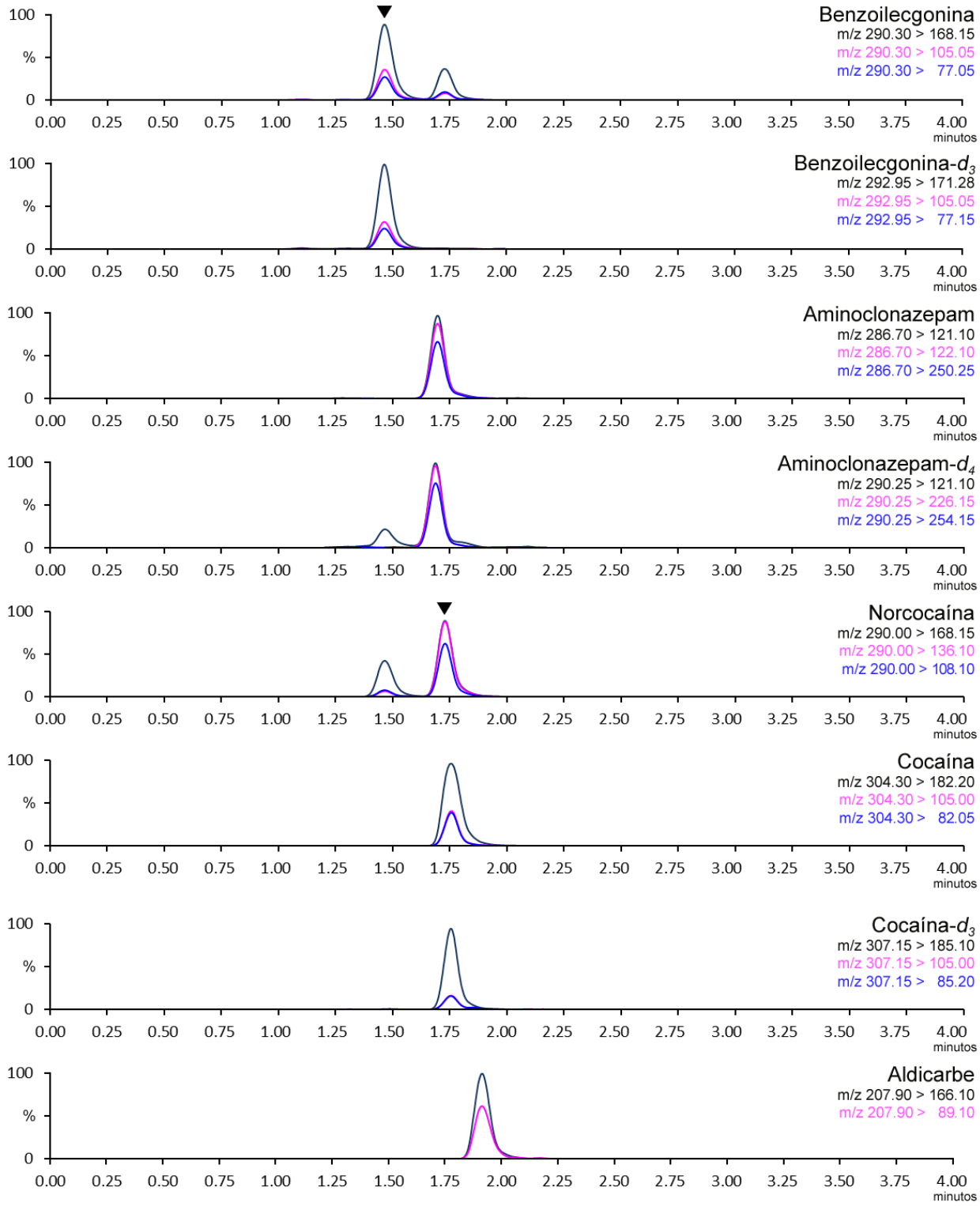


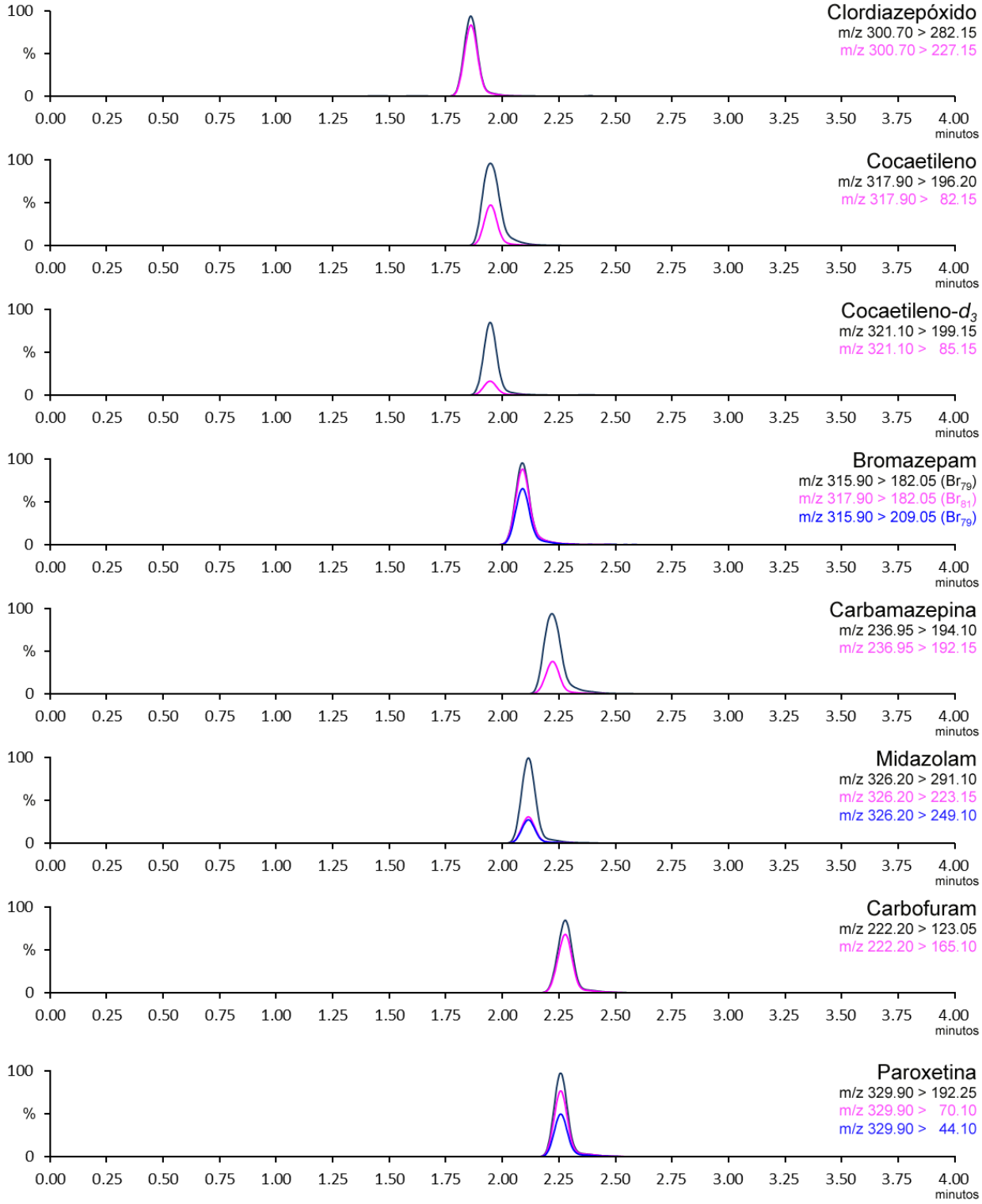
Figura 21. Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



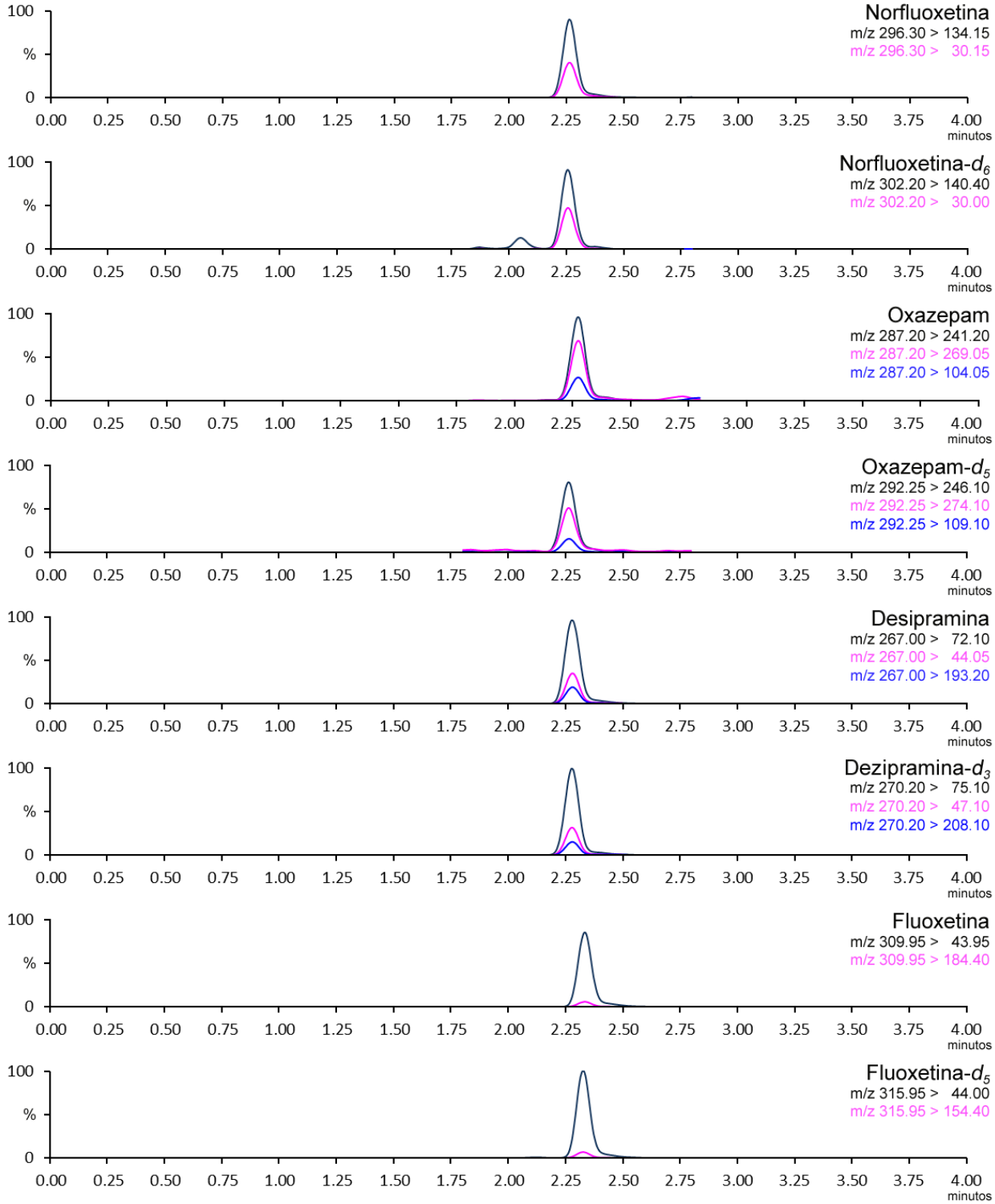
Continuação **Figura 21.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



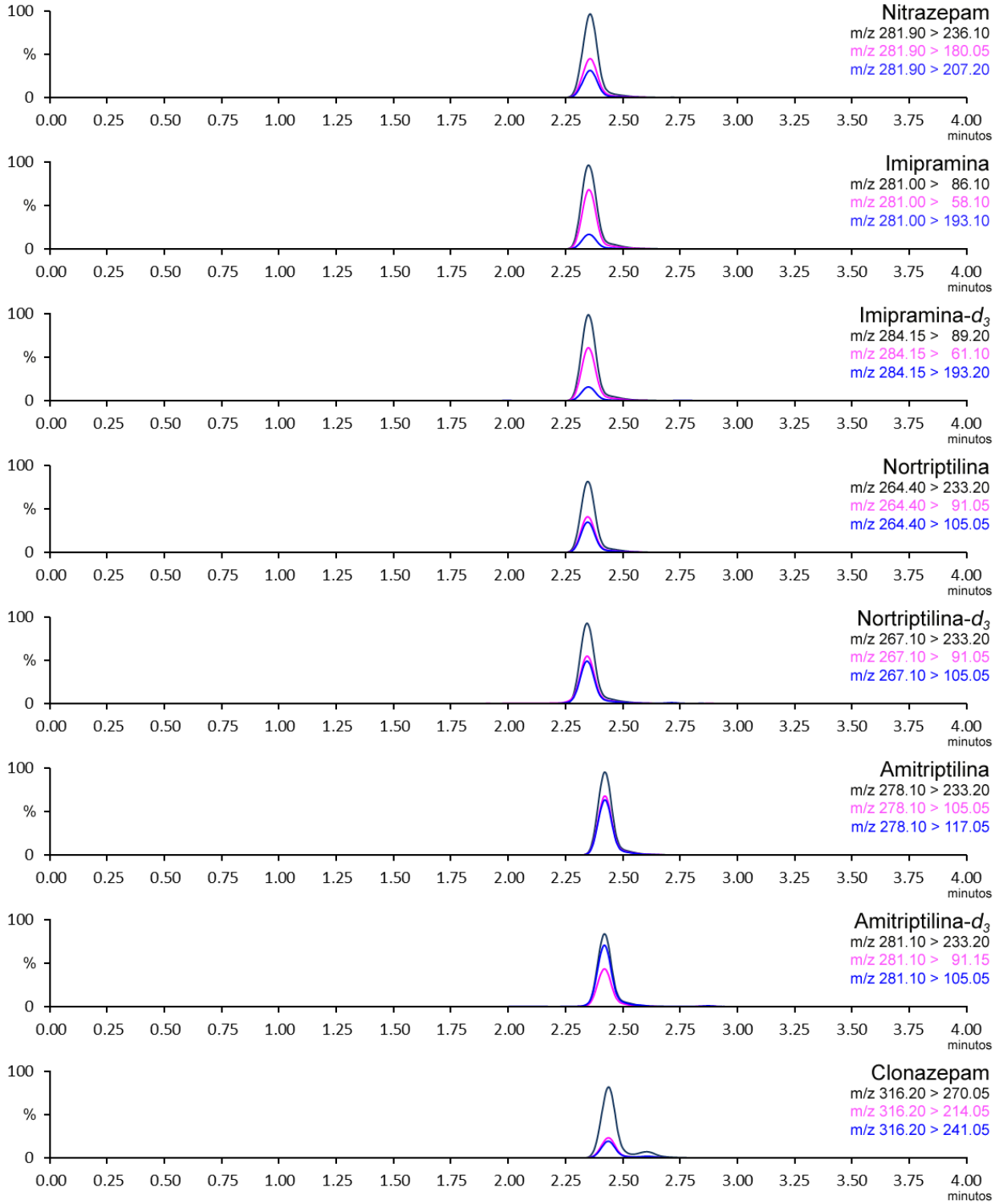
Continuação **Figura 21.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



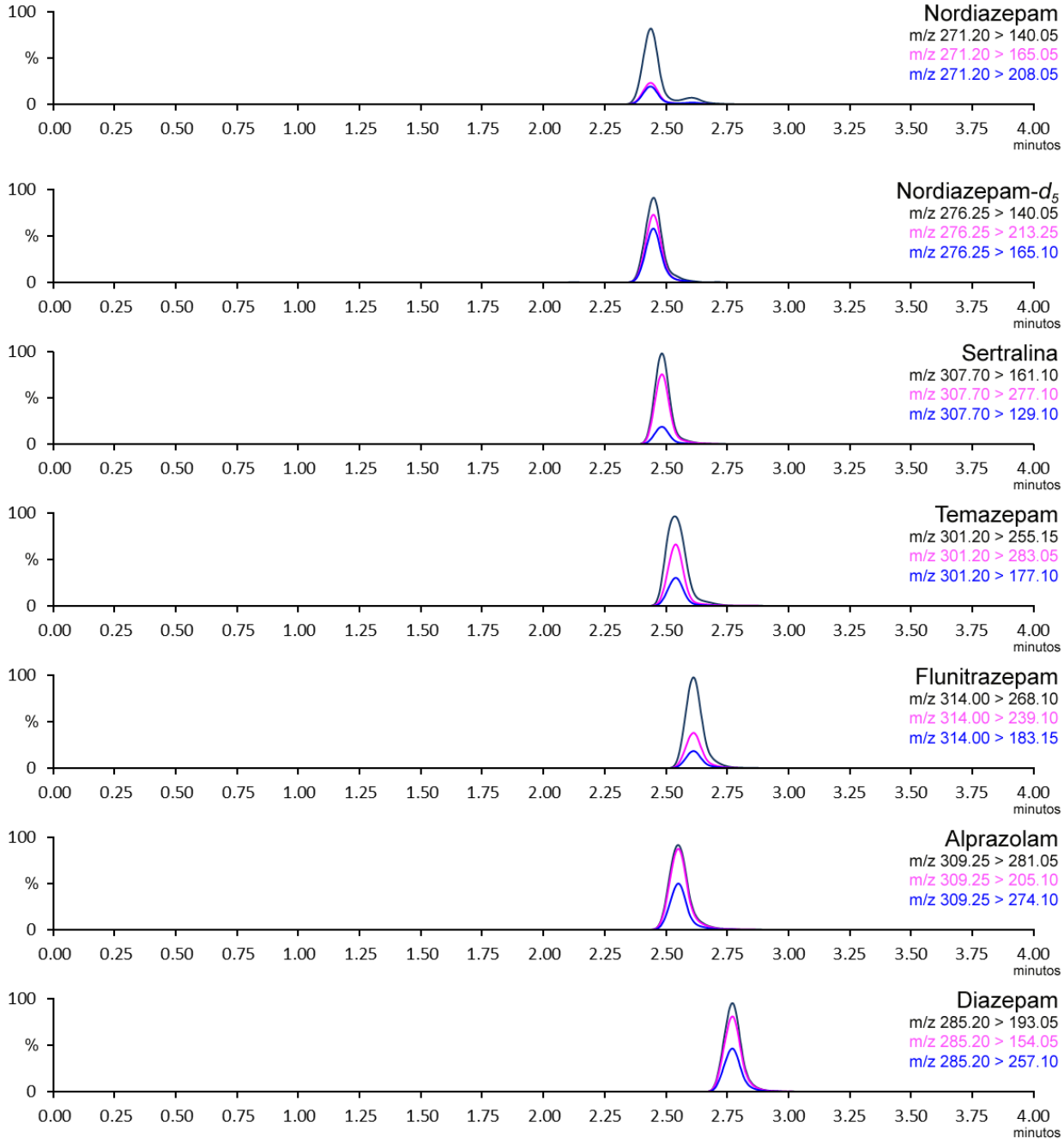
Continuação **Figura 21.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



Continuação **Figura 21.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



Continuação **Figura 21.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



Continuação **Figura 21.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**.

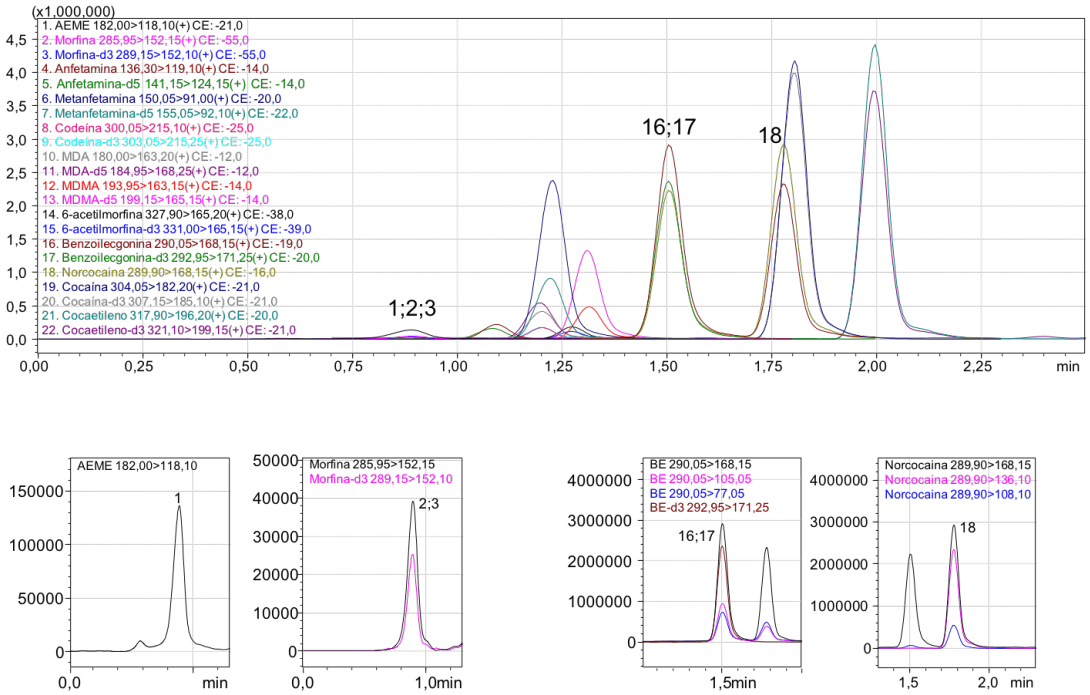


Figura 22. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias da classe drogas de abuso na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. BE, benzoilecgonina; AEME, anidroecgonina mesti éster.

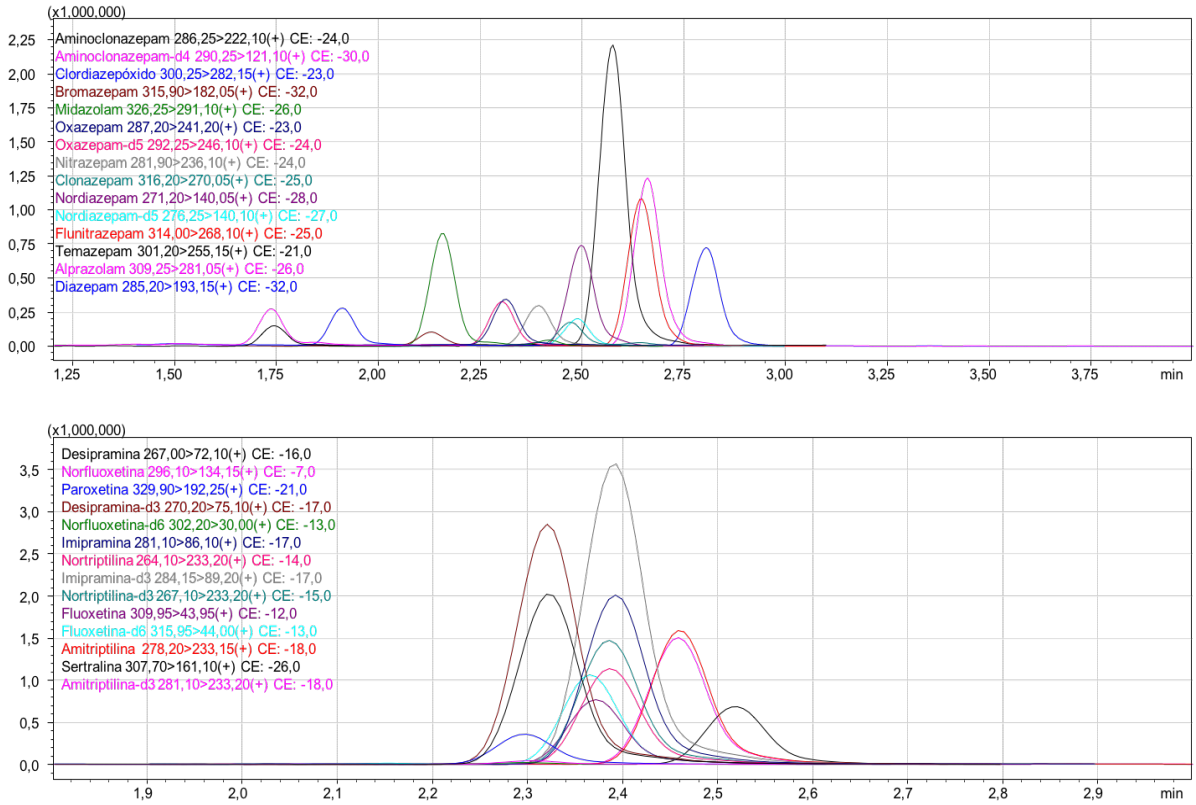


Figura 23. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias paracetamol, aldicarbe, carbamazepina e carbofuran nas concentrações do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**.

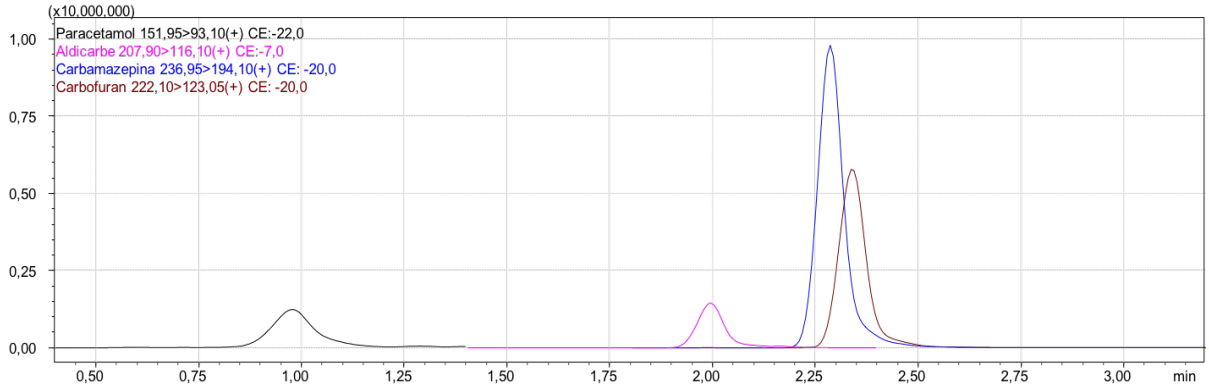


Figura 24. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo positivo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias paracetamol, aldicarbe, carbamazepina e carbofuran nas concentrações do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**.

Nas figuras a seguir são apresentados os cromatogramas obtidos por UHPLC-ESI-MS/MS em modo negativo de uma amostra de urina negativa adicionada com os compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM). Na **Figura 25** são apresentados os cromatogramas de cada composto separadamente, e na **Figura 26** o cromatograma total obtido também em modo negativo.

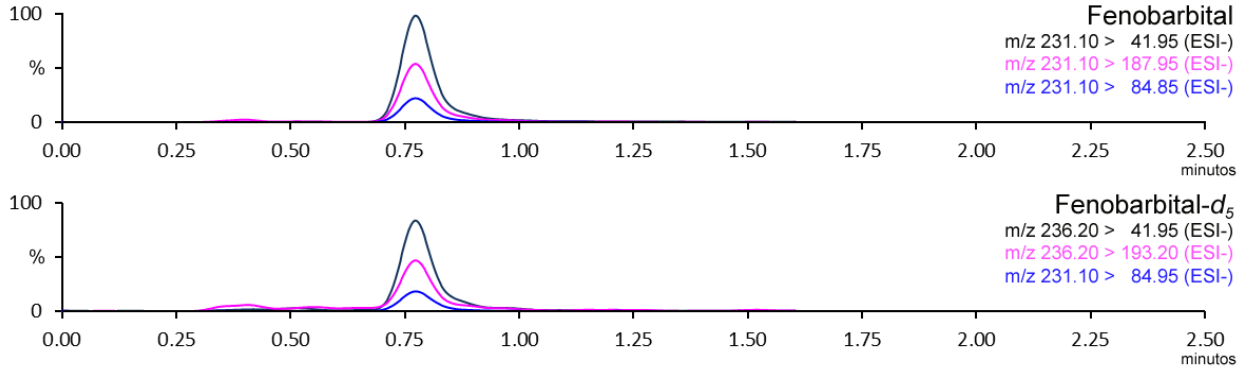
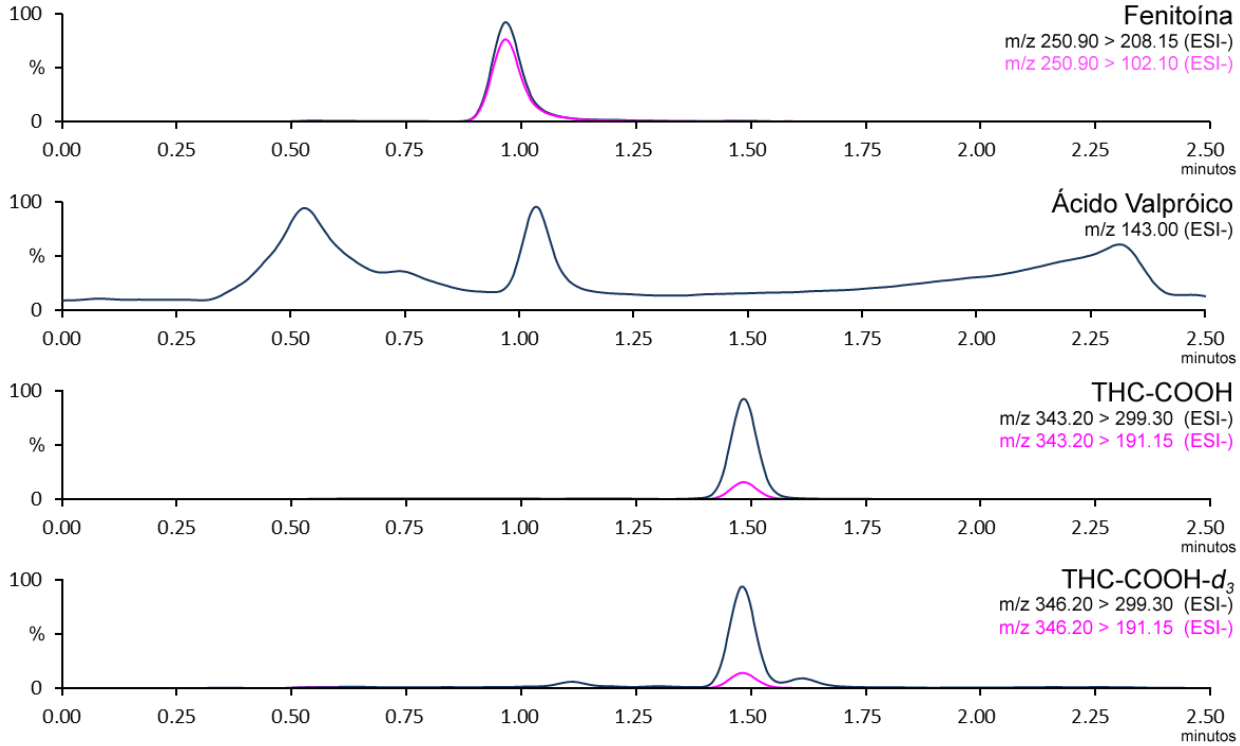


Figura 25. Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo negativo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**. *Continua*



Continuação. **Figura 25.** Cromatogramas obtidos separadamente por UHPLC–ESI–MS/MS em modo negativo de uma amostra de urina negativa adicionada com cada compostos na concentração do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**.

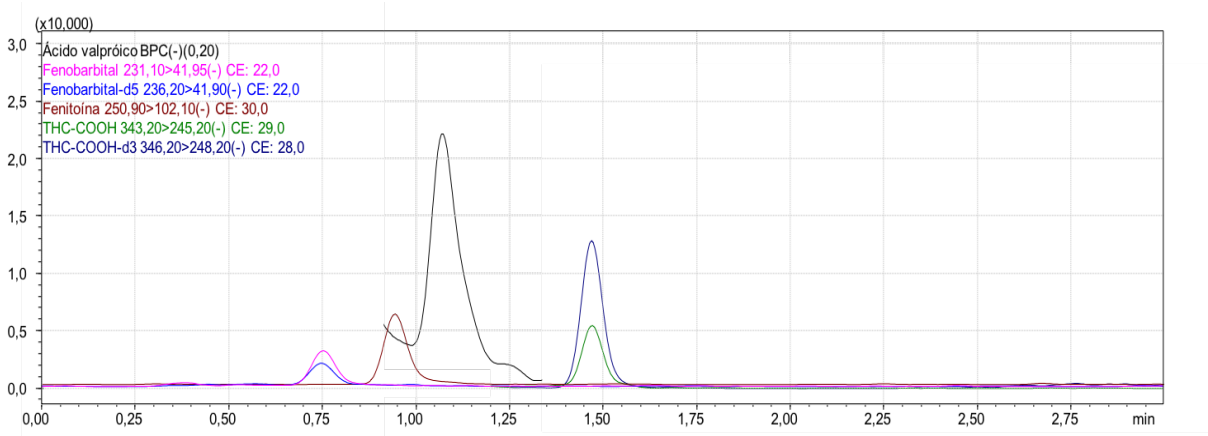


Figura 26. Cromatograma total obtido por UHPLC–ESI–MS/MS em modo negativo de uma amostra de urina negativa adicionada com as substâncias fenobarbital, fenitoína, ácido valpróico e THC-COOH nas concentrações do ponto médio da validação (CQM) e analisada de acordo com o método descrito no item **3.2.4** de **Material e Métodos**.

Diversos trabalhos utilizando LC-MS/MS para a determinação de drogas e medicamentos em urina são descritos na literatura. No trabalho publicado por Tang et al. (2014), o volume de amostra utilizado (1 mL) é bem superior quando

comparado a quantidade necessária para realizar o procedimento desenvolvido nesse trabalho, que além disso não necessita da etapa de extração. Os métodos desenvolvidos por Thörngren; Ostervall; Garle (2008), Eichhorst et al. (2009); AL-Saffar; Stephanson; Beck (2013) e Hegstad et al. (2014) são abrangentes, incluindo diversas substâncias de diferentes classes, com o preparo de amostra semelhante ao descrito nesse trabalho. No entanto, não identificamos estudos prévios descrevendo um método para a detecção dos praguicidas aldicarbe e carbofuran, além dos demais fármacos e drogas de abuso em um mesmo método, utilizando diluição simples da amostra e LC-MS/MS. Dessa forma, esse procedimento pode ser utilizado como uma alternativa aos imunoensaios empregados nos laboratórios de análises toxicológicas.

4.5 Análise confirmatória em sangue por UHPLC-ESI-MS/MS

Os resultados toxicológicos considerados positivos nos ensaios de triagem devem ser confirmados por técnicas mais específicas. Atualmente, a maioria dos métodos confirmatórios é baseada em cromatografia gasosa ou líquida acoplada à espectrometria de massas (VERSTRAET; PEAT, 2011). Dessa forma, foi desenvolvido um método para a confirmação das análises realizadas em sangue por HPLC-DAD. O procedimento de preparo de amostra foi semelhante ao utilizado no *screening* na urina, comprovando a versatilidade e aplicabilidade do procedimento de diluição e injeção em LC-MS/MS. Apesar desse tipo de procedimento já estar reportado na literatura, como citado anteriormente, o método desenvolvido para análise de sangue nesse trabalho incluiu a detecção dos praguicidas aldicarbe e carbofuran.

4.5.1 Resultados da validação do método

4.5.1.1 Menor limite de quantificação e seletividade

Os limites encontrados no método confirmatório em sangue foram considerados satisfatórios, uma vez que todos apresentam coeficientes de variação dentro da variação aceitável e estão significativamente abaixo das concentrações tóxicas, o que confirma a aplicabilidade do método para o objetivo proposto nesse

trabalho. Resultados esses que foram considerados mais significativos dos que os valores reportados por Sempio et al. (2014) e Steuer et al (2014). Os valores determinados para os LLOQs são descritos na **Tabela 20**. A seletividade foi avaliada para verificar interferentes endógenos e exógenos e nenhum sinal foi detectado nos tempos de retenção dos analitos de interesse, confirmando assim a seletividade do método.

Tabela 20. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método proposto para análise confirmatória em sangue.

Analito	**µg.mL^{-1}**	**CV %**
Paracetamol	0,02	13,0
Alprazolam	0,001	13,3
Aminoclonazepam	0,001	11,4
Bromazepam	0,01	14,8
Clonazepam	0,01	13,3
Clordiazepóxido	0,01	14,5
Diazepam	0,005	8,4
Flunitrazepam	0,005	13,4
Midazolam	0,005	12,3
Nitrazepam	0,005	13,8
Nordiazepam	0,005	6,9
Oxazepam	0,005	12,2
Temazepam	0,005	11,9
Amitriptilina	0,001	11,0
Desipramina	0,001	14,7
Fluoxetina	0,001	13,9
Imipramina	0,0005	14,2
Norfluoxetina	0,005	11,4
Nortriptilina	0,001	13,8
Paroxetina	0,005	12,1
Sertralina	0,001	10,9
Ácido valpróico	0,02	12,7

continua

Tabela 20. Valores de menor limite de quantificação (LLOQ) com a aplicação do método :o para análise confirmatória em sangue.

continuação

Analito	**µg.mL^{-1}**	**CV %**
Carbamazepina	0,001	13,2
Fenitoína	0,01	14,6
Fenobarbital	0,01	14,7
6-acetilmorfina	0,001	13,9
AEME	0,02	11,0
Anfetamina	0,001	9,1
Benzoilecgonina	0,0005	12,9
Cocaetileno	0,0005	14,4
Cocaína	0,0005	7,5
Codeína	0,005	6,5
MDA	0,005	12,4
MDMA	0,001	13,2
Metanfetamina	0,0005	12,4
Morfina	0,01	12,0
Norcocaína	0,005	10,2
Aldicarbe	0,02	12,1
Carbofuran	0,0005	11,3

4.5.1.2 Linearidade

As faixas de concentrações para cada curva analítica foram determinadas levando em consideração, quando possível, as concentrações terapêuticas e tóxicas de cada substância. Os intervalos de concentração determinados nesse trabalho estão de acordo com os reportados por Dziadosz et al. (2018) que estipularam valores entre 0,002 e 0,05 µg.mL^{-1}. Já Arora et al. (2016) utilizaram concentrações de trabalho entre 0,007 e 2,5 µg.mL^{-1}. Assim, as faixas de trabalho utilizadas, as equações da regressão linear encontradas e os coeficientes de determinação estão descritos na **Tabela 21**.

Tabela 21. Equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos com a aplicação do método confirmatório em sangue.

Analito	Intervalo de Concentração ($\mu g.mL^{-1}$)	Equação da reta	Coeficiente de determinação
Paracetamol	0,02 – 2	$y = 0,0554x – 0,1512$	$r^2 = 0,9995$
Alprazolam	0,001 – 2	$y = 0,0472x + 0,7016$	$r^2 = 0,9988$
Aminoclonazepam	0,001 – 2	$y = 0,0065x – 0,0388$	$r^2 = 0, 9994$
Bromazepam	0,01 – 2	$y = 0,0047x + 0,1531$	$r^2 = 0,9938$
Clonazepam	0,01 – 2	$y = 0,0097x – 0,1957$	$r^2 = 0,9989$
Clordiazepóxido	0,01 – 2	$y = 0,0165x – 0,5719$	$r^2 = 0,9959$
Diazepam	0,005 – 2	$y = 0,0359x – 0,4431$	$r^2 = 0,9993$
Flunitrazepam	0,005 – 2	$y = 0,0483x – 0,0176$	$r^2 = 0,9982$
Midazolam	0,005 – 2	$y = 0,0070x – 2,1932$	$r^2 = 0,9974$
Nitrazepam	0,005 – 2	$y = 0,0210x – 0,1202$	$r^2 = 0,9995$
Nordiazepam	0,005 – 2	$y = 0,0251x + 0,0119$	$r^2 = 0,9991$
Oxazepam	0,005 – 2	$y = 0,0069x + 0,3201$	$r^2 = 0,9908$
Temazepam	0,005 – 2	$y = 0,0364x – 0,4968$	$r^2 = 0,9993$
Amitriptilina	0,001 – 1	$y = 0,0142x – 0,1425$	$r^2 = 0,9983$
Desipramina	0,001 – 1	$y = 0,0096x – 0,0685$	$r^2 = 0,9989$
Fluoxetina	0,001 – 1	$y = 0,0118x – 0,1951$	$r^2 = 0,9975$
Imipramina	0,0005 – 1	$y = 0,0077x – 0,0791$	$r^2 = 0,9984$
Norfluoxetina	0,005 – 1	$y = 0,0442x – 0,0040$	$r^2 = 0,9995$
Nortriptilina	0,001 – 1	$y = 0,0102x + 0,0029$	$r^2 = 0,9982$
Paroxetina	0,005 – 1	$y = 0,0136x + 0,3103$	$r^2 = 0,9921$
Sertralina	0,001 – 1	$y = 0,0218x + 0,2327$	$r^2 = 0,9932$
Ácido valpróico	0,02 – 4	$y = 0,0172x + 4,0318$	$r^2 = 0,9990$
Carbamazepina	0,001 – 2	$y = 0,0163x + 0,7190$	$r^2 = 0,9909$
Fenitoína	0,01 – 2	$y = 0,0107x + 0,1526$	$r^2 = 0,9976$
Fenobarbital	0,01 – 2	$y = 0,0037x + 0,0295$	$r^2 = 0,9994$

Continua

Tabela 21. Equações da regressão linear e os coeficientes de determinação dos analitos com a aplicação do método confirmatório em sangue.

continuação

Analito	Intervalo de Concentração (µg.mL^{-1})	Equação da reta	Coeficiente de determinação
6-acetilmorfina	0,001 – 0,1	$y = 0{,}0194x + 0{,}0252$	$r^2 = 0{,}9961$
AEME	0,02 – 4	$y = 0{,}0256x – 0{,}6622$	$r^2 = 0{,}9974$
Anfetamina	0,001 – 4	$y = 0{,}0158x – 0{,}2170$	$r^2 = 0{,}9985$
Benzoilecgonina	0,0005 – 2	*y = 0,0024x – 0,0150*	*r2= 0,9999*
Cocaetileno	0,0005 – 2	*y = 0,0014x + 0,0044*	*r2= 0,9987*
Cocaína	0,0005 – 2	*y = 0,0015 x + 0,0180*	*r2= 0,9994*
Codeína	0,005 – 2	*y = 0,0052x + 0,0201*	*r2= 0,9998*
MDA	0,005 – 2	*y = 0,0053x – 0,0283*	*r2= 0,9998*
MDMA	0,001 – 2	*y = 0,0021x – 0,0084*	*r2= 0,9994*
Metanfetamina	0,0005 – 2	*y = 0,0162x – 0,1845*	*r2= 0,9990*
Morfina	0,01 – 2	*y = 0,0106x – 0,0738*	*r2= 0,9996*
Norcocaína	0,005 – 2	*y = 0,0013x + 0,0372*	*r2= 0,9970*
Aldicarbe	0,02 – 4	*y = 0,0005x + 0,0399*	*r2= 0,9937*
Carbofuran	0,0005 – 2	*y = 0,0298x + 1,0978*	*r2= 0,9909*

4.5.1.3 Precisão intra e inter-dia e exatidão do método

As precisões intra e inter-dia foram avaliadas em três concentrações em seis replicatas cada, em três dias consecutivos. Os valores obtidos foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e os resultados da precisão intra-dia apresentaram variação de 1,8%, que corresponde aos controles médios da anfetamina e MDA, a 19,8%, referente ao controle baixo do fenobarbital. Já para a precisão inter-dia os valores encontrados estavam dentro do limite de variação de 1,9% (controle alto do MDMA) a 18,6% (controle baixo do aldicarbe). Chen et al. (2016) reportaram valores de precisão semelhantes. Arora et al. (2016) encontraram valores entre 0,1 e 19% no ensaio de precisão e 82,1 a 119% na exatidão do método por LC-MS. Todos os resultados obtidos para a precisão e exatidão do método foram considerados satisfatórios. Os valores obtidos para a precisão e exatidão do método desenvolvido neste trabalho estão apresentados na **Tabela 22.**

Tabela 22. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método confirmatório em sangue para todos os analitos avaliados.

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
Paracetamol	0,06	8,0	7,7	105,0
	0,75	7,9	9,6	100,2
	1,5	7,5	6,8	106,6
Alprazolam	0,003	13,5	8,7	86,4
	0,75	7,1	6,4	100,7
	1,5	7,3	10,4	99,4
Aminoclonazepa	0,003	11,8	7,2	90,4
	0,75	4,9	3,0	111,6
	1,5	5,9	5,0	108,2
Bromazepam	0,03	15,8	12,9	97,4
	0,75	8,5	10,1	96,0
	1,5	8,5	6,7	98,5
Clonazepam	0,03	13,9	10,3	115,7
	0,75	7,2	9,8	99,7
	1,5	7,9	10,1	101,0
Clordiazepóxido	0,03	9,3	10,9	101,1
	0,75	8,7	8,1	97,6
	1,5	8,6	7,9	105,7
Diazepam	0,015	10,7	7,8	90,6
	0,75	6,3	9,3	98,0
	1,5	7,0	11,3	94,1
Flunitrazepam	0,015	10,3	6,3	98,0
	0,75	6,4	8,8	89,7
	1,5	6,9	9,7	93,7
Midazolam	0,015	8,5	9,7	110,0
	0,75	7,2	10,1	91,3
	1,5	8,4	9,4	97,4
Nitrazepam	0,015	12,1	14,1	95,0
	0,75	6,9	6,0	92,5
	1,5	7,8	8,4	96,0

continua

Tabela 22. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método confirmatório em sangue para todos os analitos avaliados.

continuação

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
	0,015	13,2	11,6	99,7
Nordiazepam	0,75	6,8	4,2	97,5
	1,5	6,5	3,9	95,3
	0,015	10,5	6,1	84,0
Oxazepam	0,75	9,6	7,7	103,1
	1,5	8,5	7,2	108,0
	0,015	14,8	11,3	97,8
Temazepam	0,75	6,4	12,9	98,7
	1,5	6,4	11,3	96,4
	0,003	16,3	13,3	82,2
Amitriptilina	0,4	5,0	3,3	86,0
	0,8	4,7	7,9	94,0
	0,003	12,3	13,1	83,5
Desipramina	0,4	4,6	8,3	93,5
	0,8	2,6	3,8	99,7
	0,003	9,9	8,2	99,7
Fluoxetina	0,4	3,9	6,3	98,5
	0,8	4,4	3,7	99,6
	0,0015	13,6	11,9	97,8
Imipramina	0,4	2,7	14,0	100,6
	0,8	7,0	4,6	95,7
	0,015	14,4	14,3	94,3
Norfluoxetina	0,4	12,6	12,4	97,0
	0,8	13,8	12,7	99,8
	0,003	12,1	6,0	88,4
Nortriptilina	0,4	3,4	5,8	90,1
	0,8	4,2	4,2	99,1

continua

Tabela 22. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método confirmatório em sangue para todos os analitos avaliados.

continuação

Analitos	Concentração dos controles (μg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
Paroxetina	0,015	9,6	17,9	103,3
	0,4	9,6	9,4	94,8
	0,8	9,5	9,2	96,9
Sertralina	0,003	14,3	9,5	107,6
	0,4	6,4	7,4	97,5
	0,8	9,6	8,9	97,9
Ácido valpróico	0,06	11,9	10,5	105,5
	0,9	13,6	8,7	99,8
	1,8	9,9	5,9	104,4
Carbamazepina	0,003	17,2	12,5	97,3
	0,75	7,8	6,1	106,6
	1,5	9,3	7,1	108,4
Fenitoína	0,03	13,5	9,3	94,5
	0,9	13,2	9,4	96,7
	1,8	8,9	7,0	98,1
Fenobarbital	0,03	19,8	13,9	93,9
	0,9	12,7	10,3	94,8
	1,8	9,3	6,9	110,7
6-acetilmorfina	0,003	11,8	8,4	96,1
	0,04	3,8	11,8	108,6
	0,08	4,6	2,7	108,3
AEME	0,06	13,7	13,5	99,3
	0,75	7,4	13,4	101,3
	1,5	11,5	6,7	101,8
Anfetamina	0,003	12,2	14,4	93,2
	0,75	1,8	8,1	97,6
	1,5	3,6	2,1	104,3

continua

Tabela 22. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método confirmatório em sangue para todos os analitos avaliados.

continuação

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
Benzoilecgonina	0,0015	12,1	8,9	107,6
	0,75	3,1	6,4	96,8
	1,5	9,4	10,1	99,1
Cocaetileno	0,0015	15,7	9,9	89,1
	0,75	2,9	5,9	96,6
	1,5	3,7	2,5	103,4
Cocaína	0,0015	15,8	9,1	99,6
	0,75	2,6	4,8	95,3
	1,5	3,9	2,6	98,9
Codeína	0,015	12,4	11,3	96,4
	0,75	3,8	10,4	97,5
	1,5	4,2	2,4	100,8
MDA	0,015	9,1	11,9	95,7
	0,75	1,8	9,0	96,4
	1,5	3,4	2,3	99,8
MDMA	0,003	10,2	18,5	90,7
	0,75	1,6	6,7	96,8
	1,5	3,0	1,9	96,4
Metanfetamina	0,0015	12,5	16,1	99,5
	0,75	1,5	10,0	94,3
	1,5	2,4	3,3	93,9
Morfina	0,03	11,5	17,5	106,5
	0,75	6,8	9,6	97,0
	1,5	9,9	7,6	99,8
Norcocaína	0,015	8,0	10,6	100,8
	0,75	2,8	8,3	96,6
	1,5	3,9	2,5	105,4

continua

Tabela 22. Coeficientes de variação (CV%) correspondentes às precisões intra e inter-dia e resultados da exatidão do método confirmatório em sangue para todos os analitos avaliados.

continuação

Analitos	Concentração dos controles (µg.mL^{-1})	Precisão intra-dia (CV%)	Precisão inter-dia (CV%)	Exatidão (%)
	0,06	10,9	18,6	86,8
Aldicarbe	1,5	9,3	11,6	93,7
	3,0	7,0	8,6	104,9
	0,0015	16,2	16,8	95,0
Carbofuran	0,75	8,2	7,7	96,9
	1,5	8,8	6,1	105,7

4.5.1.4 Efeito matriz

O efeito matriz em sangue foi calculado da mesma forma utilizada para verificar o ME em amostras de urina, seguindo a fórmula descrita anteriormente, no entanto a mistura de solvente utilizada foi acetonitrila/metanol. Os resultados encontrados são apresentados na **Tabela 23**.

Tabela 23. Valores de média e coeficientes de variação (CV %) referentes ao efeito matriz do método confirmatório em sangue.

Analito	Média (%)	CV %
Paracetamol	98,1	11,2
Alprazolam	98,0	13,6
Aminoclonazepam	81,4	14,0
Bromazepam	152,0	7,3
Clonazepam	114,8	7,9
Clordiazepóxido	110,3	12,3
Diazepam	82,9	9,5
Flunitrazepam	91,3	8,8
Midazolam	127,3	10,2
Nitrazepam	134,2	8,6

continua

Tabela 23. Valores de média e coeficientes de variação (CV %) referentes ao efeito matriz do método confirmatório em sangue.

continuação

Analito	Média	CV %
Nordiazepam	94,9	6,9
Oxazepam	113,4	6,2
Temazepam	91,7	8,2
Amitriptilina	109,1	7,6
Desipramina	100,9	7,7
Fluoxetina	132,3	8,3
Imipramina	82,5	14,7
Norfluoxetina	122,4	14,9
Nortriptilina	99,7	14,0
Paroxetina	125,8	10,6
Sertralina	114,0	10,2
Ácido valpróico	76,5	10,6
Carbamazepina	114,6	13,3
Fenitoína	66,7	13,1
Fenobarbital	84,0	11,9
6-acetilmorfina	101,3	10,1
AEME	115,2	10,6
Anfetamina	138,3	2,2
Benzoilecgonina	118,6	8,0
Cocaetileno	131,9	9,6
Cocaína	110,1	13,9
Codeína	101,6	7,8
MDA	113,0	12,1
MDMA	129,5	7,6
Metanfetamina	108,2	7,9
Morfina	100,3	13,3
Norcocaína	103,2	7,4
Aldicarbe	156,8	11,8
Carbofuran	137,3	10,7

Um efeito matriz relevante foi observado para algumas substâncias (aldicarbe, e bromazepam (aumento de sinal) e fenitoína (supressão). No entanto, não são considerados discrepantes comparados aos publicados na literatura com metodologias similares (CHEN et al., 2016; SEMPIO et al., 2014). Além disso, como a sensibilidade do método foi considerada satisfatória, o efeito matriz não influenciou negativamente na aplicação do método.

4.6 Análise comparativa entre as concentrações sanguínea e plasmática

As concentrações plasmáticas das substâncias elencadas no estudo foram calculadas, para cada amostra, a partir da seguinte Equação (2):

$$Concentração\ plasmática = \frac{Concentração\ \ sanguínea}{(1 - hematócrito)}$$

Foi utilizado o valor normal médio de hematócrito de 0,45 (45%). Para verificar se houve diferença estatística entre as concentrações reais (CR; plasma analisado por HPLC-DAD) e as concentrações teóricas (CT; calculado por meio da fórmula citada acima) foi aplicado então o teste *t* de *Student* pareado entre 15 amostras de plasma e sangue das 5 classes de substâncias (n=3 para cada classe). Os resultados obtidos encontram-se descritos na **Figura 27**.

O valor de *p* encontrado (0,2160) é maior que o nível de significância (0,05), assim, não podemos desconsiderar a hipótese nula. Nossa hipótese nula assume que a concentração plasmática obtida por meio da equação (teórica) é igual a concentração plasmática obtida pela análise (real). Então a hipótese nula é aceita e podemos concluir que não há diferença significativa entre os dois valores. Portanto, podemos utilizar a equação para extrapolar a concentração sanguínea para plasmática.

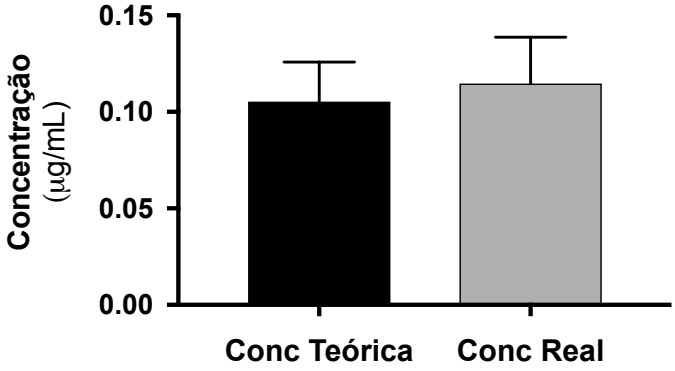


Figura 27. Análise estatística comparativa das concentrações teóricas e reais para avaliar a extrapolação da concentração sanguinea para plasmática utilizando a equação (2).

4.7 Análise comparativa dos resultados obtidos das análises de sangue e urina pelos métodos desenvolvidos.

Os cinco métodos desenvolvidos foram aplicados em 320 amostras de sangue e urina coletadas no CCI-SP entre dezembro 2014 e dezembro 2017, sendo que 192 amostras de sangue apresentaram resultados positivos para algum analito (incluindo etanol). A partir desses dados, foi realizada a etapa subsequente, constituída pelas análises confirmatórias em sangue realizadas no sistema de UHPLC-ESI-MS/MS descrito no item **3.2.5 de Material e Métodos**. Os dados obtidos se mostraram consistentes com a primeira análise, uma vez que não foram detectados falso-positivo, ou seja, todas as amostras positivas na triagem eram verdadeiramente positivas.

Os resultados das amostras positivas em sangue ou urina para pelo menos uma substância em um método, estão descritos na **Tabela 24**.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

Amostra	*Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})	Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})	*Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)	Triagem CCI
001	ND	0,42	Benzoilecgonina Norcocaína Cocaína Cocaetileno THC	COC THC
004	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina THC	COC THC
005	ND	ND	Ácido valpróico Benzoilecgonina	COC
006	ND	ND	Benzoilecgonina	-
007	ND	ND	Paracetamol Aminoclonazepam	-
008	Aprazolam 0,51 Clonazepam 0,14 Sertralina 0,86 Fenobarbital 2,86	ND	Sertralina Fenobarbital Aminoclonazepam Ácido valpróico	Barb
009	Clonazepam 0,05 Amitriptilina 0,26	ND	Benzoilecgonina	COC
010	Diazepam 0,55 Imipramina 0,44	0,71	Paracetamol Temazepam Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina Cocaetileno	-
011	ND	ND	Aminoclonazepam	-
012	Clonazepam 0,1	ND	ND	-
013	ND	2,0	THC	-
014	Diazepam 0,07 Alprazolam 0,03	ND	Paracetamol Benzoilecgonina Cocaetileno Carbamazepina	COC BZD
016	Alprazolam 0,16 Imipramina 0,15	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Benzoilecgonina THC	COC THC
017	ND	ND	Norfluoxetina Paracetamol Benzoilecgonina Carbamazepina	COC
018	Carbamazepina 9,84	ND	Carbamazepina Benzoilecgonina Carbamazepina	COC
019	ND	ND	Aminoclonazepam THC	BZD
020	ND	0,39	THC	Etanol

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
022	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina Temazepam	COC BZD
023	Carbamazepina 32,08	ND	Carbamazepina	ND
024	ND	2,61	Paracetamol THC	ND
025	Oxazepam 0,33	ND	ND	Paracetamol
026	Fluoxetina 0,35	ND	Fluoxetina Norfluoxetina THC	THC
027	Diazepam 0,1	ND	Paracetamol Morfina	Paracetamol
028	Diazepam 0,18	ND	THC	THC
029	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Oxazepam THC	Cocaína BZD THC
030	ND	ND	Amitriptilina Nortriptilina	ND
031	Oxazepam 0,06 Fenitoína 9,19	2,01	Paracetamol Fenitoína Benzoilecgonina	COC BZD
032	Fenitoína 10,68	0,39	Paracetamol Fenitoína Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina	COC Barb
033	Diazepam 0,67 Nordiazepam 0,40 Carbamazepina 6,58	2,09	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Aminoclonazepam Oxazepam Temazepam Carbamazepina	COC BZD

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
034	ND	ND	AEME Paracetamol Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Temazepam	COC
036	ND	ND	AEME Paracetamol Benzoilecgonina THC	COC BZD THC
037	Cocaína 0,33	ND	ND	-
039	ND	3,33	THC	THC
040	ND	0,54	ND	-
041	ND	ND	Amitriptilina	ATC
042	ND	ND	Paracetamol	ND
043	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina	COC
044	Fluoxetina 0,26	ND	Paracetamol Fluoxetina	-
045	ND	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina THC	-
046	Diazepam 0,31	0,54	AEME Paracetamol Fenitoína Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	-
047	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina	COC
049	Carbamazepina 6,03	ND	Carbamazepina	-
051	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Carbamazepina	COC
053	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Benzoilecgonina	COC
054	ND	ND	Paracetamol	PGC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho. *continuação*

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
055	ND	ND	AEME Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina	COC BZD
057	Carbamazepina 21,14 Diazepam 0,66 Nordiazepam 0,30	ND	ND	-
058	ND	2,92	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC Etanol
059	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
060	Clonazepam 1,78 Amitriptilina 0,34	ND	Midazolam	-
061	Paracetamol 31,05	ND	ND	-
062	ND	ND	THC	THC ATC BZD
063	ND	ND	Paracetamol	-
064	ND	ND	Paracetamol	-
067	ND	ND	Paracetamol Cocaína Norcocaína Benzoilecgonina THC	-
068	ND	ND	Benzoilecgonina Cocaína, THC Paracetamol	-
070	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina THC	-
071	ND	0,27	Benzoilecgonina Cocaetileno Paracetamol	-
072	ND	ND	Paracetamol	-
073	ND	0,62	Paracetamol Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina THC	-

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	*Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})	Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})	*Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)	Triagem CCI
075	Amitriptilina 0,41	ND	Paracetamol Amitriptilina Fluoxetina Norfluoxetina	-
078	ND	0,9	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC Etanol
079	Cocaína 0,14	0,52	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina THC Carbamazepina	-
080	ND	ND	Paracetamol Norcocaína Benzoilecgonina	COC THC
083	Carbamazepina 5,88	ND	Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina Paracetamol Carbamazepina THC	COC THC
084	ND	1,54	Paracetamol	-
085	ND	ND	Paracetamol Carbofuran	-
086	Fenobarbital 139,25 Alprazolam 0,11	ND	Ácido valpróico Carbamazepina	BZD
087	ND	2,98	Paracetamol Oxazepam Temazepam	BZD
088	Cocaína 1,44	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC
090	Paracetamol 13,31	ND	Paracetamol	-
091	Amitriptilina 0,65 Nortriptilina 0,17	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Amitriptilina Nortriptilina THC	COC THC ATC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
092	Fenitoína 10,48 Amitriptilina 0,88 Nortriptilina 0,29 Carbamazepina 5,39	ND	Fenitoína	BZD ATC Barb
093	Cocaína 0,15	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
094	Cocaína 0,11	ND	Paracetamol AEME Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
095	ND	0,63	Paracetamol AEME Norcocaína Cocaína, Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
096	Paracetamol 46,47	ND	Paracetamol	-
097	Cocaína 0,18	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina THC	-
098	Carbamazepina 61,68	ND	ND	-
100	Cocaína 0,16 Cocaetileno 0,59	2,3	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC Etanol
101	Clonazepam 0,11	ND	Paracetamol Aminoclonazepam	BZD
102	Carbamazepina 1,97	ND	ND	ATC, OPI
0.103	Cocaína 0,15	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
105	Carbamazepina 18,30	3,39	Aminoclonazepam Carbamazepina	Etanol BZD Carbamazepina

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
106	Sertralina 3,88 Carbamazepina 39,92	ND	Norcocaína Paracetamol Fluoxetina Norfluoxetina Carbamazepina	-
107	Fenitoína 20,8 Cocaína 0,19	ND	ND	COC Etanol
108	Cocaína 0,18	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Benzoilecgonina Aminoclonazepam	COC BZD
109	Cocaína 0,15	ND	Paracetamol Benzoilecgonina	COC THC BZD
110	ND	4,79	Benzoilecgonina Paracetamol Aminoclonazepam	COC
111	Carbamazepina 16,16	ND	Paracetamol Benzoilecgonina Carbamazepina	-
112	Carbamazepina 4,22	1,16	ND	Etanol
113	Diazepam 0,14 Cocaína 0,12 Cocaetileno 0,15	1,35	Paracetamol MDA, MDMA Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina THC	COC THC MDMA
116	Cocaína 0,13	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina THC	COC THC
117	ND	3,91	ND	COC, BZD Etanol
118	ND	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	-
119	ND	ND	THC	COC, THC
120	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina Cocaetileno THC	-
121	ND	ND	Norcocaína Benzoilecgonina	-

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
123	ND	0,57	AEME Benzoilecgonina Cocaetileno	COC BZD
124	ND	ND	Paracetamol Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina Nortriptilina Temazepam THC	COC THC BZD ATC
125	ND	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC
127	Cocaína 0,12	ND	Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina	COC
128	ND	ND	Paracetamol MDMA, MDA Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina Ácido valpróico THC	COC MDMA
129	ND	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
130	ND	ND	Benzoilecgonina	COC
131	Cocaína 0,17	ND	Aminoclonazepam	ND
132	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
133	Cocaína 0,13	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina THC Ácido valpróico	COC THC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
134	Amitriptilina 1,73 Clonazepam 0,13 Cocaína 2,84	ND	ND	-
135	Clonazepam 0,1	ND	ND	-
136	ND	ND	THC	THC
137	Clonazepam 0,17	ND	ND	ND
138	Cocaína 0,24	ND	Paracetamol Norcocaína Benzoilecgonina THC	COC THC
140	Diazepam 6,31	0,97	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Norfluoxetina	BZD
141	Cocaína 0,11 Cocaetileno 0,10	1,18	AEME Paracetamol Cocaetileno Benzoilecgonina	COC BZD
142	Cocaína 0,11 Cocaetileno 0,1	1,58	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
143	ND	0,45	ND	Etanol
144	ND	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC Etanol
145	Cocaína 0,22	0,21	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC Etanol
146	Clonazepam 0,10	ND	Paracetamol Fluoxetina Norfluoxetina Aminoclonazepam	BZD Etanol
148	Imipramina 2,39 Cocaína 0,98 Cocaetileno 0,76	ND	ND	ND

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
149	Carbamazepina 3,15	ND	Carbamazepina Paracetamol Cocaína, AEME Benzoilecgonina Norfluoxetina Oxazepam Temazepam Carbofuran	COC BZD
150	Cocaína 0,18	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
151	Cocaína 0,17	ND	Paracetamol Norcocaína Benzoilecgonina THC	COC
152	Cocaína 0,24	2,31	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
153	ND	ND	Norcocaína, Cocaína Benzoilecgonina	COC
154	Diazepam 2,60	ND	ND	ND
156	ND	ND	Paracetamol Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC
157	Cocaína 0,53	0,25	Paracetamol Midazolam, Oxazepam Temazepam Fenobarbital Fenitoína Ácido valpróico	-
158	Cocaína 1,77 Cocaetileno 0,73	ND	AEME Paracetamol Benzoilecgonina	COC ANF
159	Cocaína 0,66 Cocaetileno 0,22	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina	COC
160	Clonazepam 0,06	ND	Sertralina Fluoxetina Norfluoxetina Nortriptilina Aminoclonazepam	ATC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
161	ND	2,5	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Carbamazepina	COC
162	Cocaína 1,79 Cocaetileno 0,87	> 5,0	AEME Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC BZD
163	Amitriptilina 0,26	ND	THC	THC
164	Cocaína 1,39	ND	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
165	ND	0,46	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
166	Cocaína 0,34 Cocaetileno 0,18	ND	THC	THC
167	ND	4,72	Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC Etanol
168	ND	1,48	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina THC	COC THC Etanol BZD
0.169	Nortriptilina 0,70	ND	Amitriptilina Nortriptilina Aminoclonazepam	ATC
170	Paroxetina 3,41	0,85	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina THC	COC THC Etanol
171	ND	ND	Aminoclonazepam	-
172	ND	0,19	Aminoclonazepam	ND

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
173	Fenitoína 29,3	ND	Fenitoína Benzoilecgonina Temazepam Ácido valpróico	-
174	ND	0,23	AEME Benzoilecgonina Paracetamol	-
175	ND	0,13	ND	-
176	Paroxetina 0,92	ND	Paracetamol	-
177	ND	4,76	Benzoilecgonina	Etanol
178	Cocaína 0,60	ND	Sertralina Aminoclonazepam	ND
179	Cocaína 0,22	0,11	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC THC
180	Diazepam 0,22 Cocaína 0,18	0,14	Paracetamol Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC
181	ND	0,14	Paracetamol Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina	COC BZD
182	Paracetamol 7,87	0,11	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina THC	COC BZD
183	Carbamazepina 17,0	3,39	Carbamazepina Amitriptilina Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC BZD ATC
185	ND	3,78	ND	ND
186	Cocaína 0,19	ND	Aldicarbe Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC
188	ND	ND	Paracetamol Norcocaína Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
189	Clonazepam 0,05 Carbamazepina 13,64	ND	Carbamazepina Paracetamol Aminoclonazepam Ácido valpróico AEME Norcocaína Cocaína Benzoilecgonina	COC BZD
190	ND	ND	Aldicarbe	ND
192	Cocaína 0,19	ND	ND	-
193	ND	1,09	Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC BZD
194	ND	2,26	ND	Etanol
197	ND	ND	Sertralina Desipramina Imipramina Aminoclonazepam Ácido valpróico	COC
198	Sertralina 2,01 Imipramina 0,87 Clonazepam 0,07	ND	ND	ATC BZD
199	Paracetamol 27,73	ND	Paracetamol	Paracetamol
200	ND	1,69	Paracetamol	THC Etanol
201	ND	0,55	AEME Paracetamol Norcocaína Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
204	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina	THC COC
205	Diazepam 0,98 Nordiazepam 0,91 Clonazepam 3,79	ND	Paracetamol	OPI
206	ND	ND	Paracetamol Cocaína Norcocaína Cocaetileno AEME Benzoilecgonina	COC
208	ND	ND	Paracetamol Benzoilecgonina	COC BZD THC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
209	ND	ND	Paracetamol Cocaína Norcocaína Benzoilecgonina	-
210	ND	ND	Paracetamol Carbofuran	PGC
211	Fenitoína 8,65	ND	ND	THC
212	ND	ND	Paracetamol	-
213	ND	0,22	Paracetamol Cocaína Cocaetileno AEME Benzoilecgonina	-
214	Clonazepam 0,31	3,15	Paracetamol Benzoilecgonina	COC
215	ND	ND	Aminoclonazepam	ND
216	ND	ND	Paracetamol Norcocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina Carbamazepina	COC
218	ND	1,07	Cocaína Norcocaína Benzoilecgonina	COC BZD
219	ND	ND	Paracetamol AEME Benzoilecgonina	COC
220	ND	2,35	ND	-
221	Carbamazepina 28,82	0,40	Paracetamol Cocaína, AEME Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Carbamazepina	-
222	ND	ND	Paracetamol Cocaína, AEME Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC
0.223	ND	0,58	Cocaína Benzoilecgonina AEME	-
225	ND	1,33	ND	COC, Barb
226	ND	0,27	Aminoclonazepam Benzoilecgonina AEME	-

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
227	ND	ND	Cocaína Norcocaína Benzoilecgonina	Cocaína THC
228	ND	ND	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC
229	Cocaína 6,12 Cocaetileno 2,04	> 5,0	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	-
231	ND	ND	Cocaína, AEME Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
232	ND	0,25	Benzoilecgonina	-
233	ND	ND	Cocaína Benzoilecgonina	COC
234	ND	ND	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC
235	ND	4,21	Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
237	ND	0,16	ND	BZD, Etanol
238	Paracetamol 6,55	ND	Paracetamol	Paracetamol Etanol
239	ND	4,50	Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC Etanol
240	Clonazepam 2,99	2,01	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC Etanol
241	ND	ND	Benzoilecgonina	COC
244	ND	ND	Benzoilecgonina	Cocaína THC
245	ND	ND	Paracetamol	Paracetamol
246	ND	ND	Cocaína, AEME Norcocaína Benzoilecgonina	COC THC
247	ND	ND	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC
248	ND	2,19	Norfluoxetina	Etanol
249	ND	1,90	ND	Etanol

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
250	ND	ND	Cocaína Norcocaína Benzoilecgonina AEME	COC THC
251	ND	1,19	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
252	ND	0,51	ND	COC
254	ND	0,94	Cocaína, AEME Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Paracetamol	COC Etanol
255	ND	ND	Fluoxetina	BZD
256	ND	ND	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
257	ND	2,31	ND	PGC
258	Clonazepam 0,29	ND	ND	THC
259	ND	3,90	ND	Etanol
260	ND	0,56	Fluoxetina Norfluoxetina	Etanol
262	ND	ND	Cocaína Benzoilecgonina AEME	COC Etanol
263	ND	2,13	ND	Etanol
264	ND	ND	Cocaína Cocaetileno Bromazepam Benzoilecgonina AEME	COC Etanol
265	ND	ND	Anfetamina	-
266	Oxazepam 0,09	ND	ND	Etanol
269	ND	ND	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME Paracetamol	COC THC Paracetamol Etanol
270	Diazepam 0,22 Clonazepam 0,52	> 5,0	ND	BZD THC Etanol
271	Sertralina 0,24	ND	ND	BZD
272	Sertralina 0,14	ND	Benzoilecgonina Morfina	TCA OPI

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
273	Sertralina 0,14	ND	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC THC Etanol
274	Sertralina 1,67 Carbamazepina 27,19 Fenobarbital 25,57	ND	Cocaína Benzoilecgonina Carbamazepina	COC Barb
275	Diazepam 0,24 Sertralina 0,14	0,70	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
276	Cocaína 1,61 Sertralina 0,14	ND	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC THC BZD
277	Cocaína 1,23 Sertralina 0,24	ND	Benzoilecgonina AEME Metanfetamina	COC ANF
278	Sertralina 0,20 Diazepam 0,07	1,57	Benzoilecgonina	COC Etanol
279	Diazepam 1,12 Fenitoína 17,62	ND	ND	BZD
280	Bromazepam 0,16	ND	Cocaína Benzoilecgonina	COC THC
281	Sertralina 0,13 Paracetamol 18,40	ND	Paracetamol	BZD THC, TCA
282	Amitriptilina 1,16 Sertralina 0,69	ND	ND	-
283	ND	ND	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC
284	ND	2,22		-
285	Alprazolam 0,13	1,30	Cocaína Benzoilecgonina	COC THC
286	ND	ND	Benzoilecgonina	COC
287	ND	0,90	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
288	ND	1,72	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC THC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
289	Cocaína 0,33	ND	Cocaína, AEME Norcocaína Benzoilecgonina Carbamazepina	COC
290	Oxazepam 0,26 Paracetamol 12,06	ND	Paracetamol	-
291	Cocaína 0,28	ND	Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC
292	Amitriptilina 0,33 Nortriptilina 0,11 Paroxetina 0,15	ND	Aminoclonazepam Amitriptilina Nortriptilina	BZD ATC
293	ND	ND	Cocaína Benzoilecgonina	COC
294	Cocaína 0,93	2,21	ND	Etanol
295	Cocaína 1,13 Cocaetileno 1,05	ND	Cocaína, AEME Benzoilecgonina	COC
296	ND	ND	Midazolam Benzoilecgonina AEME	COC THC
298	ND	ND	Benzoilecgonina AEME	COC THC
299	Cocaína 0,52	3,56	Cocaína, AEME Cocaetileno Benzoilecgonina	COC BZD Etanol
300	Cocaína 0,91 Cocaetileno 0,45	0,97	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
301	Cocaína 0,05	1,79	ND	Etanol
302	Cocaína 0,82	4,78	Cocaína Benzoilecgonina AEME	COC THC
303	Cocaína 0,19	2,93	ND	Etanol
304	Cocaína 0,96	ND	ND	-
305	Cocaína 0,06	0,83	ND	-
306	Cocaína 0,10	2,56	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina	COC THC
307	Cocaína 0,18	0,38	Cocaína Norcocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
309	Cocaína 0,02	ND	ND	-
311	Cocaína 0,62 Cocaetileno 0,26	0,81	ND	COC THC

continua

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Tabela 24. Análise comparativa dos resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos no trabalho.

continuação

Amostra	***Screening* em sangue (HPLC-DAD) (µg.mL^{-1})**	**Análise de etanol em sangue (GC-FID) (g.L^{-1})**	***Screening* em urina (UHPLC-ESI-MS/MS)**	**Triagem CCI**
312	ND	1,82	ND	Etanol
314	Diazepam 0,41	ND	ND	COC BZD
315	ND	ND	Carbamazepina	ND
317	ND	ND	Benzoilecgonina AEME	COC
318	ND	ND	Cocaína Benzoilecgonina AEME	COC
320	Cocaína 1,63 Cocaetileno 0,61	ND	Cocaína Benzoilecgonina	COC PGC
321	ND	> 5,0	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
322	ND	ND	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC
323	ND	1,87	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC THC Etanol
324	ND	1,71	ND	-
325	Paracetamol 4,82	ND	Paracetamol	ND
326	Cocaína 0,42	0,87	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina Sertralina	COC BZD
327	ND	0,20	ND	COC
328	ND	1,32	Cocaína Cocaetileno Benzoilecgonina AEME	COC BZD
331	ND	ND	Cocaína Benzoilecgonina AEME	COC
333	ND	0,48	ND	THC

ND, não detectado; (-), não avaliado; COC, cocaína e substâncias relacionadas; ANF, anfetaminas; BZD, benzodiazepínicos; ATC, antidepressivos tricíclicos; OPI, opioides; THC, canabinóides; Barb, barbitúricos; PGC, praguicidas avaliado por meio da alteração da enzima colinesterase.

Após a análise preliminar dos dados, verificamos que há uma correlação significativamente alta em relação às substâncias encontradas no sangue e na urina. Esse fato é bem explícito quando analisamos o composto cocaína e seus produtos (AEME, norcocaína, cocaetileno e benzoilecgonina). A respeito do AEME, a sua detecção no método por HPLC-DAD mostrou-se inviável devido à baixa disponibilidade no sangue. Essa detecção também foi negativa para as 320 amostras de sangue analisadas no método de UHPLC-ESI-MS/MS. Segundo Scheidweiler et al. (2003), o AEME desaparece rapidamente da corrente sanguínea e sua meia-vida plasmática é de cerca de 18 e 21 minutos. Outros trabalhos também citam a dificuldade da detecção deste produto no sangue, até mesmo em estudos controlados com usuários de *crack* (CONE; HILLSGROVE; DARWIN, 1994; JENKINS; OYLER; CONE, 1995). Dessa forma, a diferenciação entre os consumidores de crack daqueles que utilizam a cocaína pelas demais vias foi alcançado por meio da detecção de AEME na urina, uma vez que essa matriz permite a detecção de substâncias e/ou os produtos de biotransformação com um intervalo maior de tempo entre a exposição e a análise laboratorial.

Em relação à detecção de benzodiazepínicos em urina, é necessário pontuar que os seus derivados dão origem a outros membros da classe durante o processo de biotransformação, o que justifica a presença de vários compostos na urina e apenas um produto principal detectado no sangue. Essa conversão entre produtos benzodiazepínicos também justifica a ocorrência de um produto no sangue e outro diferente na urina.

Os valores de *cut off*, determinados por programas de regulamentação nos Estados Unidos da América, para algumas das substâncias psicoativas em urina são apresentados na **Tabela 25**. Esses valores foram utilizados na categorização de resultados como indicativo ou não do consumo da substância. Assim, foram consideradas positivas as amostras de urina com concentrações dos analitos iguais ou superiores as estipuladas na tabela. Para as substâncias que não apresentam valores de *cut off* reconhecidos, o valor de LLOQ é tomado como concentração limítrofe na decisão de positividade.

Tabela 25. Valores de *cut off* para substâncias em amostras de urina de acordo com o DHHS (*Department of Health and Human Services*).

Screening	
Substância	**Concentração (µg.mL^{-1})**
Anfetaminas	1
Cannabis	0,05
Cocaína	0,3
Opioides	2
Barbitúricos	0,2
Benzodiazepínicos	0,3
Antidepressivos	0,5

(*ii*) Resultados da aplicação clínica e análise de dados

4.8 Resultados da análise das amostras

As informações contidas na Ficha de Atendimento Hospitalar (**Anexo III**) foram extraídas para o programa Excel® e analisadas por dois métodos estatísticos. O primeiro tratou todos as variáveis de forma isolada (análise univariada) e em seguida, o segundo avaliou as varáveis de forma conjunta (análise multivariada).

Por meio da análise univariada dos dados foi possível descrever a frequência de cada acontecimento isolado, gerando tabelas que foram transcritas para o programa Prism®. Para melhor visualização dos resultados, utilizaram-se as variáveis e suas categorias descritas na **Tabela 26**. Essas mesmas informações também estão detalhadas na Ficha de Atendimento Hospitalar (**Anexo III**).

Para algumas variáveis, o paciente pode ser contado em mais de uma categoria, como por exemplo, quando o paciente utiliza mais de uma classe de substância (cocaína e paracetamol). De forma semelhante, para determinadas variáveis como circunstância, via e tipo de exposição, o indivíduo poderá ser contado em mais de um fator. Exemplificando, um indivíduo que utiliza cocaína e

álcool ao mesmo tempo, a via de exposição será então 1 (oral) e (3) nasal, assim no banco de dados esse indivíduo será identificado como 1-3 para via de exposição.

Considerando as variáveis analisadas primeiramente pelo método univariado, na **Figura 28** observamos que as faixas etárias de 19 – 30 e 31 – 50 anos são as de maior frequência que dão entrada no hospital, representando, respectivamente 40,9% e 41,6% dos pacientes, resultados que estão em conformidade com o observado por Mota et al. (2012). Pode-se constatar na mesma figura, que o gênero masculino corresponde a maior proporção (64,4%) dos atendimentos. Esses resultados diferem do obtido por Costa; Alonzo (2015), onde o gênero feminino foi o responsável pelo maior número de intoxicações registrados pelo Centro de Controle de Intoxicações de Campinas entre 1998 e 2011.

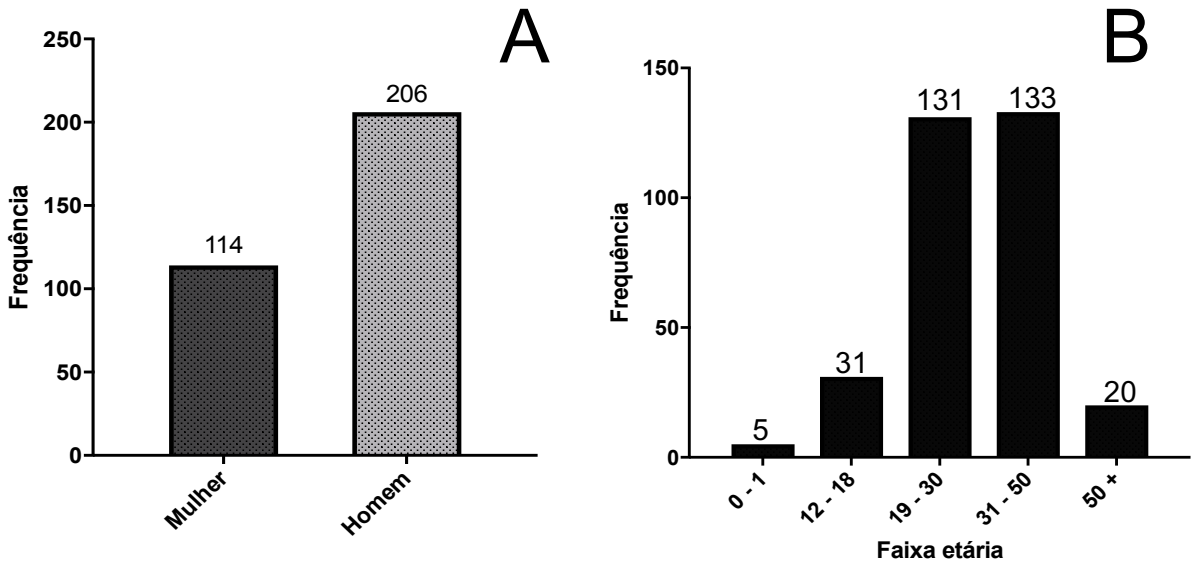


Figura 28. Frequência dos pacientes por gênero (A) e frequência da idade dos pacientes (B) por faixa etária.

De acordo com a **Figura 29**, o principal motivo da admissão no centro de emergência, é a intoxicação, que totalizou um número de 248 atendimentos (77,5%), ocorrendo principalmente pela circunstância abuso de algum agente tóxico, com 200 casos (62,5%), seguido de tentativa de suicídio com 75 casos (23,4%). Destes 75 casos de tentativa de suicídio, 66,7% foram cometidos por mulheres, sendo a faixa de idade predominante de 31 – 50 anos. Já 75,5% dos casos de abuso de drogas foi cometido por homens na faixa etária de 19 a 50 anos.

Tabela 26. Descrição das variáveis de acordo com a Ficha de Atendimento Hospitalar.

Sexo	***Idade***	***Ocorrência***	***Circunstância***	***Exposição***	***Tipo***	***Agente tóxico***	***Evolução***	***Tratamento***	***Avaliação***
(1) M	0–11	(1) Intoxicação	(1) Acidente Individual	(1) Oral	(1) Aguda única	(1) Medicamentos	(1) Cura	(1) Nenhum	(1) Não Tóxico
(2) F	12–18	(2) Exposição	(2) Acidente coletivo	(2) Cutânea	(2) Aguda repetida	(2) Agrotóxicos (Uso Agric.)	(2) Cura não confirmada	(2) Obs. Clínica	(2) Provavelmente não tóxico
	19–30	(3) Reação adversa	(3) Acidente ambiental	(3) Respiratória	(3) Crônica	(3) Agrotóxico (Uso Domest.)	(3) Sequela	(3) Tratamento sintomático	(3) Intoxicação não excluída
	31–50	(4) Diagnóstico diferencial	(4) Ocupacional	(4) Parenteral	(4) Aguda sobre crônica	(4) Produtos Veterinários	(4) Óbito	(4) Trat. Suporte	(4) Intoxicação leve
	50 +	(5) Outro	(5) Uso terapêutico	(5) Nasal	(99) Ignorada	(5) Raticidas	(5) Óbito outra causa	(5) Descontaminação cut/mucosa	(5) Intoxicação moderada
			(6) Presc. Méd. Inadequada	(6) Ocular		(6) Saneantes Domésticos	(99) Ignorada	(6) Descont. Ocular	(6) Intoxicação grave
			(7) Erro administração	(7) Retal		(7) Cosméticos	(88) Outra	(7) Diluição	
			(8) Auto medicação	(8) Vaginal		(8) Prod. Quím. Indust.		(8) Demulcentes	
			(9) Abstinência	(9) Mordedura/ Picada		(9) Metais		(9) Neutralização	
			(10) Abuso	(99) Ignorada		(10) Drogas de abuso		(10) Emese	
			(11) Ingestão de alimentos	(88) Outra		(11) Plantas		(11) Lavagem gástrica	
			(12) Tentativa de suicídio			(12) Alimentos		(12) Irrigação intestinal	
			(13) Tentativa de abortamento			(13) Animais peç. - Serpentes		(13) Carvão ativ. Dose única	
			(14) Violência/Homicídio			(14) Animais peç. - Aranhas		(14) Carvão ativ. Dose múltipla	
			(15) Uso indevido			(15) Animais peç. - Escorpiões		(15) Catárticos	
			(99) Ignorada			(16) Outros animais peçonhentos		(16) Diurese forçada	
			(88) Outra			(17) Animais não-peçonhentos		(17) Hemodiálise	
						(99) Ignorada		(18) Hemoperfusão	
						(88) Outra		(19) Exsanguineo perf.	
								(20) Retirada endosc.	
								(21) Interv. Cirúrgica	
								(22) Antídoto	
								(23) Soro	
								(99) Ignorada	
								(88) Outra	

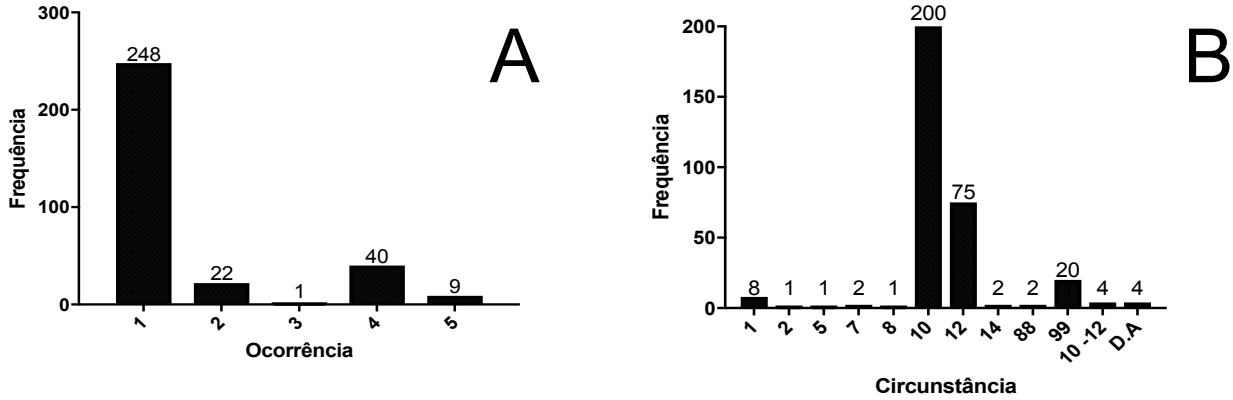


Figura 29. Distribuição dos casos de acordo com o tipo de ocorrência (A), onde 1, é intoxicação; 2, exposição; 3, reação adversa; 4, diagnóstico diferencial; 5, outro. Em B é demonstrado a distribuição dos atendimentos de acordo com a circunstância da exposição, sendo 1, acidente individual; 2, acidente coletivo; 5, uso terapêutico; 7, erro administração; 8, automedicação; 10, abuso; 12, tentativa de suicídio; 14, violência/homicídio; 88, outra; 99, ignorada; D.A., dado ausente.

A via de exposição mais significativa é a oral (42,2%), correspondendo a 135 casos, seguida das vias oral e respiratória (1-5) com 58 casos, sendo os tipos de exposição, em sua maioria, episódios agudos com 88 casos (27,5%) e agudos sobre crônicos com 84 casos (26,2%) (**Figura 30**).

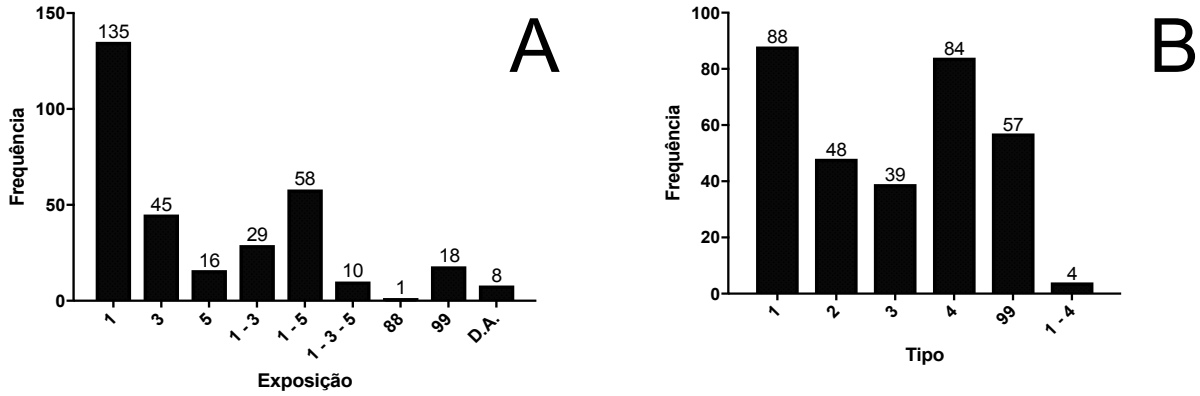


Figura 30. Distribuição dos atendimentos de acordo com a via de exposição à substância (A), onde 1, oral; 3, respiratória; 5, nasal; 88, outra; 99, ignorada; D.A., dado ausente. Em B, é descrito os casos de acordo com o tipo de exposição, podendo ser do tipo 1, aguda única; 2, aguda repetida; 3, crônica; 4, aguda sobre crônica; 99, ignorada.

De acordo com a **Figura 31**, os principais agentes tóxicos reportados durante o atendimento são as drogas de abuso, representando 61,2% dos atendimentos (196 casos), seguido dos medicamentos (20,6%). Esse resultado sugere que

existem diferenças no consumo de determinada substância de acordo com a população e região geográfica até mesmo dentro do mesmo estado, uma vez que os dados obtidos por Fernandes et al. (2017) reportam os medicamentos como principais responsáveis pelos atendimentos realizados pelo Centro de Controle de Intoxicações de Campinas em 2014.

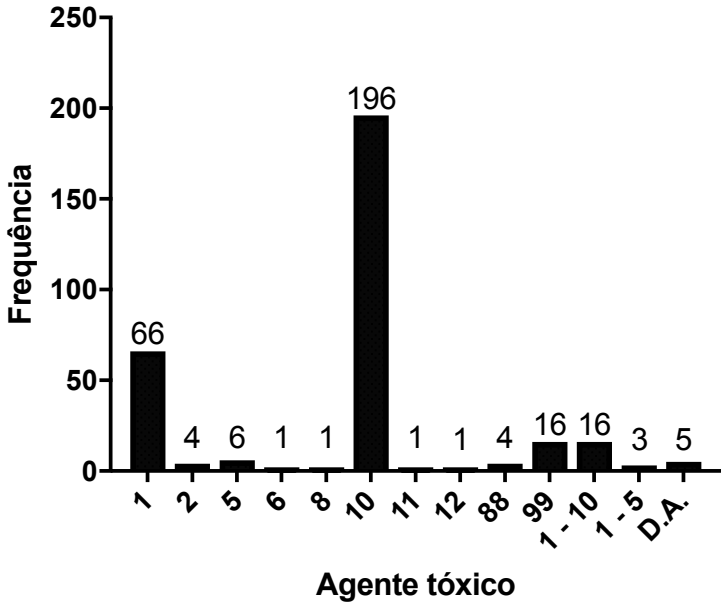


Figura 31. Distribuição dos atendimentos de acordo com o grupo do agente tóxico, onde 1, medicamentos; 2, agrotóxicos (uso agrícola); 5, raticidas; 6, saneantes domésticos; 8, produtos químicos industriais; 10, drogas de abuso; 11, plantas; 12, alimentos; 88, outra; 99, ignorada; D.A., dado ausente.

Analisando a **Figura 32**, no que se refere a evolução dos casos, é possível verificar que 221 casos (69,1%) são considerados *missing*, ou seja, não foi informada a evolução do paciente na ficha de atendimento. Cerca de 16,2% dos pacientes evoluíram para cura (52 casos) e menos de 1% evoluiu para óbito (3 casos). A falta de informação relativa a evolução dos casos compromete a completa avaliação epidemiológica, uma vez que não é possível afirmar a real porcentagem de casos que evoluíram para cura ou óbito.

A maioria dos atendimentos foram avaliados como intoxicação leve, representando 59,1% (189 casos), seguidos de 17,2% considerados moderado (55 casos) e 15,3% de intoxicação não-excluída (49 casos). Apenas 11 casos do total de 320 atendidos foram considerados grave (3,4%).

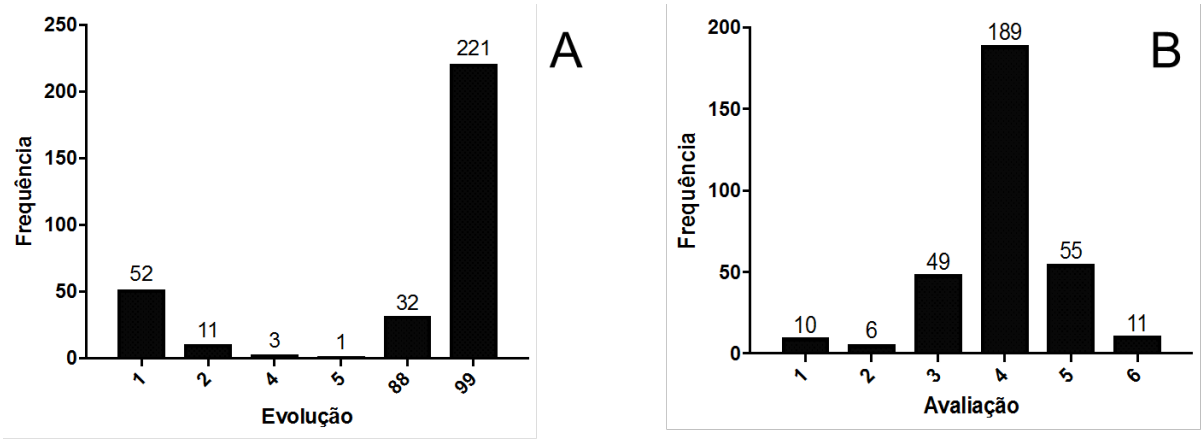


Figura 32. Distribuição dos atendimentos de acordo com o a evolução do caso (A), onde 1, cura; 2, cura não confirmada; 4, óbito; 5, óbito outra causa; 88, outra; 99, ignorada. Em B, é descrito a distribuição dos casos de acordo com sua avaliação final, sendo 1, não tóxico; 2, provavelmente não tóxico; 3, intoxicação não excluída; 4, intoxicação leve; 5, intoxicação moderada; 6, intoxicação grave.

Avaliando o tratamento empregado em cada caso clínico obtivemos a seguinte distribuição descrita na **Figura 33**. Observa-se que o tratamento mais empregado se baseia na tríade observação clínica, tratamento sintomático e tratamento de suporte, que foi empregado em 125 casos (39,1%).

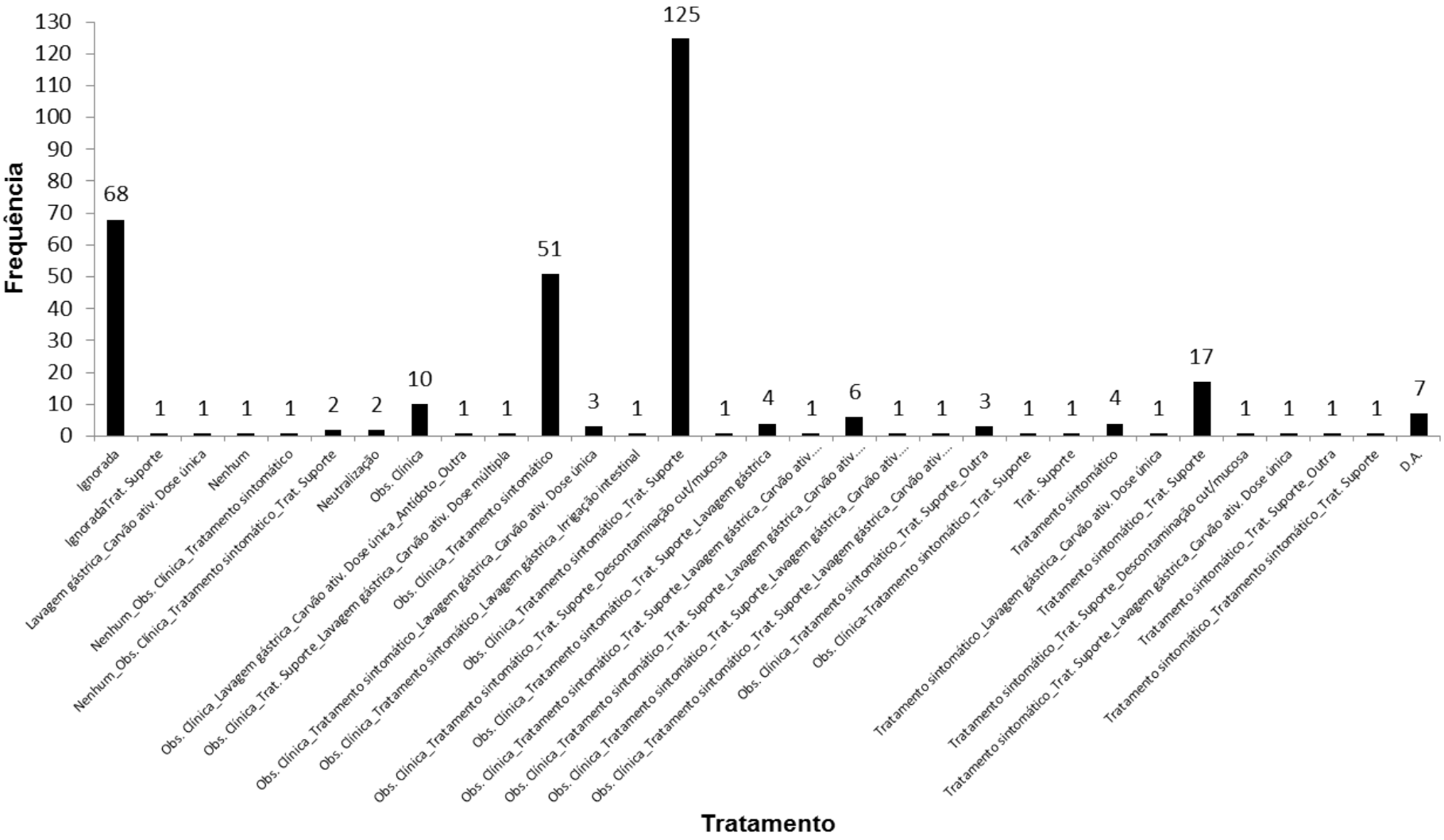


Figura 33. Tratamento empregado durante o atendimento ao paciente. D.A., dado ausente.

Como citado anteriormente, do total de amostras analisadas (320), 192 foram positivas para pelo menos uma substância, representando 60% da amostragem. Dentre as amostras positivas, a classe mais predominante são as drogas de abuso incluindo o álcool, seguido dos benzodiazepínicos, antidepressivos, anticonvulsivantes e paracetamol (**Figura 34**). Ao avaliar essa frequência de positividade, é importante ressaltar que a amostra pode ser contabilizada mais de uma vez, quando são detectadas mais de uma substância na análise toxicológica.

As amostras positivas foram ainda subdivididas de acordo com sua concentração, podendo ser consideradas como em nível tóxico e não tóxico. Para tanto foi utilizada as concentrações descritas na **Tabela 27.**

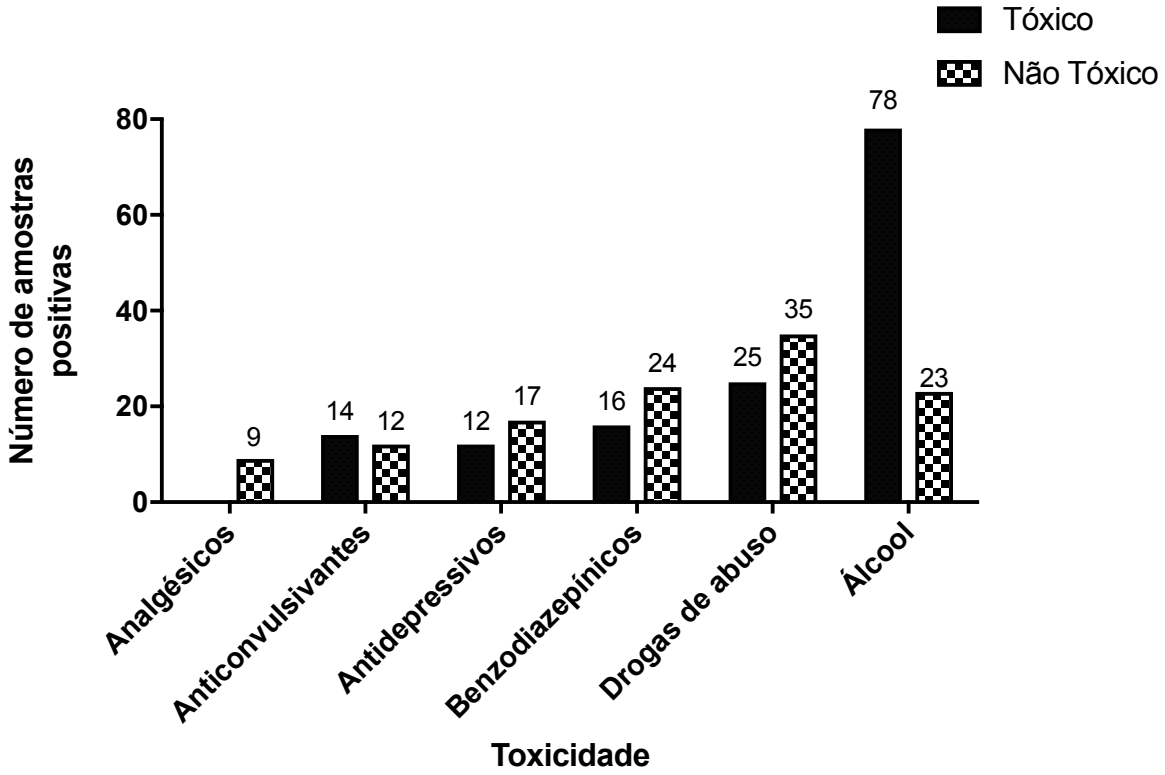


Figura 34. Frequência dos pacientes que usam alguma substância (amostras positivas na triagem por HPLC-DAD de acordo com o método descrito no item **3.2.2** de **Material e Métodos**) distribuídos de acordo com a classe e com níveis de concentração (tóxico e não tóxico).

Na **Tabela 27** estão descritas as concentrações terapêuticas e tóxicas dos fármacos (MEYER; WEBER; MAURER, 2014; SCHULZ et al., 2012; VINCENTI et al., 2013; WINEK et al., 2001).

Tabela 27. Concentrações plasmáticas terapêuticas e tóxicas das substâncias exógenas.

Analitos	**Concentração terapêutica** (µg.mL^{-1})	**Concentração tóxica** (µg.mL^{-1})
Paracetamol	2,5 – 25	100 – 150
Ácido valpróico	40 – 150	150 – 200
Carbamazepina	2 – 12	10
Fenitoína	5 – 20	20 – 25
Fenobarbital	10 – 40	30 – 40
Alprazolam	0,005 – 0,08	0,1 – 0,4
Bromazepam	0,05 – 0,2	0,3 – 0,4
Clonazepam	0,004 – 0,08	0,1
Diazepam	0,1 – 2,5	3 – 5
Flunitrazepam	0,005 – 0,015	0,05
Midazolam	0,04 – 0,25	1 – 1,5
Nitrazepam	0,03 – 0,1	0,2 – 0,3
Nordiazepam	0,02 – 0,8	1,5 – 2
Oxazepam	0,2 – 1,5	2
Temazepam	0,02 – 0,9	1
Amitriptilina	0,05 – 0,3	0,5 – 0,6
Desipramina	0,01 – 0,25	0,5 – 1
Fluoxetina	0,12 – 0,5	1
Imipramina	0,05 – 0,35	0,5 – 1
Nortriptilina	0,02 – 0,15	0,3
Paroxetina	0,01 – 0,12	0,35 – 0,4
Sertralina	0,01 – 0,25	0,3
Cocaína	0,05 – 0,3	0,25 – 1
Codeína	0,03 – 0,25	0,5 – 1
Morfina	0,01 – 0,1	0,1

A classificação dos sintomas apresentados pelo paciente no momento do atendimento foi realizada de acordo com a Ficha de Atendimento Hospitalar (**Anexo III**). No entanto, para melhor exposição dos dados, esses sintomas são categorizados em 7 classes: gerais, neurológicas, gastrintestinais, respiratórias,

cardiovasculares, renais e cutâneo-mucosa. A frequência de cada classe é descrita na **Figura 35**. Em 166 casos foram verificados sintomas neurológicos, sendo o mais frequente a agitação. Manifestações cardiovasculares, como dor precordial e taquicardia, foram observados em 87 casos atendidos. Entre as manifestações gerais, a mais frequente foi o mal-estar, seguido da desidratação.

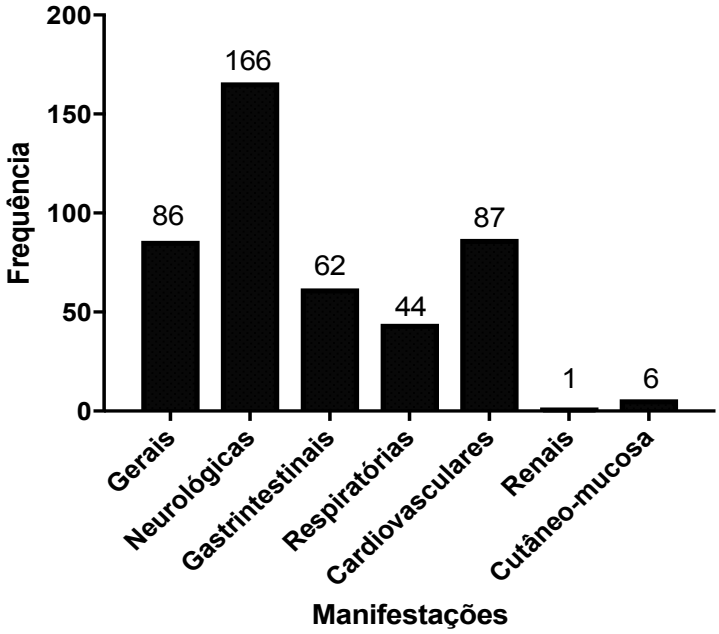


Figura 35. Frequência das manifestações apresentadas pelos pacientes.

Foram verificadas ainda as relações entre o agente tóxico e avaliação do caso, agente tóxico e circunstância e circunstância e avaliação. Os resultados encontrados estão ilustrados nas **Figuras 36**, **37** e **38**.

Ao se considerar o agente tóxico e a avaliação final da intoxicação (**Figura 36**), nota-se que o maior número de casos é avaliado como intoxicação leve e estão relacionados com as drogas de abuso (71%). Os principais agentes tóxicos responsáveis pelas intoxicações moderadas são as drogas de abuso (55%), seguido dos medicamentos (25%). Já as intoxicações graves são ocasionadas pelos medicamentos e drogas de abuso, ambos com 36%.

Avaliando a circunstância de exposição (**Figura 37**), nota-se que as tentativas de suicídio ocorrem principalmente pelo uso de medicamentos (64%), observação já reportada na literatura (GAVRIELATOS et al., 2006; CHRISTIANSEN; JENSEN, 2006; GIBBONS; MANN, 2011; FERRER et al., 2014). Considerando ainda a

circunstância, a maior parcela dos casos de tentativa de suicídio é avaliada como intoxicação leve (49,3%), sendo apenas 8% dos casos considerados grave (**Figura 38**). Cerca de 68% dos casos de abuso de substância são avaliados como intoxicação leve e 15,5% são consideradas intoxicações moderadas. Apenas 2% são consideradas intoxicações graves (**Figura 38**).

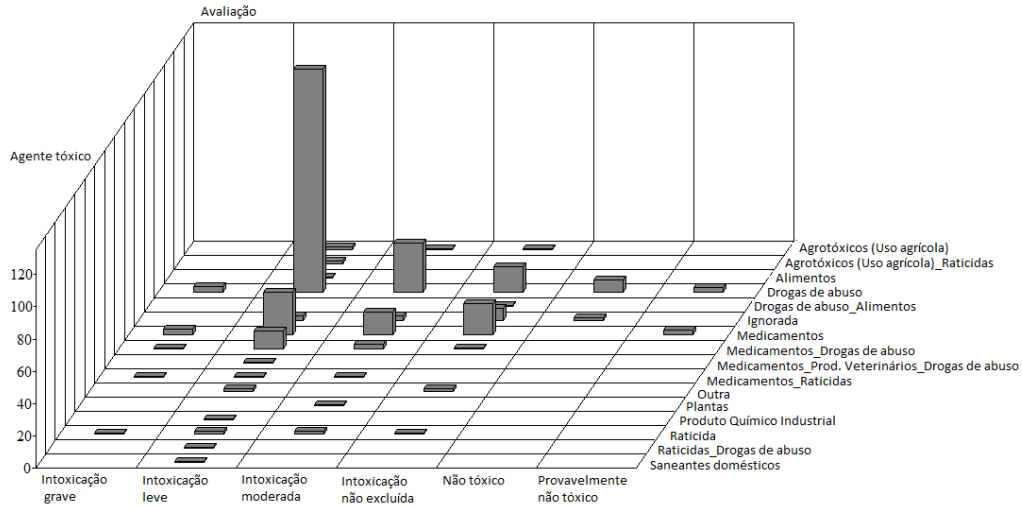


Figura 36. Relação entre as variáveis agente tóxico e avaliação.

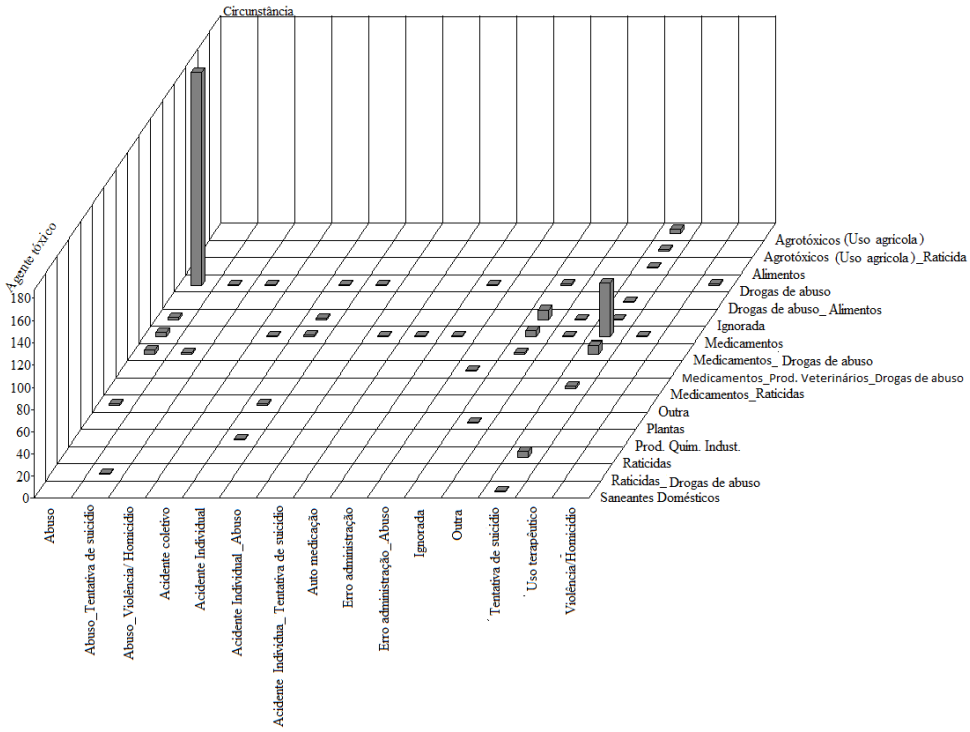


Figura 37. Relação entre as variáveis agente tóxico e circunstância.

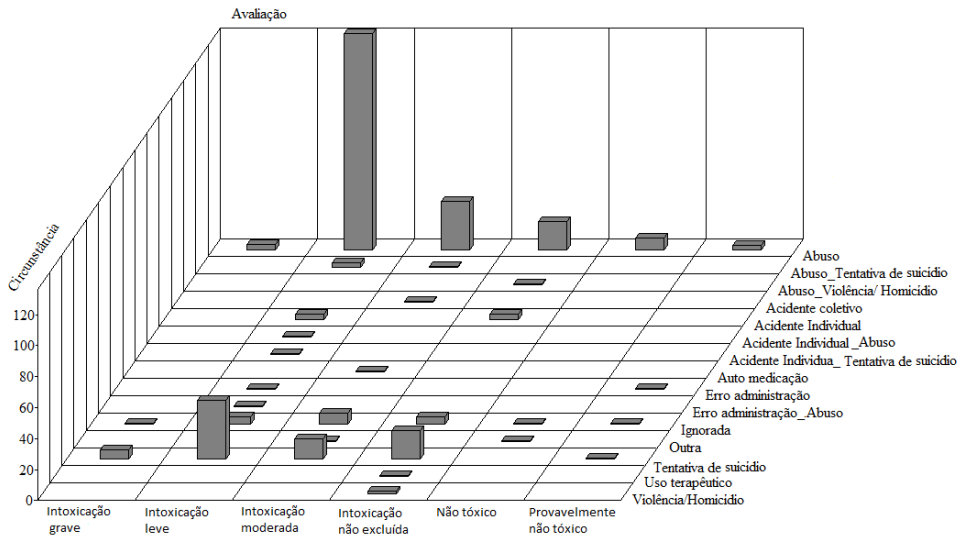


Figura 38. Relação entre as variáveis circunstância e avaliação.

Os dados foram avaliados ainda por meio da regressão logística múltipla e a variável dependente foi a avaliação dos casos. Conforme a ficha de atendimento hospitalar a avaliação pode ser classificada em seis tipos: não tóxico; provavelmente não tóxico; intoxicação não excluída; intoxicação leve; intoxicação moderada; intoxicação grave. Para reduzirmos essa classificação em apenas duas, uma vez que na regressão logística o y é dicotômico, os quatro primeiros tipos de avaliação foram considerados “menos grave” e os dois últimos tipos como intoxicação “mais grave”.

A análise descritiva de frequência considerando a avaliação como variável dependente mostrou que as substâncias com maior frequência dentro dos casos mais graves foram a sertralina, fenobarbital, amitriptilina, diazepam, cocaína e cocaetileno (**Tabelas 28 e 29**).

Tabela 28. Análise descritiva de frequência das variáveis contínuas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave).

Variável	*Avaliação*	*Média*	*Desvio padrão*	*Mínimo*	*Máximo*
Idade	Menos grave	30,480	11,017	2,000	73,000
	Mais grave	**34,677**	12,353	4,000	79,000
	Total	31,335	11,428	2,000	79,000
Alprazolam	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Clonazepam	**Menos grave**	**0,020**	0,225	0,000	3,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,016	0,201	0,000	3,000
Sertralina	Menos grave	0,016	0,197	0,000	3,000
	Mais grave	**0,031**	0,246	0,000	2,000
	Total	0,019	0,208	0,000	3,000
Fenobarbital	Menos grave	0,098	1,562	0,000	25,000
	Mais grave	**2,169**	17,106	0,000	139,000
	Total	0,519	7,879	0,000	139,000
Amitriptilina	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	**0,015**	0,123	0,000	1,000
	Total	0,003	0,056	0,000	1,000
Diazepam	Menos grave	0,012	0,140	0,000	2,000
	Mais grave	**0,092**	0,738	0,000	6,000
	Total	0,028	0,357	0,000	6,000
Imipramina	**Menos grave**	**0,008**	0,125	0,000	2,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,006	0,112	0,000	2,000
Carbamazepina	**Menos grave**	**1,200**	5,972	0,000	61,000
	Mais grave	0,077	0,615	0,000	5,000
	Total	0,972	5,357	0,000	61,000
Oxazepam	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Fluoxetina	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Fenitoína	**Menos grave**	**0,333**	2,569	0,000	29,000
	Mais grave	0,154	1,231	0,000	10,000
	Total	0,297	2,360	0,000	29,000
Nordiazepam	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Cocaína	Menos grave	0,020	0,139	0,000	1,000
	Mais grave	**0,169**	0,796	0,000	6,000
	Total	0,050	0,384	0,000	6,000

continua

Tabela 28. Análise descritiva de frequência das variáveis contínuas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave).

continuação

Variável	*Avaliação*	*Média*	*Desvio padrão*	*Mínimo*	*Máximo*
Cocaetileno	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	**0,046**	0,273	0,000	2,000
	Total	0,009	0,125	0,000	2,000
Paracetamol	**Menos grave**	**0,537**	3,830	0,000	46,000
	Mais grave	0,415	3,323	0,000	27,000
	Total	0,513	3,733	0,000	46,000
Nortriptilina	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Bromazepam	Menos grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,000	0,000	0,000	0,000
Paroxetina	**Menos grave**	**0,012**	0,187	0,000	3,000
	Mais grave	0,000	0,000	0,000	0,000
	Total	0,009	0,167	0,000	3,000
Etanol	**Menos grave**	**0,455**	1,494	0,000	19,000
	Mais grave	0,415	1,149	0,000	6,000
	Total	0,447	1,431	0,000	19,000

Tabela 29. Análise descritiva de frequência das variáveis categóricas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave).

Gênero	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
Feminino	22	**92**	114
Masculino	43	**163**	206
Ocorrência	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
Diagnóstico diferencial	3	**37**	40
Exposição	1	**21**	22
Intoxicação	61	**187**	248
Outro	0	**9**	9
Reação adversa	0	**1**	1
Circunstância	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
Abuso	35	**165**	200
Abuso_Tentativa de suicídio	1	**3**	4
Abuso_Violência/Homicídio	0	**1**	1
Acidente coletivo	**1**	0	1
Acidente Individual	0	**8**	8
Acidente Individual _Abuso	0	**1**	1
Acidente Individual _Tentativa de suicídio	0	**1**	1
Auto medicação	**1**	0	1
Erro administração	0	**2**	2

continua

Tabela 29. Análise descritiva de frequência das variáveis categóricas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave). *continuação*

Circunstância	Mais grave	Menos grave	Total
Erro administração_Abuso	0	**1**	1
Ignorada	8	**12**	20
Outra	1	1	2
Tentativa de suicídio	18	**57**	75
Uso terapêutico	0	**1**	1
Violência/Homicídio	0	**2**	2
Exposição	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
Cutânea_Respiratória	0	**1**	1
Ignorada	3	**14**	17
Mordedura/Picada	0	**1**	1
Nasal	2	**14**	16
Oral	34	**101**	135
Oral_Nasal	4	**54**	58
Oral_Parenteral	0	**1**	1
Oral_Respiratória	9	**20**	29
Oral_Respiratória_Nasal	1	**9**	10
Outra	0	**1**	1
Respiratória	11	**34**	45
Respiratória_Nasal	0	**5**	5
Respiratória_Parenteral	**1**	0	1
Tipo	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
-	0	**1**	1
Aguda repetida	6	**42**	48
Aguda sobre crônica	30	**54**	84
Aguda única	10	**76**	86
Aguda única_Aguda repetida	0	**1**	1
Aguda única_Aguda sobre crônica	1	**3**	4
Crônica	1	**38**	39
Ignorada	17	**40**	57
Agente tóxico	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
Agrotóxicos (Uso Agric.)	1	**3**	4
Agrotóxicos (Uso Agric.)_Raticidas	0	**2**	2
Alimentos	0	**1**	1
Drogas de abuso	34	**162**	196
Drogas de abuso_Alimentos	0	**1**	1
Ignorada	3	**13**	16
Medicamentos	17	**49**	66
Medicamentos_Drogas de abuso	4	**12**	16
Medicamentos_Produtos Veterinários_Drogas de abuso	0	**1**	1
Medicamentos_Raticidas	**2**	1	3
Outra	0	**4**	4
Plantas	**1**	0	1
Prod. Quím. Indust.	0	**1**	1
Raticidas	3	**3**	6

continua

Tabela 29. Análise descritiva de frequência das variáveis categóricas dentro da variável avaliação, classificada em menos grave (não tóxico, provavelmente não tóxico, intoxicação não excluída e intoxicação leve) e mais graves (moderada a grave). *continuação*

Agente tóxico	Mais grave	Menos grave	Total
Raticidas_Drogas de abuso	0	**1**	1
Saneantes Domésticos	0	**1**	1
Evolução	**Mais grave**	**Menos grave**	**Total**
Cura	12	**40**	52
Cura não confirmada	3	**8**	11
Ignorada	40	**181**	221
Óbito	**2**	1	3
Óbito outra causa	0	**1**	1
Outra	8	**24**	32

A MLRA, com a variável dicotômica dependente avaliação, casos mais graves e casos menos graves, obteve valor de p <0,0001, pelo teste de *Likelihood ratio* (**Tabela 30**). Os valores de R^2 do modelo obtidos foram, 0,324 para *Cox* e *Snell* e 0,387 para *MacFadden'pseudo*, indicando poder preditivo superior a 30%.

Observa-se que a variável avaliação dos casos mais graves é explicada pelas variáveis ocorrência (diagnóstico diferencial e exposição), circunstância (ignorada), exposição (nasal e oral), tipo (aguda repetida, aguda única e crônica), agente tóxico (medicamentos, raticidas) e a substância cocaína, confirmados pelo "*Odds ratio*", conforme a **Tabela 31**.

Tabela 30. Coeficientes do modelo por variável explicativa, estimada por *Likelihood*.

Variável	*Categoria*	*Coeficiente*	*erro*	*X^2 de Ward*	*valor de p*
Idade		0,021	0,017	1,499	0,221
Sexo	Feminino	-0,573	0,466	1,513	0,219
Ocorrência	**Diagnóstico diferencial**	**-2,905**	**1,032**	**7,919**	**0,005**
Ocorrência	**Exposição**	**-3,202**	**1,532**	**4,368**	**0,037**
Circunstância	Abuso	0,186	0,699	0,071	0,790
Circunstância	Abuso_Tentativa de suicídio	2,741	1,681	2,659	0,103
Circunstância	**Ignorada**	**2,872**	**1,189**	**5,830**	**0,016**
Circunstância	Outra	1,989	2,714	0,537	0,464
Exposição	Ignorada	0,045	1,478	0,001	0,976
Exposição	**Nasal**	**-2,346**	**1,188**	**3,897**	**0,048**
Exposição	Oral	0,765	0,625	1,498	0,221
Exposição	**Oral_Nasal**	**-1,633**	**0,754**	**4,687**	**0,030**
Exposição	Oral_Respiratória	0,445	0,669	0,442	0,506

continua

Tabela 30. Coeficientes do modelo por variável explicativa, estimada por *Likelihood*.

continuação

Variável	*Categoria*	*Coeficiente*	*erro*	*X^2 de Ward*	*valor de p*
Exposição	Oral_Respiratória_ Nasal	-2,083	1,341	2,413	0,120
Tipo	**Aguda repetida**	**-1,542**	**0,715**	**4,648**	**0,031**
Tipo	Aguda sobre crônica	0,739	0,540	1,872	0,171
Tipo	**Aguda única**	**-2,130**	**0,739**	**8,314**	**0,004**
Tipo	Aguda única_Aguda sobre crônica	-4,068	3,613	1,267	0,260
Tipo	**Crônica**	**-2,854**	**1,136**	**6,310**	**0,012**
Agente tóxico	Agrotóxicos (Uso Agric.)	1,786	1,420	1,581	0,209
Agente tóxico	Ignorada	-0,183	1,343	0,019	0,891
Agente tóxico	Medicamentos_ Drogas de abuso	-0,243	0,861	0,079	0,778
Agente tóxico	**Medicamentos_ Raticidas**	**3,361**	**1,441**	**5,443**	**0,020**
Agente tóxico	**Raticidas**	**2,301**	**1,132**	**4,131**	**0,042**
Evolução	Cura	1,145	0,785	2,125	0,145
Evolução	Cura não confirmada	1,672	1,096	2,326	0,127
Evolução	Ignorada	0,469	0,669	0,492	0,483
Evolução	Óbito	3,675	2,571	2,044	0,153
Sertralina		2,124	3,291	0,417	0,519
Fenobarbital		0,074	0,334	0,049	0,824
Diazepam		1,302	0,743	3,067	0,080
Carbamazepina		-0,194	0,198	0,957	0,328
Fenitoína		-0,023	0,090	0,063	0,802
Cocaína		**3,172**	**1,032**	**9,447**	**0,002**
Paracetamol		-0,154	0,255	0,365	0,546

* em negrito as variáveis e categorias que explicam a variável avaliação dos casos mais graves. Os que não estão em negrito explicam a variável avaliação dos casos menos graves.

Tabela 31. Estimativa "*Odds ratio*" da Regressão Logística Múltipla (95% de intervalo de confiança).

Variável	*Categoria*	*Odds ratio*
Idade		1,021
Sexo	Feminino	0,564
Ocorrência	Diagnóstico diferencial	0,055
Ocorrência	Exposição	0,041
Circunstância	Abuso	1,204
Circunstância	**Abuso_Tentativa de suicídio**	**15,495**
Circunstância	**Ignorada**	**17,670**
Circunstância	Outra	7,306

continua

Tabela 31. Estimativa "*Odds ratio*" da Regressão Logística Múltipla (95% de intervalo de confiança).

continuação

Variável	***Categoria***	***Odds ratio***
Exposição	Ignorada	1,046
Exposição	Nasal	0,096
Exposição	Oral	2,150
Exposição	Oral_Nasal	0,195
Exposição	Oral_Respiratória	1,561
Exposição	Oral_Respiratória_Nasal	0,125
Tipo	Aguda repetida	0,214
Tipo	Aguda sobre crônica	2,094
Tipo	Aguda única	0,119
Tipo	Aguda única_Aguda sobre crônica	0,017
Tipo	Crônica	0,058
Agente tóxico	Agrotóxicos (Uso Agric.)	5,965
Agente tóxico	Ignorada	0,832
Agente tóxico	Medicamentos_Drogas de abuso	0,785
Agente tóxico	**Medicamentos_Raticidas**	**28,813**
Agente tóxico	Raticidas	9,981
Evolução	Cura	3,142
Evolução	Cura não confirmada	5,322
Evolução	Ignorada	1,599
Evolução	**Óbito**	**39,468**
Sertralina		8,369
Fenobarbital		1,077
Diazepam		3,677
Carbamazepina		0,824
Fenitoína		0,978
Cocaína		**23,862**
Paracetamol		0,857

*em negrito as variáveis e categorias que explicam a variável avaliação dos casos mais graves. Os que não estão em negrito explicam a variável avaliação dos casos menos graves.

Foi verificado a correlação entre as variáveis e a formação de agrupamentos dos indivíduos por similaridade, por meio da MCA, PCA e HCA. Utilizou-se o programa estatístico *Système Portable d'Analyse* – SPAD, versão 7.4 (Coheris, França) para avaliar os dados. A partir da análise de dados foi obtido o dendrograma descrito na **Figura 39**. As características similares avaliadas dos pacientes agruparam em três e quinze *cluster*, conforme observa-se no dendrograma. A divisão em três *clusters* é mais importante que a de quinze, pois possui valores de *p* menores, no entanto, as duas divisões agruparam dentro do nível de significância estipulado (HAIR JR et al., 2009). Analisando o dendrograma com 15 *clusters,* o

maior número de indivíduos está agrupado nos *clusters* XII (20%), VIII (14%), II (12%) e I (10%).

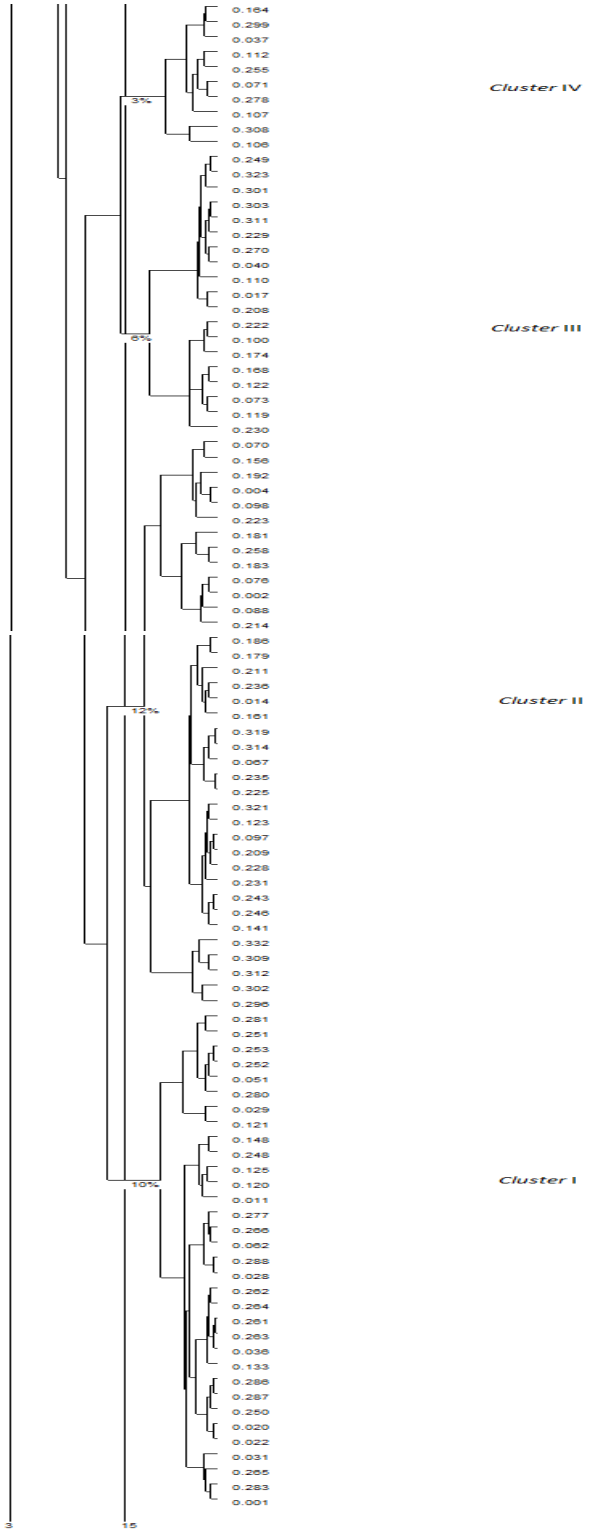
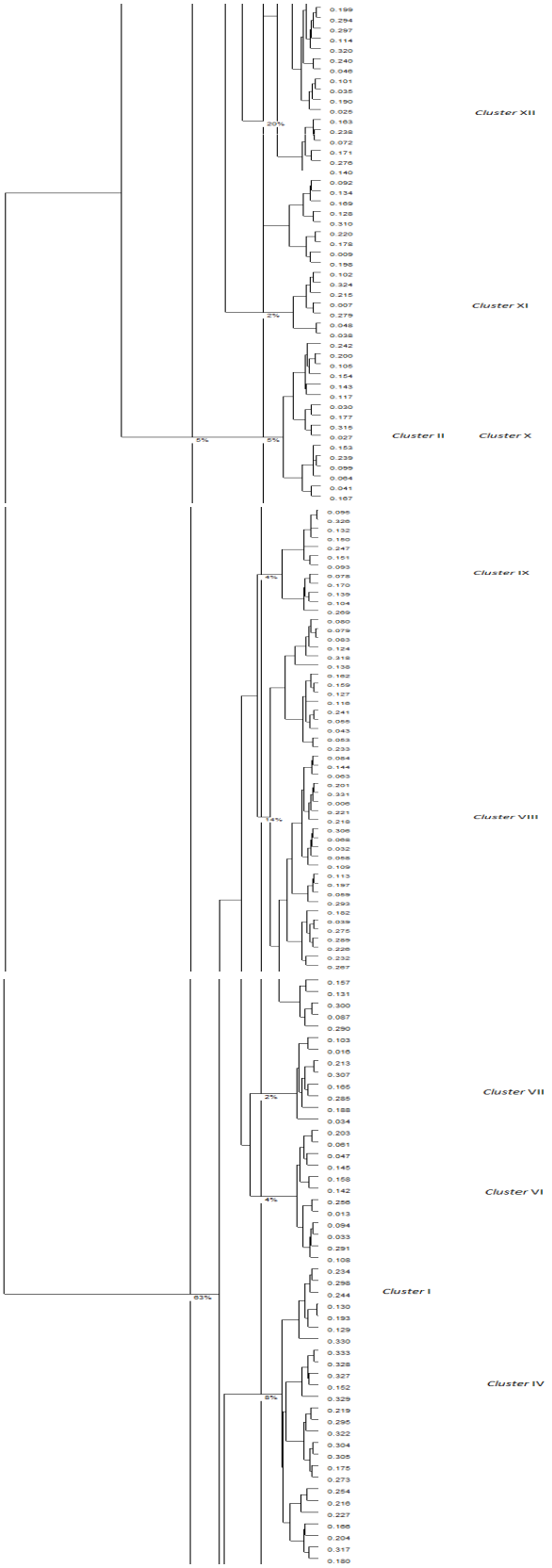
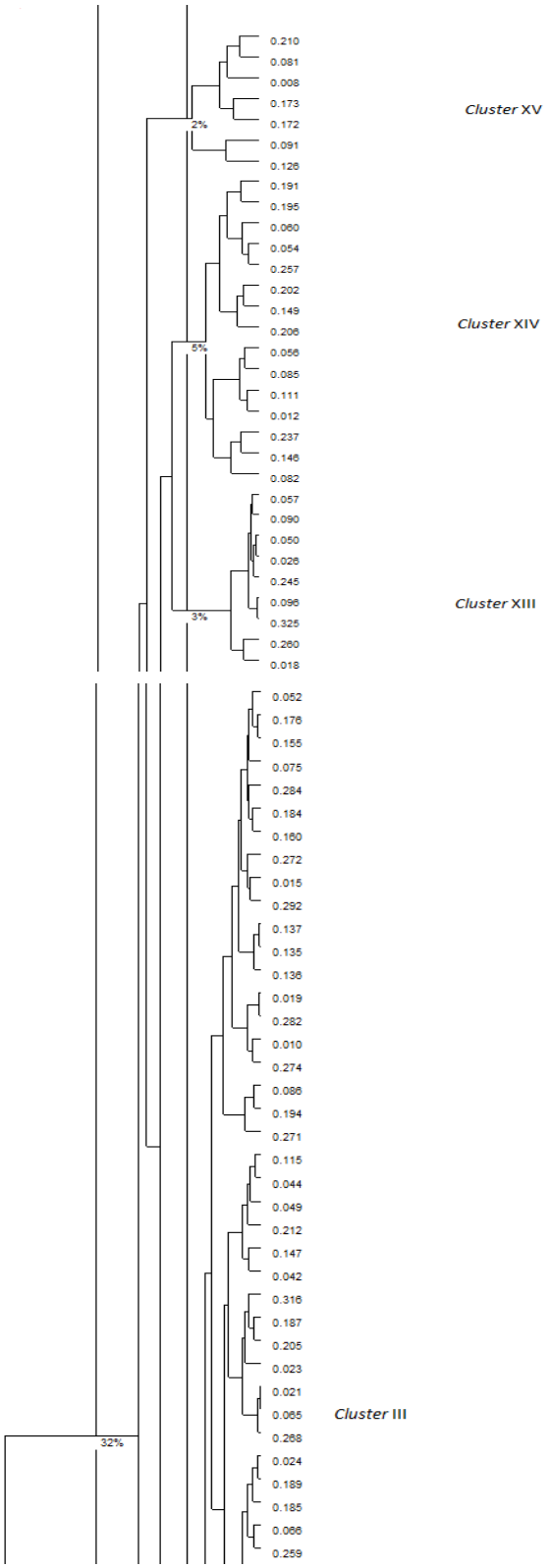


Figura 39. Dendrograma de Análise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando todas as variáveis estudadas, separando em 3 e 15 *clusters*. continua



Continuação **Figura 39.** Dendrograma de Análise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando todas as variáveis estudadas, separando em 3 e 15 *clusters*. continua



Continuação **Figura 39.** Dendrograma de Análise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando todas as variáveis estudadas, separando em 3 e 15 *clusters*.

As **Figuras 40**, **41** e **42** representam os gráficos de MCA obtidos, sendo que a quantidade de informação presente no primeiro e segundo eixo fatorial do gráfico de MCA totalizou 66,5%. Optou-se por categorizar a idade. Isso serviu para facilitar o agrupamento de idade na MCA. Como a maioria das variáveis eram categóricas, optou-se também por categorizá-la, adequando melhor a análise de MCA.

De acordo com a **Figura 40**, no primeiro eixo se verifica a separação dos pacientes do gênero feminino que se intoxicaram ou foram expostos a medicamentos, drogas de abuso e raticidas, por tentativa de suicídio, com sinais e sintomas de sonolência, miose e vômito, com intoxicação não excluída e grave, dos pacientes do gênero masculino, de idade entre 30 a 39 anos, que se intoxicaram com drogas de abuso, com sintomatologia agressividade, taquicardia, agitação, dispneia, hipertensão e dor precordial, com intoxicação leve. A relação do gênero feminino com intoxicações por medicamentos já é descrita na literatura (YOON; CHEN; YI, 2014).

No segundo eixo fatorial (**Figura 40**) observa-se os pacientes que se intoxicaram com etanol isoladamente, juntamente com pacientes que se intoxicaram com diazepam.

Observa-se a representação dos *clusters* formados já no gráfico de MCA, porém foram obtidos através de HCA. A formação de cada *cluster* ocorreu pela similaridade obtida das variáveis descritas na **Tabela 32**.

Tabela 32. Descrição das variáveis importantes obtida pela HCA, considerando a divisão em 3 *clusters*.

Cluster	**Variável**	**Dados**	**Valor de *p***
I	Substância	Imipramina	0,269
		Carbamazepina	0,284
		Cocaetileno	0,495
	Agente tóxico	Drogas de abuso	0,0001
	Circunstância	Abuso	0,0001
	Exposição	Oral	0,0001
		Nasal	0,0001
		Respiratória	0,0001
	Gênero	Masculino	0,0001
	Tipo	Aguda repetida	0,0001
		Crônica	0,0001
	Avaliação	Intoxicação leve	0,0001
	Manifestações cardiovasculares	Dor precordial	0,0001
		Hipertensão	0,022
	Manifestação geral	Mal estar	0,002
	Manifestações neurológicas	Agitação	0,002
		Agressividade	0,011
	Manifestação respiratória	Dispneia	0,012
	Idade	30 a 39 anos	0,007
	Ocorrência	Intoxicação	0,0001
II	Substância	Etanol	0,89
		Diazepam	0,320
	Ocorrência	Diagnóstico diferencial	0,0001
	Avaliação	Intoxicação não excluída	0,0001
	Manifestações neurológicas	Torpor	0,0001
	Exposição	Ignorada	0,0001

continua

Tabela 32. Descrição das variáveis importantes obtida pela HCA, considerando a divisão em 3 *clusters*. *continuação*

Cluster	Variável	Dado	Valor de *p*
II	Agente tóxico	Ignorado	0,0001
	Tipo	Ignorado	0,0001
	Circunstância	Ignorada	0,0001
III	Substância	Sertralina	0,014
		Oxazepam	0,046
		Diazepam	0,060
		Alprazolam	0,116
		Cocaína	0,175
		Paracetamol	0,260
		Nordiazepam	0,304
		Clonazepam	0,374
	Circunstância	Tentativa de suicídio	0,0001
		Acidente individual	0,001
	Exposição	Oral	0,0001
	Agente tóxico	Medicamento	0,0001
		Drogas de abuso	0,002
	Tipo	Aguda única	0,0001
	Gênero	Feminino	0,0001
	Ocorrência	Exposição	0,0001
	Avaliação	Intoxicação não excluída	0,001
		Intoxicação grave	0,025
	Manifestações neurológicas	Sonolência	0,005
		Miose	0,005
		Agitação	0,0001
	Manifestação gastrointestinal	Vômito	0,007
	Tratamento	Lavagem gástrica	0,0001
		Carvão ativado dose única	0,0001

Analisando ainda o *cluster* I (**Figura 40**), os indivíduos com faixa etária entre 30 e 39 anos estão agrupados nesse *cluster*. Esses dados confirmam a análise de frequência de faixa etária onde o maior número de pacientes encontra-se entre as idades de 19 e 50 anos. Pode-se observar também que no segundo eixo fatorial do gráfico estão separados os pacientes que apresentaram resultados positivos para cocaína (*cluster* III) e cocaetileno (*cluster* I) nas análises toxicológicas, dos demais pacientes (*cluster* II) onde os baricentros estão localizados na parte inferior do gráfico de MCA.

O *cluster* II (**Figura 40**) apresentou dados ignorados para exposição, agente tóxico, tipo e circunstância. Para este grupo verificou-se a presença de etanol e diazepam, com manifestação neurológica torpor. Verifica-se a alta probabilidade do tipo da intoxicação aguda, agente tóxico ser por droga de abuso, a circunstância abuso e a exposição oral.

A diferença entre os gráficos das **Figuras 40** e **41** é a quantidade de agrupamentos formados do mesmo banco de dados, sendo um complementar ao outro. Os baricentros (concentração dos indivíduos em cada *cluster*) foram representados com círculos amarelos. Os círculos maiores possuem mais indivíduos agrupados (HAIR JR et al., 2009).

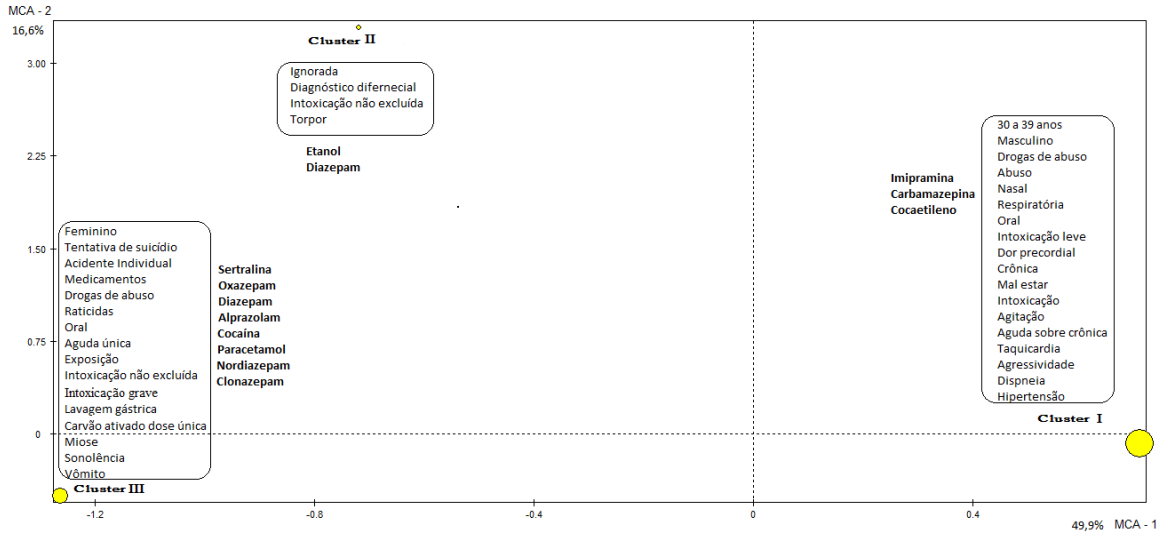


Figura 40. Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla (MCA) de todas as variáveis com 3 *cluster*.

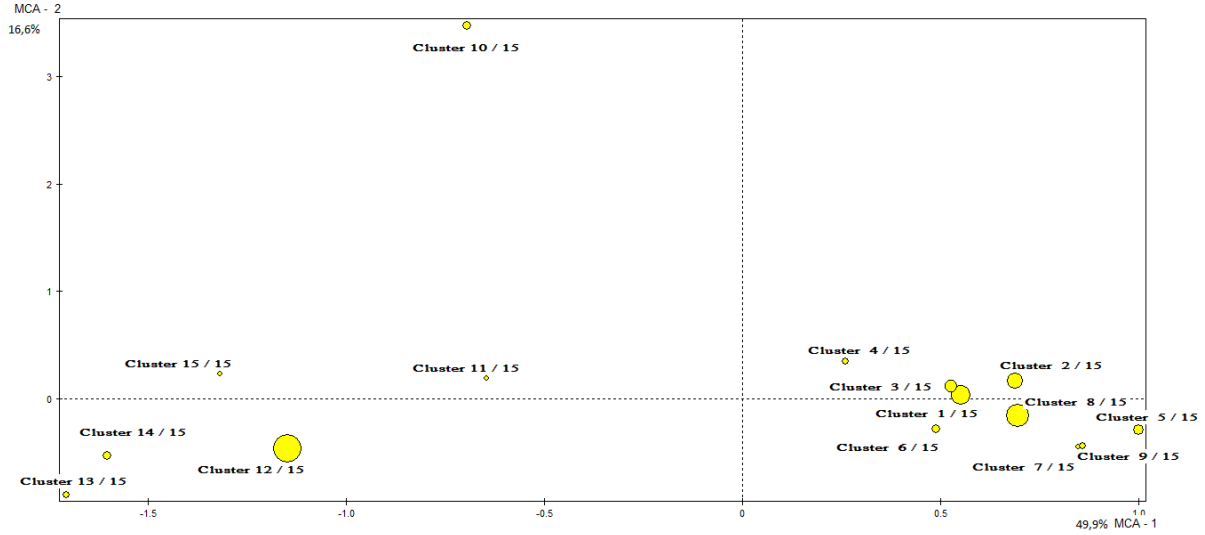


Figura 41. Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla (MCA) resumida de todas as variáveis com 15 *clusters*.

Na **Figura 42** estão detalhadas todas as informações referentes aos 15 *clusters*. Os dados são os mesmos descritos na **Figura 40** (3 *clusters*) no entanto, os pacientes e suas informações mais detalhadas apareceram com 15 *clusters*.

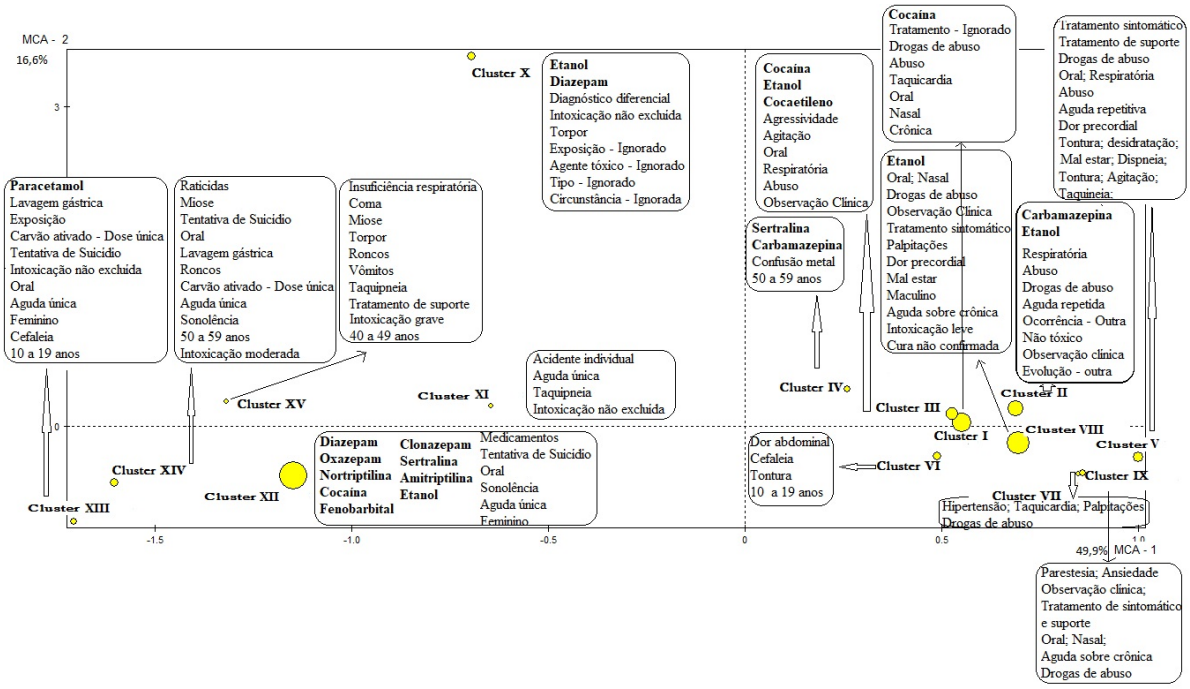


Figura 42. Representação gráfica da Análise de Correspondência Múltipla (MCA) detalhada de todas as variáveis com 15 *clusters***.**

O gráfico de MCA com 15 *cluster* (**Figura 42**) mostra a subdivisão dos *clusters* I e III. No primeiro eixo fatorial verifica-se separação dos pacientes do gênero feminino, com intoxicação moderada e grave, que se intoxicaram com

medicamentos e raticidas, por circunstância de tentativa de suicídio, dos pacientes do gênero masculino, com intoxicação leve ou não excluída e que se intoxicaram com drogas de abuso. No segundo eixo fatorial observa-se tendência de separação dos pacientes que se intoxicaram com etanol e diazepam, observada pelo isolamento do *cluster* X na parte superior do gráfico.

Considerando ainda o primeiro eixo fatorial, verificamos que a presença de cocaína nas análises toxicológicas está associada a sinais e sintomas como agressividade, agitação, característicos dos estimulantes do SNC, além de taquicardia, palpitações e dor precordial. Verificamos ainda, de acordo com a **Tabela 24**, que cerca de 50% dos pacientes com a presença de cocaína no sangue, a apresentaram em altas concentrações, acima das consideradas tóxicas (MEYER; WEBER; MAURER, 2014; SCHULZ et al., 2012; VINCENTI et al., 2013; WINEK et al., 2001). A correlação entre dor precordial e utilização de cocaína já é bem estabelecida na literatura e estudos ainda reportam que a presença da substância cocaetileno está associada a maior ocorrência de efeitos tóxicos comparados a utilização de álcool ou cocaína isoladamente (PILGRIM; WOODFORD; DRUMMER, 2013). De acordo com o gráfico de 3 *clusters* (**Figura 40**), verificamos o agrupamento do analito cocaetileno juntamente com a presença de dor precordial, concordando com os estudos citados anteriormente.

Analisando cada um dos quinze *clusters*, foi verificado que o primeiro grupamento (representando 10% dos pacientes) está os indivíduos que obtiveram resultados positivo para cocaína, a utilizam de forma crônica pelas vias oral e nasal e o principal sintoma observado foi taquicardia.

Os indivíduos agrupados no *cluster* II tiveram semelhança quanto a circunstância de exposição abuso.

O *cluster* III separou os indivíduos do gênero masculino com resultados positivos para cocaína, cocaetileno e etanol de forma abusiva e os principais sintomas apresentados foram agressividade e agitação.

Os indivíduos no *cluster* IV foram agrupados pela sintomatologia confusão mental, com idade entre 50 e 59 anos e que utilizaram sertralina e carbamazepina.

O *cluster* V separou os indivíduos que apresentaram o maior número de sintomas como mal-estar, dispneia, dor precordial, tontura, desidratação, agitação, taquipneia. Foram ainda agrupados o agente tóxico drogas de abuso e as vias de administração oral e respiratória.

No *cluster* VI estão agrupados os indivíduos com faixa etária entre 10 e 19 anos que apresentaram dor abdominal, cefaleia e tontura como sintomatologia.

Os indivíduos que apresentaram hipertensão, taquicardia e palpitações foram agrupados no *cluster* VII, juntamente com a indicação de utilização de drogas de abuso.

Cluster VIII foram agrupados indivíduos semelhantes quanto ao gênero masculino, utilização de drogas de abuso, relato de dor precordial e palpitações, com avaliação final de intoxicação leve e positividade para o uso de etanol.

No *cluster* IX estão agrupados os indivíduos fizeram o uso agudo sobre crônico de drogas de abuso pelas vias oral e nasal, apresentando parestesia e ansiedade como principais sintomas.

Os indivíduos agrupados no *cluster* X apresentaram etanol e diazepam nas análises toxicológicas. A avaliação foi determinada como intoxicação não excluída. Ainda nesse *cluster* são agrupados os indivíduos com diagnóstico diferencial e torpor; com circunstância, exposição, tipo e agente tóxico ignorados.

Já no *cluster* XI também foram agrupados indivíduos com intoxicação não excluída, no entanto a circunstância de exposição foi acidente individual e taquipneia como sintomatologia.

O *cluster* XII (20%) agrupou o maior número de substâncias positivas nas análises toxicológicas, tais como os benzodiazepínicos diazepam, oxazepam, clonazepam; antidepressivos nortriptilina, sertralina e amitriptilina; anticonvulsivante fenobarbital e drogas de abuso cocaína e etanol. Foram agrupados ainda nesse *cluster* pacientes do gênero feminino, com ingestão oral, aguda única e tentativa de suicídio como circunstância. Esses resultados estão de acordo com a literatura que relata uma maior frequência de intoxicações causadas por medicamentos das classes dos ansiolíticos, antidepressivos e anticonvulsivantes (MOTA et al., 2012) Além disso, a utilização de medicamentos como tentativa de suicídio é comum, especialmente entre mulheres e os fármacos antidepressivos são frequentemente usados para essa finalidade, sendo considerados cerca de 20% de todos os suicídios no Reino Unido e em 20-30% das overdoses não fatais no mesmo país (BERGEN et al., 2010; HAWTON et al., 2010).

O *cluster* XIII foi caracterizado por pacientes do gênero feminino, com idade entre 10 e 19 anos, que utilizaram medicamentos, entre eles o paracetamol, como

tentativa de suicídio. A via de exposição comum foi a via oral, de forma aguda única. Ainda nesse grupo, o tratamento utilizado foi lavagem gástrica e carvão ativado.

Ainda analisando o *cluster* XIII, os dados obtidos corroboram com a literatura científica. A ingestão de paracetamol é considerada uma das causas responsáveis pelos episódios de overdose e insuficiência hepática aguda em crianças e adolescentes em todo o mundo (CRISTOFORO; RAHMAN, 2018). Nos Estados Unidos, as ingestões pediátricas de paracetamol respondem anualmente por aproximadamente 30.000 relatórios do Sistema Nacional de Dados de Intoxicação (BRONSTEIN et al., 2014). De acordo com estudos publicados avaliando a utilização de NAC e a gravidade de hepatotoxicidade, verificou-se que a maior incidência de hepatotoxicidade está diretamente relacionada com longo tempo decorrente entre a intoxicação e administração da NAC. Segundo Cristoforo; Rahman (2018), apenas 2% a 7% dos pacientes tratados dentro de 8 a 10 horas da ingestão do fármaco desenvolveram hepatotoxicidade grave, ao contrário de 26% a 53% naqueles tratados entre 10 a 24 horas após a ingestão. Apesar dos dados obtidos no trabalho não serem considerados novos, eles contribuem para embasar o suporte na tomada de decisões acerca do tratamento empregado nas intoxicações.

No *cluster* XIV foram agrupados indivíduos entre 50 e 59 anos, uso de raticidas por via oral, circunstância tentativa de suicídio, miose como principal sintoma e a intoxicação foi considerada moderada. No estudo univariado reportado por Bucaretchi et al. (2012) foram constatadas intoxicações graves com a utilização de raticidas, principalmente aldicarbe, para tentativas de suicídio. Nossos dados ainda correlacionaram esses achados com a predominância desses casos na faixa etária de 50 e 59 anos.

Os indivíduos entre 40 e 49 anos foram agrupados no *cluster* XV (2%) e foram os únicos que apresentaram como sintomatologia insuficiência respiratória, taquipneia e coma e foram avaliados como intoxicação grave. Apesar da não identificação das substâncias utilizadas em comum nesse grupo, podemos considerar que o rápido reconhecimento desses sintomas e consequente tratamento poderá ser crucial para o bom prognóstico dos pacientes.

Relacionando os indivíduos com as concentrações tóxicas, verificamos ainda que os indivíduos com substâncias em concentrações tóxicas foram agrupados nos *clusters* II, VIII e XII, sendo os *clusters* II e VIII separados do XII pelo tipo de agente tóxico, sendo droga de abuso (II e VIII) e medicamentos (XII).

Considerando as amostras positivas para etanol, todos os indivíduos que apresentaram alcoolemia maior que 3 $g.L^{-1}$ estão presentes na parte superior do segundo eixo fatorial do gráfico e foram agrupados nos *clusters* II, III e X.

Na CCA não foi observado correlação aceitável entre as variáveis dependentes e independentes avaliadas. Os valores de R encontrados foram inferior a 0,4, indicando baixo poder preditivo.

Foi realizado ainda a PCA como uma análise complementar e se obteve 26,35% de informação nos dois primeiros eixos. Observa-se a separação de medicamentos com drogas de abuso no segundo eixo fatorial, conforme **Figura 43**. A menor divisão em grupos foi de dois e treze *clusters*, de acordo com a **Figura 44**. Considerando dois *clusters*, o *cluster* I agrupou pela presença de drogas de abuso e o *cluster* II pela ausência de variáveis. Considerando treze *clusters* (**Figura 43**), o *cluster* I agrupou os casos de drogas de abuso, o *cluster* III separou os medicamentos carbamazepina e sertralina em intoxicações não excluídas e não tóxicos, o *cluster* IV agrupou a fenitoína à pacientes de 40 a 49 anos e circunstância ignorada no cadastro, o *cluster* X agrupou paracetamol à pacientes de 10 a 19 anos e o *cluster* XI isolou os pacientes que fizeram uso de sertralina, paracetamol e carbamazepina. Os outros grupos formaram-se pela ausência de variáveis.

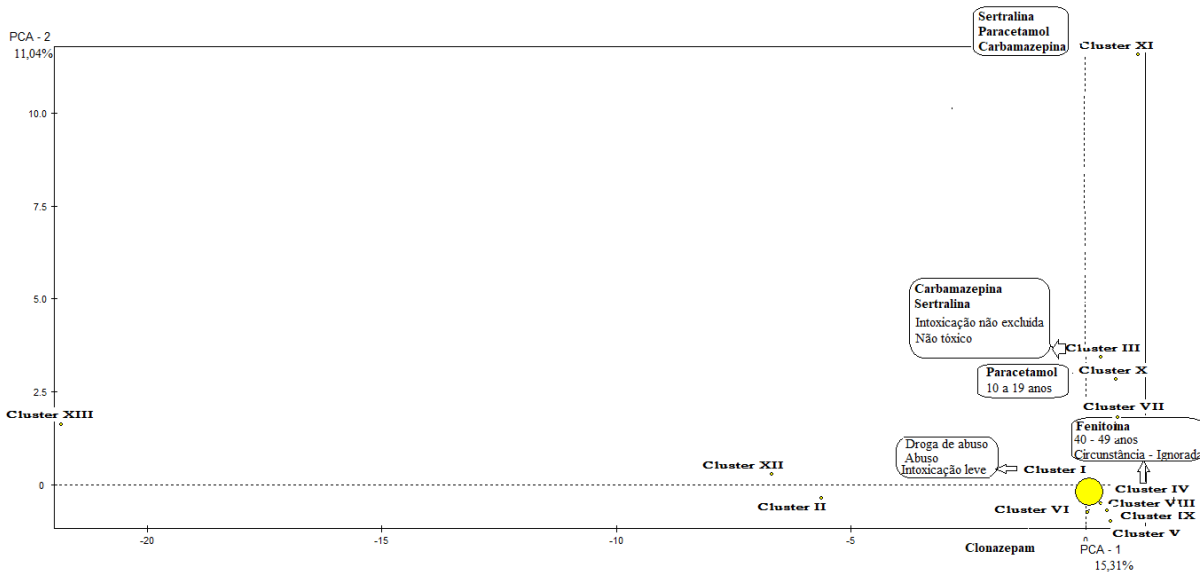


Figura 43. Representação gráfica da Análise de Componentes Principais (PCA) com 13 *clusters*.

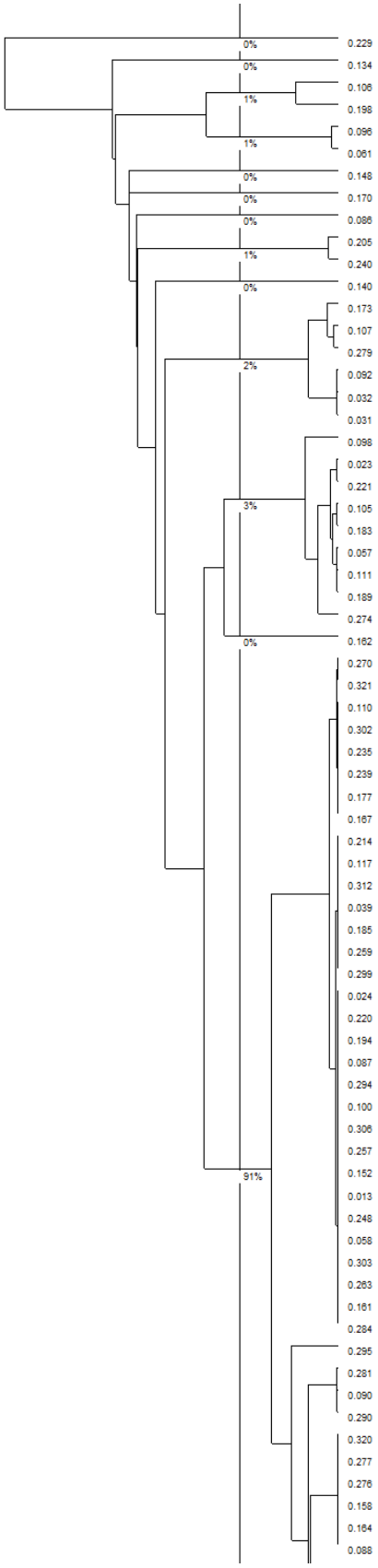


Figura 44. Dendrograma da Analise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando as variáveis estudadas, separando em 2 e 13 *clusters*. *continua*

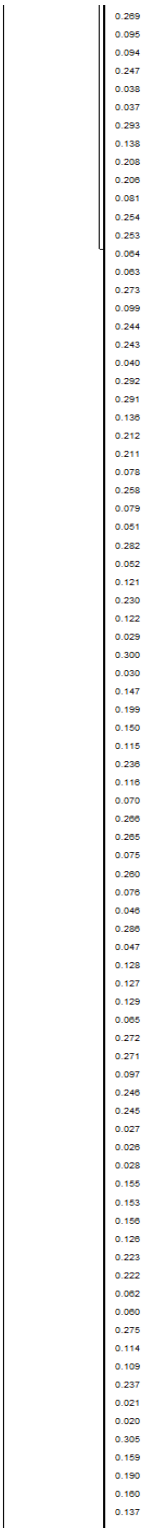


Figura 44. *Continuação.* Dendrograma da Analise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando as variáveis estudadas, separando em 2 e 13 *clusters*.

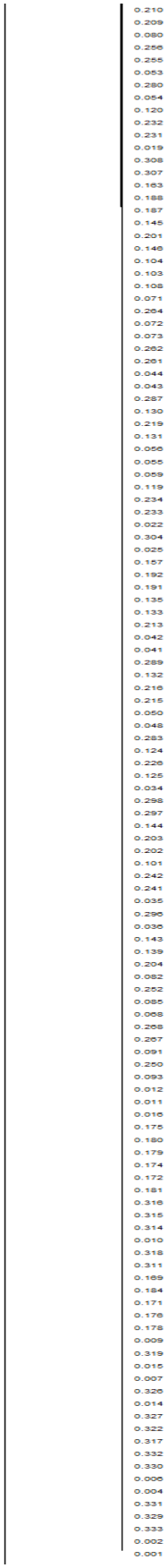


Figura 44. *Continuação.* Dendrograma da Analise Hierárquica de *Cluster* (HCA) analisando as variáveis estudadas, separando em 2 e 13 *clusters*.

Com a aplicação da análise multivariada foi possível obter informações mais complexas quando comparadas às análises univariadas. Foi possível constatar pelos resultados obtidos nas análises de frequência que o gênero masculino é responsável por cerca de 64% das intoxicações. No entanto, apesar do número ser maior, essas intoxicações foram avaliadas como leve, contrário do que ocorreu entre o gênero feminino, onde as intoxicações foram consideradas moderada e grave. Ainda relacionada a esse grupo, verificamos que mulheres tendem a se intoxicar com medicamentos enquanto os homens tendem ao uso de drogas de abuso. Essa constatação só foi possível por meio da análise multivariada, onde são avaliadas a influência de diversas variáveis simultaneamente. No estudo realizado por Oliveira (2014), verificando o perfil dos pacientes atendidos pelo Centro de Informação Toxicológica de Goiás, foi verificada a mesma distinção entre os gêneros e uso de substâncias relatada anteriormente.

Foram constatadas várias limitações no presente estudo. Embora tenhamos tentado incorporar o maior número de dados completos, algumas informações estavam ausentes na ficha de atendimento. Se esses dados pudessem ser adicionados à análise multivariada, poderiam ser obtidos melhores resultados. Esse fato reforça a necessidade do preenchimento integral da Ficha de Atendimento Hospitalar, pois a ausência de algumas informações imprescindíveis não permitiu o estabelecimento de determinadas correlações. Espera-se despertar uma maior integração da equipe hospitalar para tornar o atendimento ainda mais eficiente e também auxiliar na posterior avaliação dos dados epidemiológicos.

CONCLUSÃO

5 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram desenvolvidos cinco métodos analíticos, sendo eles o método para determinação de álcoois em sangue, método para determinação de substâncias em sangue por HPLC-DAD, método para determinação de praguicidas em sangue por HPLC-DAD, método de *screening* em urina por UHPLC-ESI-MS/MS e análises confirmatórias em sangue por UHPLC-ESI-MS/MS. Após a completa validação de cada método citado anteriormente, foram analisadas 320 amostras de sangue e 320 amostras de urina. Devido a rapidez, custo e facilidade, foram confirmados a aplicabilidade dos métodos nas análises toxicológicas de emergência.

Ao se aplicar a análise multivariada foi possível avaliar a relação de todas as variáveis estudadas entre si e suas influências nos indivíduos. Com isso, demonstramos que os casos de intoxicação atendidos pelo CCI-SP foram classificados em três *clusters*. Verificou-se ainda uma correlação entre o gênero feminino, utilização de medicamentos e tentativa de suicídio, com avaliação moderada e grave; e a separação desse grupo daquele formado por pacientes do gênero masculino, com idade entre 30 a 39 anos, que se intoxicaram com drogas de abuso e intoxicação leve.

Este trabalho contribuiu para o mapeamento dos casos de intoxicação atendidos pelo CCI-SP e foi um estudo inicial para a criação de um banco de dados que poderá ser alimentado constantemente e assim, oferecer ao sistema de toxicovigilância uma base para políticas educativas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDI, H.; VALENTIN, D. Multiple correspondence analysis. **Encyclopedia of measurement and statistics**, p. 651 – 657, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. 2003.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **SNGPC: Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados.** Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/hotsite/sngpc/mapainterativo/mapainterativo.html>, acesso em 6 de fevereiro de 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/noticias//asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/agrotoxico-utilizado-como-chumbinho-e-retirado-do-mercadobrasileiro/219201/pop_up?_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_viewMode=print&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_languageId=pt_BR> acesso em 10 de novembro de 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/rss/-/asset_publisher/Zk4q6UQCj9Pn/content/id/3658730> acesso em 10 de novembro de 2017.

ALABDALLA, M. A. HPLC-DAD for analysis of different classes of drugs in plasma. **Journal of Clinical Forensic Medicine**, v. 12, p. 310 – 315, 2005.

ALMEIDA, M. G.; SILVA, G. A. Barbitúricos. In: OGA, SEIZI.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**, 4 ed, p. 385 – 391. São Paulo: Atheneu, 2014.

AL-SAFFAR, Y.; STEPHANSON, N. N.; BECK, O. Multicomponent LC-MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine-experience from the Swedish population. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 930, p. 112 – 120, 2013.

AMARAL, D. A.; HERNANDEZ, E. M. M. Fundamentos de Toxicologia Clínica. In: OGA, SEIZI.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**, 4 ed, p. 599 – 638. São Paulo: Atheneu, 2014.

AMENO, K.; LEE, S. K.; IN, S. W.; YANG J. Y.; YOO, Y. C.; AMENO, S.; KUBOTA, T.; KINOSHITA, H.; IJIRI, I. Blood carbofuran concentrations in suicidal ingestion cases. **Forensic Science International**, v. 116, p. 59 – 61, 2001.

ASFAR, M.; NETZER, G.; SALISBURY-AFSHAR, E.; MURTHI, S.; SMITH, G. S. njured patients with very high blood alcohol concentrations. **International Journal of the Care of the Injured**, v. 47, n. 1, p. 83 – 88, 2016.

ANSEEUW, K.; MOWRY, J. B.; BURDMANN, E. A.; GHANNOUM, M.; HOFFMAN, R. S.; GOSSELIN, S.; LAVERGNE, V.; NOLIN, T. D. Extracorporeal Treatment in Phenytoin Poisoning: Systematic Review and Recommendations from the EXTRIP (Extracorporeal Treatments in Poisoning) Workgroup. **American Journal of Kidney Diseases**, n. 67, v. 2, p. 187 – 197, 2016.

ARORA, B.; VELPANDIAN, T.; SAXENA, R.; LALWANI, S.; DOGRA, TD.; GHOSE, S. Development and validation of an ESI-LC-MS/MS method for simultaneous identification and quantification of 24 analytes of forensic relevance in vitreous humour, whole blood and plasma. **Drug Testing and Analysis**, v. 8, n. 1, p. 86 – 97, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CENTROS DE INFORMAÇÃO E ASSISTÊNCIA TOXICOLÓGICA. ABRACIT. **Centros – CIAT**. Disponível em < http://www.abracit.org.br/abracit_site/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=4>, acesso em 16 de março de 2016.

ATTARD, A. Antidepressants. **Medicine**, v. 40, p. 681 – 683, 2012.

ATTEMA-DE JONGE, M. E.; PEETERS, S. Y. G.; FRANSSEN, E. J. F. Performance of three point-of-care urinalysis test devices for drugs of abuse and therapeutic drugs applied in the emergency department. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 42, n. 6, p. 682 – 691, 2012.

AYELE, D.; ZEWOTIR, T.; MWAMBI, H. Multiple correspondence analysis as a tool for analysis of large health surveys in African settings. **African Health Sciences,** v. 14, n. 4, 2014.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: a pratical guide**. John Wiley & Sons, New York, 1998.

BENZÉCRI, J. P. Pratique de lánalyse des données: Abdi, H. et al. Linguistique & lexicologie. **Dunod**, 1979. ISBN 2040107762.

BERGEN, H.; MURPHY, E.; COOPER, J.; KAPUR, N.; STALKER, C.; WATERS, K.; HAWTON, K. A comparative study of non-fatal self-poisoning with antidepressants relative to prescribing in three centres in England. **Journal of Affective Disorders,** v. 123, p. 95 – 101, 2010.

BERGO, P. L. S. **Desenvolvimento de um método de screening para anfetaminas em urina empregando ESI-MS com confirmação por GC-MS.** 2007. Dissertação (Química – Química Analítica), Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

BERMAN, S. M.; KUCZENSKI, R.; MCCRACKEN, J. T.; LONDON, E. D. Potential adverse effects of amphetamine treatment on brain and behavior: a review. **Molecular Psychiatry**, v.14, p. 123 – 142, 2009.

BINET, J. AUQUIER, A.; DIGHIERO, G.; CHASTHANG, C.; PIQUET, H.; et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. **Cancer**, v. 48, n. 1, p. 198 – 206, 1981.

BLOCK, S. G.; NEMEROFF, C. B. Emerging antidepressants to treat major depressive disorder. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 12, p. 7 – 16, 2014.

BOCHNER, R. Informação sobre intoxicações e envenenamentos para a gestão do SUS: um panorama do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas – SINITOX. **Revista Eletrônica de Comunicação Informação e Inovação em Saúde**, v. 7, n. 2, 2013.

BODMER, M.; ENZLER, F.; LIAKONI, E.; BRUGGISSER, M.; LIECHTI, M. E. Acute cocaine-related health problems in patients presenting to an urban emergency department in Switzerland: a case series. **BMC Research Notes**, p. 173, 2014.

BOENISCH, S.; BRAMESFELD, A.; MERGL, R.; et al. The role of alcohol use disorder and alcohol consumption in suicide attempts: a secondary analysis of 1921 suicide attempts. **European Psychiatry**, v. 25, n. 7, p. 414 – 420, 2010.

BOHNERT, A. S. B.; ROEDER, K.; ILGEN, M. A. Unintentional overdose and suicide among substances users: A review. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 110, p. 183 – 192, 2010.

BORGES, K. B.; FREIRE, E. F.; MARTINS, I.; DE SIQUEIRA, M. E. P. B. Simultaneous determination of multibenzodiazepines by HPLC/UV: Investigation of liquid–liquid and solid-phase extractions in human plasma. **Talanta,** v. 78, p. 233 – 241, 2009.

BORTOLOTTI, F.; GOTTARDO, R.; PASCALI, J.; TAGLIARO, F. Toxicokinetics of Cocaine and Metabolites: The Forensic Toxicological Approach. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 5658 – 5663, 2012.

BOYLE, J. S.; BECHTEL, L. K.; HOLSTEGE, C. P. Management of the critically poisoned patient**. Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine**, 17: 29, 2009.

BRASIL. **Portaria nº 344, de 12 de Maio de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Brasília: Ministério da Saúde; 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan: normas e rotinas**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007

BRASIL. **Portaria nº 1.271, de 6 de Junho de 2014**. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. Disponível em <

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt1271_06_06_2014.html>, acesso em 16 de março de 2016.

BRATCHELL, N. Cluster analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 6, p. 105 – 125, 1989.

BREAUD A. R.; HARLAN R.; DI BUSSOLO J. M.; MCMILLIN G. A.; CLARKE W. A rapid and fully-automated method for the quantitation of tricyclic antidepressants in serum using turbulent-flow liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, p. 825 – 832, 2010.

BRONSTEIN, A. C.; SPYKER, D. A.; CANTILENA, L. R.; GREEN, J. L.; RUMACK, B. H.; DART, R. C. **Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System** (NPDS): 28th Annual Report. Clinical Toxicoly, v. 52, n. 10, p. 1285, 2014.

BROWN, S. D. Chemical systems under indirect observation: Latent properties and chemometrics. **Journal of Applied Spectroscopy**, Baltimore, v.49, n.12, p.14A-31A, 1995.

BROWN, R. J. C.; GILLAM, T. P. S. Comparison of quantification strategies for one-point standard addition calibration: The heteroscedastic case. **Measurement**, v. 45, p. 1670 – 1673, 2012.

BUCARETCHI, F.; BARACAT, E. C. E. Exposições tóxicas agudas em crianças: um panomara. **Jornal de Pediatria**, v. 81, p. s212 – s222, 2005.

BUCARETCHI, F.; PRADO, C. C.; BRANCO, M. M.; SOUBHIA, P.; METTA, G. M.; MELLO, S.M.; DE CAPITANI, E. M.; LANARO, R.; HYSLOP, S.; COSTA, J. L.; FERNANDES, L. C.; VIEIRA, R. J. Poisoning by illegal rodenticides containing acetylcholinesterase inhibitors (chumbinho): a prospective case series. **Clinical Toxicology**, v. 50, p. 44 – 51, 2012.

BUNCHORNTAVAKUL, C.; REDDY, K. R. Acetaminophen-related Hepatotoxicity. **Clinical Liver Disease**, v. 17, p. 587 – 607, 2013.

BURIANOVÁ, I.; BOŘECKÁ, K. Routine therapeutic monitoring of the active metabolite of carbamazepine: Is it really necessary? **Clinical Biochemistry**, v. 48, p. 866 – 869, 2015.

CARVALHO, M. S.; STRUCHINER, C. J. Análise de correspondência: uma aplicação do método à avaliação de serviços de vacinação. **Caderno de Saúde Pública**, v. 8, n. 3, p. 287 – 301, 1992.

CAZENAVE, S. O. S., CHASIN, A. A. M. Analises toxicológicas e a questão ética**.** **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 2, 2009.

CENTRO BRASILEIRO DE INFORMAÇÕES SOBRE DROGAS PSICOTRÓPICAS. CEBRID. **II Levantamento Domiciliar Sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil – 2005**. Universidade Federal de São Paulo, 2005.

CENTRO DE INFORMAÇÃO SOBRE SAÚDE E ÁLCOOL. **CISA**. Disponível em: < http://www.cisa.org.br/artigo/4429/relatorio-global-sobre-alcool-saude-2014.php>, acesso em 24 de abril de 2016.

CHASIN, A. A. M.; SILVA, E. S.; CARVALHO, V. M. Estimulantes do Sistema Nervoso Central. In: OGA, SEIZI.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**, 4 ed, p. 365 – 383. São Paulo: Atheneu, 2014.

CHEN, X.; ZHENG, X.; DING, K.; ZHOU, Z.; ZHAN, C.;ZHENG, F. A quantitative LC–MS/MS method for simultaneous determination of cocaine and its metabolites in whole blood. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, V. 134, P. 243 – 251, 2016.

CHIANG, W. K. Amphetamines. In: NELSON, L.; GOLDFRANK, L. R.; LEWIN, N.; HOWLAND, M.; HOFFMAN, R.; GOLDFRANK, L.; FLOMENBAUM, N. G**oldfrank's toxicologic emergencies**, 9 ed., p. 1109 – 1114. Maidenhead: McGraw-Hill Medical, 2011.

CHRISTIANSEN, E.; JENSEN, B. F. Risk of repetition of suicide attempt, suicide or all deaths after an episode of attempted suicide: a register-based survival analysis. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 41, p. 257 – 265, 2007.

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, p. 1299 – 1305, 1994.

COSTA, A. O.; ALONZO, H. G. A. Exposure and poisoning by drugs recorded at a Poison Control Center. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 17, n. 2, p. 52 – 60, 2015.

CRISTOFORO,T. A.; RAHMAN, W. Treatment of Acetaminophen Overdose in an Adolescent Female with Delayed Presentation: A Case Report. **Toxicology Reports**, doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.03.005, 2018.

DACHER, M.; NUGENT, F. S. Opiates and plasticity. **Neuropharmacology**, v. 61, p. 1088 – 1096, 2011.

DEAR, J. W.; BATEMAN, D. N. Antidepressants. **Medicine**, v. 44, p. 135 – 137, 2016.

DEARMOND, P. D.; BRITTAIN, M. K.; PLATO JR, G. E.; YEUNG, D. T. QuEChERS-based approach toward the analysis of two insecticides, methomyl and aldicarb, in blood and brain tissue. **Analytical Methods**, v. 7, p. 321 – 328, 2015.

DE BRABANTER, N.; GANSBEKE, W. V.; HOOGHE, F.; VAN EENOO, P. Fast quantification of 11-nor-D9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THCA) using microwave-accelerated derivatisation and gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. **Forensic Science International**, v. 224, p. 90 – 95, 2013.

DESCOTES, J. From clinical to human toxicology: linking animal research and risk assessment in man. **Toxicology Letters**, v. 140, p. 3 – 10, 2003.

DESCOTES, J.; TESTUD, F. Toxicovigilance: A new approach for the hazard identification and risk assessment of toxicants in human beings. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 207, p. S599 – S603, 2005.

DE LA TORRE, R.; FARRÉ, M.; NAVARRO,M.; PACIFICI, R.; ZUCCARO, P.; PICHINI, S. Clinical Pharmacokinetics of Amfetamine and Related Substances. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 43, n. 3, p. 157 – 185, 2004.

DZIADOSZ, M.; TESKE, J.; HENNING, K.; KLINTSCHAR, M.; NORDMEIER, F. LC–MS/MS screening strategy for cannabinoids, opiates, amphetamines, cocaine, benzodiazepines and methadone in human serum, urine and post-mortem blood as an effective alternative to immunoassay based methods applied in forensic toxicology for preliminary examination. **Forensic Chemistry**, v. 7, p. 33 – 37. 2018.

DRUMMER, O. H. Pharmacokinetics and Metabolism. In: MOFFAT, A. C.; OSSELTON, M. D.; WIDDOP, B.; WATTS, J. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons**, v. 1, ed. 4, p. 388 – 400, London: Pharmaceutical Press, 2011.

DULAURENT, S.; MOESCH, C.; MARQUET, P.; GAULIER, J.; LACHÂTRE, G. Screening of pesticides in blood with liquid chromatography–linear ion trap mass spectrometry. **Analitycal Bioanalitycal Chemistry,** v. 396, p. 2235 – 2249, 2010.

EICHHORST, J. C.; ETTER, M. L.; ROUSSEAUX, N.; LEHOTAY, D. C. Drugs of abuse testing by tandem mass spectrometry: a rapid, simple method to replace immunoassays. **Clinical Biochemistry**, v. 42, n. 15, p. 1531 – 1542, 2009.

ENGIN, E.; BAKHURIN, K. I.; SMITH, K. S.; HINES, R. M.; REYNOLDS, L. M.; TANG, W.; SPRENGEL, R.; MOSS, S. J.; RUDOLPH, U. Neural Basis of Benzodiazepine Reward: Requirement for α2 Containing GABAA Receptors in the Nucleus Accumbens. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, p. 1805 – 1815, 2014.

EVERITT, B.; DUNN, G. **Applied Multivariate Data Analysis**. 2001. Arnold, London, 2001.

FELTRACO, L. L.; ANTUNES, M. V.; LINDEN, R. Determinação de etanol e voláteis relacionados em sangue e fluido oral por microextração em fase sólida em *headspace* associada à cromatografia gasosa com detector de ionização em chama. **Quimica Nova**, v. 32, n. 9, p. 2401 – 2406, 2009.

FERNANDES, L. C. R.; GALVÃO, T. F.; RICARDI, A. S. T.; DE CAPITANI, E. M.; HYSLOP, S.; BUCARETCHI, F. Antidote availability in the municipality of Campinas, São Paulo, Brazi. **São Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 1, p. 15 – 22, 2017.

FERREIRA, M. M. C. Multivariate QSAR. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v.13, n. 6, p.742 – 753, 2002.

FERRER, P.; BALLARIN, E.; SABATE, M.; VIDAL, X.; ROTTENKOLBER, M.; AMELIO, J.; HASFORD, J.; SCHMIEDL, S.; IBÁÑEZ, L. Antiepileptic drugs and suicide: a systematic review of adverse effects. **Neuroepidemiology,** v. 42, p. 107 – 120, 2014.

FLORIANI, G.; GASPARETTO, J. C.; PONTAROLO, R.; GONÇALVES, A. G. Development and validation of an HPLC-DAD method for simultaneous determination of cocaine, benzoic acid, benzoylecgonine and the main adulterants found in products based on cocaine. **Forensic Science International**, v. 235, p. 32 – 39, 2014.

FORNAL, E; STACHNIUK, A. Application of a truly one-point calibration for pesticide residue control by liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 901, p. 107 – 114, 2012.

FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. S. E.; ZUCOLOTO, A. D.; DE OLIVEIRA, C. D. R.; HERNANDEZ, E. M. M.; FRUNCHTENGARTEN, L. V.; YONAMINE, M. Determination of Ethanol and Methanol in Blood Hs/Gc-Fid in Cases Attended by the Poison Control Center of São Paulo. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, v. 6, n. 1, p. 61 – 71, 2016.

FREDERICK D. L.; BISSELL M. G. Overview of Progress in Clinical Toxicology Testing. **Clinics in Laboratory Medicine,** v. 32, n. 3, p. 353 – 359, 2012.

FREEDMAN, R. R.; JOHANSON, C.; TANCER, M. E. Thermoregulatory effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. **Psychopharmacology**, v. 183, p. 248 – 256, 2005.

FREIRE, C.; KOIFMAN, S. Pesticides, depression and suicide: A systematic review of the epidemiological evidence. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 216, p. 445 – 460, 2013.

GAO, S.; MIAO, H.; TAO, X.; JIANG, B.; XIAO, Y.; CAI, F.; YUN, Y.; LI, J.; CHEN, W. LC–MS/MS method for simultaneous determination of valproic acid and major metabolites in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 879, n. 21, p. 1939 – 1944, 2011.

GARCIA, R. C. T.; DATI, L. M. M.; FUKUDA, S.; TORRES, L. H. L.; MOURA, S.; DE CARVALHO, N. D.; CARRETEIRO, D. C.; CAMARINI, R.; LEVADA-PIRES, A. C.; YONAMINE, M.; NEGRINI-NETO, O.; ABDALLA, F. M. F.; SANDOVAL, M. R. L.; AFECHE, S. C.; MARCOURAKIS, T. Neurotoxicity of anhydroecgonine methyl ester, a crack cocaine pyrolisis product. **Toxicological Sciences**, v. 128, n. 1, p. 223 – 234, 2012.

GAVRIELATOS, G.; KOMITOPOULOS, N.; KANELLOS, P.; VARSAMIS, E.; KOGEORGOS, J. Suicidal attempts by prescription drug overdose in the elderly: a study of 44 cases. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 2, n. 3, p. 359 – 363, 2006.

GHAMBARIAN, M.; YAMINI, Y.; ESRAFIL, A. Three-phase hollow fiber microextraction based on two immiscible organic solvents for determination of tricyclic antidepressant drugs: Comparison with conventional three-phase hollow fiber microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1222, p. 5 – 12, 2012.

GIBBONS, R. D.; MANN, J. J. Strategies for quantifying the relationship between medications and suicidal behaviour: what has been learned? **Drug Safety**, v. 34, n. 5, p. 375 – 395, 2011.

GIBRILLA, A.; BAM, E. K. P.; ADOMAKO, D.; GANYAGLO, S.; OSAE, S.; AKITI, T. T.; KEBEDE, S.; ACHORIBO, E.; AHIALEY, E.; AYANU, G.; AGYEMAN, E. K. Application of water quality index (WQI) and Multivariate Analysis for graoundwater quality assessment of the birimian and cape coast granitoid complex: Densu River Basin of Gana. **Water Qual Expo Health**, v. 3, p. 63 – 78, 2011.

GOLDSTEIN, R. A.; DESLAURIERS, C.; BURDA, A. M. Cocaine: History, Social Implications, and Toxicity - A Review. **Disease-a-Month**, v. 55, p. 6 – 38, 2009.

GOULART, S. M.; ALVES, R. D.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H.; ASSIS, T. C.; DE QUEIROZ, M. E. L. R. Optimization and validation of liquid–liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, p. 41 – 47, 2010.

GREENACRE, M. **Correspondence Analysis in Practice**. Second Edition, Chapman and Hall, . 201-211, 2007.

GREENACRE, M.; HASTIE, T. The geometric interpretation of correspondence analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 82, n. 398, p. 437 – 447, 1987.

GRIFFIN JR, E. A.; LOWENSTEIN, D. H. Farmacologia da Neurotransmissão Elétrica Anormal no Sistema Nervoso Central. In: In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**, 2 ed, p. 213 – 198. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GRIFFIN, C. E.; KAYE, A. M.; BUENO, F. R.; KAYE, A. D. Benzodiazepine Pharmacology and Central Nervous System–Mediated Effects. **The Ochsner Journal**, v. 13, p. 214 – 223, 2013.

GOWING, L. R.; HENRY-EDWARDS, S. M.; IRVINE, R. J.; ALI, R. L. The health effects of ecstasy: a literature review. **Drug and Alcohol Review**, v. 21, p. 53 – 63, 2002.

HAIR JR.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise multivariada de dados.** Tradução Adonai Schulup Sant'Anna, 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HARDYCK, C. D.; PETRINOVICH, L. F**. Introduction to statistics for the behavioral sciences**. 2 ed., Philadelphia: Saunders, 1976.

HAWTON, K.; BERGEN, H.; SIMKIN, S.; COOPER, J.; WATERS, K.; GUNNELL, D.; KAPUR, N. Toxicity of antidepressants: rates of suicide relative to prescribing and non-fatal overdose. **The British Journal of Psychiatry**, v. 196, p. 354 – 358, 2010.

HEAL, D. J.; SMITH, S. L.; GOSDEN, J.; NUTT, D. J. Amphetamine, past and present – a pharmacological and clinical perspective. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 6, p. 479 – 496, 2013.

HEARD, K.; PALMER, R.; ZAHNISE, N. R. Mechanisms of acute cocaine toxicity. **Open Pharmacology Journal**, v. 2, n. 9, p. 70 – 78, 2008.

HEGSTAD, S.; HERMANSSON, S.; BETNÉR, I.; SPIGSET, O.; FALCH, B. M. H. Screening and quantitative determination of drugs of abuse in diluted urine by UPLC–MS/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 947 – 948, p. 83 – 95, 2014.

HELFER, G. A.; FERRÃO, M. F.; FERREIRA, C. V.; HERMES, N. Aplicação de métodos de análise multivariada no controle qualitativo de essências alimentícias empregando espectroscopia no infravermelho médio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 26, n. 4, p. 779 – 786, 2006.

HIEMKE, C.; BAUMANN, P.; BERGEMANN, N.; CONCA, A.; DIETMAIER, O.; EGBERTS, K.; et al. AGNP consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in psychiatry: update 2011. **Pharmacopsychiatry,** v. 44, p. 195 – 235, 2011.

HILL, S.; THOMAS, S. L. Clinical toxicology of newer recreational drugs. **Clinical Toxicology**, v.49, n. 8, p. 705 – 719, 2011.

HODGMAN, M. J.; GARRARD, A. R. A Review of Acetaminophen Poisoning. **Critical Care Clinics,** v. 28, p. 499 – 516, 2012.

HOFFMAN, R.; NELSON, L.; HOWLAND, M. Benzodiazepines. In: NELSON, L.; GOLDFRANK, L. R.; LEWIN, N.; HOWLAND, M.; HOFFMAN, R.; GOLDFRANK, L.; FLOMENBAUM, N. G**oldfrank's toxicologic emergencies**, 9 ed., p. 1109 – 1114. Maidenhead: McGraw-Hill Medical, 2011.

HOLMGREN, A.; JONES, A. W. Demographics of suicide victims in Sweden in relation to their blood-alcohol concentration and the circumstances and manner of death. **Forensic Science International**, v. 198, p.17 – 22, 2010.

HORI, Y.; FUJISAWA, M.; SHIMADA, K.; HIROSE, Y.; YOSHIOKA, T. Method for Screening and Quantitative Determination of Serum Levels of Salicylic Acid, Acetaminophen, Theophylline, Phenobarbital, Bromvalerylurea, Pentobarbital, and Amobarbital Using Liquid Chromatography/Electrospray Mass Spectrometry. **Biological and Pharmaceutical Bulletin,** v. 29, n. 1, p. 7 – 13, 2006.

HOVING, D. J.; VEALE, D. J. H.; MULLER, J. F. Clinical Review: Emergency management of acute poisoning. **African Journal of Emergency Medicine**, v. 1, n.2, p. 69 – 78, 2011.

HOWARD, P.; TWYCROSS, R.; SHUSTER, J.; MIHALYO, M.; WILCOCK, A. Benzodiazepines. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 47, n. 5, p. 955 – 964, 2014.

HOWLAND, M. A.; HENDRICKSON, R. N-acetylcysteine. In: NELSON, L.; GOLDFRANK, L. R.; LEWIN, N.; HOWLAND, M.; HOFFMAN, R.; GOLDFRANK, L.; FLOMENBAUM, N. G**oldfrank's toxicologic emergencies**, 9 ed., p. 500 – 507. Maidenhead: McGraw-Hill Medical, 2011.

HUTSON, P. H.; TARAZI, F. I.; MADHOO, M.; SLAWECKI, C.; PATKAR, A. A. Preclinical pharmacology of amphetamine: implications for the treatment of neuropsychiatric disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 143, n. 3, p. 253-264, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA PARA POLÍTICAS PÚBLICAS DE ÁLCOOL E OUTRAS DROGAS. **INPAD**. II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD) - 2012. Ronaldo Laranjeira (Supervisão) [et al.], São Paulo: UNIFESP. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, DOG-CGCRE-008**. Revisão 2, 2007.

IWAI, S.; KIGUCHI, N.; KOBAYASHI, Y.; FUKAZAWA, Y.; SAIKA, F.; UENO, K.; YAMAMOTO, C.; KISHIOKA, S. Inhibition of morphine tolerance is mediated by painful stimuli via central mechanisms. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 6, n. 1, p. 31 – 37, 2012.

JAWIEŃ, W.; WILIMOWSKA, J.; KŁYS, M.; PIEKOSZEWSKI, W. Population pharmacokinetic modelling of valproic acid and its selected metabolites in acute VPA poisoning. **Pharmacological Reports,** v. 9, p. 340 – 349, 2017

JENKINS, A.J.; OYLER, J.M.; CONE, E.J. Comparison of heroin and cocaine concentrations in saliva with concentrations in blood and plasma, **Journal of Analytical Toxicology**, v. 19, p. 359 – 374, 1995.

JEONG, Y. D.; KIM, M. K.; SUH, S.; IN, M. K.; KIM, J. Y.; PAENG, K. J. Rapid determination of benzodiazepines, zolpidem and their metabolites in urine using direct injection liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Forensic Science International**, v. 257, p. 84 – 92, 2015.

JOHNSON, R. A.; WICHERIN, D W. **Applied multivariate statistical analysis**. 6 ed, New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2007.

JOLLIFFE, I. T. **Principal Component Analysis**. ed, 2, New York: Springer, 2002.

JUDGE, B. S.; RENTMEESTER, L. L. Antidepressant Overdose – induced Seizures. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 36, p. 245 – 260, 2013.

KING, A. M.; AARON, C. K. Organophosphate and Carbamate Poisoning. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 33, p. 133 – 151, 2015.

KRAEMER, T.; MAURER, H. H. Toxicokinetics of Amphetamines: Metabolism and Toxicokinetic Data of Designer Drugs, Amphetamine, Methamphetamine, and their N-Alkyl Derivatives. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 24, p. 277 – 289, 2002.

KURKO, T. A.; SAASTAMOINEN, L. K.; TÄHKÄPÄÄ, S.; TUULIO-HENRIKSSON, A.;TAIMINEN, T.; TIIHONEN, J.; AIRAKSINEN, M. S.; HIETALA, J. Long-term use of benzodiazepines: Definitions, prevalence and usage patterns – a systematic review of register-based studies. **European Psychiatry**, v. 30, n. 8, p. 1037 – 47, 2015.

LAGUARDIA, J.; DOMINGUES, C. M. A.; CARVALHO, C.; LAUERMAN, C. R.; MACÁRIO, E.; GLATT, R. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan): desafios no desenvolvimento de um sistema de informação em saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 13, n. 3, p. 135 – 147, 2004.

LANGMAN, L. J.; KAPUR, B. M. Toxicology: then and Now. **Clinical Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 498 – 510, 2006.

LEE, H. H.; LEE, J. F.; LIN, S. Y.; CHEN, B. H. Simultaneous identification of abused drugs, benzodiazepines, and new psychoactive substances in urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **The Kaohsiung Journal of Medical Sciences**, v. 32, p 118 – 127, 2016.

LI, X.; SHEN, B.; JIANG, Z.; HUANG, Y.; ZHUO, X. Rapid screening of drugs of abuse in human urine byhigh-performance liquid chromatography coupled with highresolution and high mass accuracy hybrid linear ion trap-Orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1302, p. 95 – 104, 2013.

LINDEN, R.; SARTORI, S.; KELLERMANN, E.; SOUTO, A. A. Identificação de substâncias em análise toxicológica sistemática utilizando um sistema informatizado para cálculo de parâmetros cromatográficos e busca em bases de dados. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 468 – 475, 2007.

LOPES, J.; MATHEUS, M. E. Risco de hepatotoxicidade do Paracetamol (Acetaminofem). **Revista Brasileira de Farmácia**, n. 93, v.4, p. 411 – 414, 2012.

MACDONALD, S.; GREER, A.; BRUBACHER, J.; CHERPITEL, C.; STOCKWELL, T.; ZEISSER, C.; In: BOYLE, P.; BOFFETTA, P.; LOWENFELS, A. B.; BURNS, H.; BRAWLEY, O.; ZATONSKI, W.; et al., editors. **Alcohol consumption and injury**. Alcohol: science, policy and public health. Oxford: Oxford University Press, 2013.

MALBEGIER, A.; PILEGGI, A.; SCIVOLETTO, S. Etanol. In: OGA, SEIZI.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**, 4 ed, p. 400 – 410. São Paulo: Atheneu, 2014.

MARGONATO, F. B.; THOMSON, Z.; PAOLIELLO, M. M. B. Acute intentional and accidental poisoning with medications in a southern Brazilian city. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 849 – 856, 2009.

MATUSZEWSKI, B. K.; CONSTANZER, M.; CHAVEZ-ENG, C. M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 13, p. 3019 – 3030, 2003.

MAURER H.H. Multi-analyte procedures for screening for and quantification of drugs in blood, plasma, or serum by liquid chromatography-single stage or tandem mass spectrometry (LC-MS or LC-MS/MS) relevant to clinical and forensic toxicology. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 310 – 318, 2005.

MAURER, H. H. Demands on scientific studies in clinical toxicology. **Forensic Science International**, v. 165, p. 194 – 198, 2007a.

MAURER H. H. Current role of liquid chromatography–mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. **Analitycal Bioanalitycal Chemistry**, v. 388, n. 7, p. 1315 – 1325, 2007b.

MAURER, H. H. How Can Analytical Diagnostics in Clinical Toxicology Be Successfully Performed Today? **Therapeutic Drug Monitoring,** v. 34, n. 5, p. 561 – 564, 2012.

MAVRIS, D. N.; BANDTE, O. A probabilistic approach to multivariate constrained robust design simulation. **SAE Technical Paper**, n. 975508, 1997.

MERCOLINI, L.; MANDRIOLI, R.; IANNELLO, C.; MATRISCIANO, F.; NICOLETTI, F.; RAGGI, M. A. Simultaneous analysis of diazepam and its metabolites in rat plasma and brain tissue by HPLC-UV and SPE. **Talanta**, v. 15, n. 80, p. 279 – 285, 2009.

MEYER, G. M. J.; WEBER, A. A.; MAURER, H. H. Development and validation of a fast and simple multi-analyte procedure for quantification of 40 drugs relevant to emergency toxicology using GC-MS and one-point calibration. **Drug Testing and Analysis**, v. 6, p. 472 – 481, 2014.

MILHORN JR., T. H. CNS Depressants: Alcohol. In: **Chemical dependence – diagnosis treatment and prevention**. p. 124 – 148. New York: Springer-Verlag, 1990.

MONTEIRO, C.; FRANCO, J.M.; PROENÇA P.; CASTAÑERA, A.; CLARO, A.; VIEIRA, D.N.; CORTE-REAL, F. Qualitative and quantitative analysis of a group of volatile organic compounds in biological samples by HS-GC/FID: application in practical cases. **Forensic Science International**, v. 243, p. 137–143, 2014.

MONTENARH, D.; HOPF, M.; WARTH, S.; MAURER, H. H.; SCHMIDT, P.; EWALD, A. H. A simple extraction and LC-MS/MS approach for the screening and identification of over 100 analytes in eight different matrices. **Drug Testing and Analysis**, v. 7, n. 3, p. 214 – 240, 2015.

MORENO, A. M. J.; NAVAS, M. J.; ASUERO, A. G. HPLC-DAD Determination of CNS-Acting Drugs in Human Blood, Plasma, and Serum. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 44, p. 68 – 106, 2014.

MOTA, D. M.; MELO, J. R. R.; FREITAS, D. R. C.; MACHADO, M. Perfil da mortalidade por intoxicação com medicamentos no Brasil, 1996-2005: retrato de uma década. **Ciência & Saúde Pública**, v. 17, n. 1, p. 61 – 70, 2012.

MUÑIZ, A. E. Valproic Acid Overdose Review of a Case With Electrocardiographic Changes. **Journal of Emergency Medicine**, v. 53, n. 3, p. 333 – 338, 2017.

MUT, L.; GROBOSCH, T.; BINSCHECK-DOMAß, T.; FRENZEL, W. Toxicological screening of human plasma by on-line SPE-HPLC-DAD: identification and quantification of basic drugs and metabolites. **Biomedical Chromatography**. v. 29, p. 935 – 952, 2015.

NADAL-VICENS, M.; CHYUNG, J. H.; TURNER, T. J. Farmacologia da Neurotransmissão Serotoninérgica e Adrenérgica Central. In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**, 2 ed, p. 185 – 198. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

NETO, M. M. J. **Estatística multivariada.** Revista de Filosofia e Ensino. 9 maio 2004. Disponível em: http://www.criticanarede.com/cien_estatistica.html.

NOZAWA, H.; MINAKATA, K.; YAMAGISHI, I.; HASEGAWA, K.; WURITA, A.; GONMORI, K.; SUZUKI, O.; WATANABE, K. MALDI-TOF mass spectrometric determination of eight benzodiazepines with two of their metabolites in blood. **Legal Medicine**, v. 17, p. 150 – 156, 2015.

OCHOA, J. G.; KILGO, W. A. The Role of Benzodiazepines in the Treatment of Epilepsy. **Current Treatment Options in Neurology**, v.18, n. 4, p. 18, 2016.

OLIVEIRA, A. R. M.; MAGALHÃES, I. R. S.; DE SANTANA, F. J. M.; BONATO, P. S. Microextração em fase líquida (LPME): fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 637 – 644, 2008.

OLIVEIRA, F. N. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; SERAPHIN, J. C.; PALUDZYSZYN FILHO, E. Seasonal Influence on the Essential Oil Compositions of Eucalyptus urophylla S. T. Blake and E. grandis W. Hill ex Maiden from Brazilian Cerrado. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, 2008.

OLIVEIRA, F. N. M.; FORTES, G. A. C.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Seasonal Inflence on the Essential Oil of Eucalyptus microcorys. **Natural Product Communications**. V. 9, n. 0, p. 1-2, 2014.

OLIVEIRA, G. H.; CAMARGO, M. M. A. Opiáceos e Opióides. In: OGA, SEIZI.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**, 4 ed, p. 354 – 364. São Paulo: Atheneu, 2014.

OLIVEIRA, R. D. R.; MENEZES, J. B. Intoxicações exógenas em clínica médica. **Medicina**, v. 36, p. 472 – 479, 2003

OLSON, K. R. **Manual de Toxicologia Clínica**. ed. 6, Porto Alegre: AMGH, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. OMS. **Global status report on alcohol and health**. Genebra, 2014.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. PAHO. **Drug Use Epidemiology in Latin America and the Caribbean: A Public Health Approach.** Washington, D. C., 2009.

PANTALEÃO, L. N.; PARANHOS, B. A. P. B.; YONAMINE, M. Hollow-fiber liquid-phase microextraction of amphetamine-type stimulants in human hair samples. **Journal of Chromatography A,** v. 1254, n. 7, p. 1 – 7, 2012.

PAPOUTSIS, I. I.; ATHANASELIS, S. A.; NIKOLAOU, P. D.; PISTOS, C. M.; SPILIOPOULOU, C. A.; MARAVELIAS, C. P. Development and validation of an EI-GC-MS method for the determination of benzodiazepine drugs and their metabolites in blood: applications in clinical and forensic toxicology. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 1, n. 52, p. 609 – 614, 2010.

PARREIRA, T. F. **Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada.** Dissertação (Instituto de Química). Universidade Estadual de Campinas. 2003.

PERSONA, K.; MADEJ, K.; KNIHNICKI, K.; PIEKOSZEWSKI, W. Analytical methodologies for the determination of benzodiazepines in biological samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 113, p. 239 – 264, 2015.

PETERS, F. T.; MAURER, H. H. Bioanalytical method validation and its implications for forensic and clinical toxicology – A review. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 7, p. 441 – 449, 2002.

PETERS, F. T.; MAURER, H. H. Systematic Comparison of Bias and Precision Data Obtained with Multiple-Point and One-Point Calibration in Six Validated Multianalyte Assays for Quantification of Drugs in Human Plasma. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 4967 – 4976, 2007.

PETERS, F. T.; DRUMMER, O. H.; MUSSHOFF, F. Validation of new methods. **Forensic Science International**, v. 165, p. 216 – 224, 2007.

PETERS F. T. Recent advances of liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. **Clinical Biochemistry,** n.44, p. 54 – 65, 2011.

PETRUCZYNIK, A.; WRÓBLEWSKI, K.; SZULTKA-MŁYŃSKA, M.; BUSZEWSKI, B.; KARAKUŁA-JUCHNOWICZ, H.; GAJEWSKI, J.; MORYLOWSKA-TOPOLSKA, J.; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. Determination of some psychotropic drugs in serum

and saliva samples by HPLC-DAD and HPLC MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 5, n. 127, p. 68 – 80, 2016.

PILGRIM, J. L.; WOODFORD, N.; DRUMMER, O.H. Cocaine in sudden and unexpected death: A review of 49 post-mortem cases. **Forensic Science International**, v. 227, p. 52 – 59, 2013.

PINAKINI, K. S.; KUMAR, T. S. Serial cholinesterase estimation in carbamate poisoning. **Journal of Clinical Forensic Medicine**, v.13, p. 274 – 276, 2006.

PIZZOLATO, T. M.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. LC based analysis of drugs of abuse and their metabolites in urine. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 7, p. 609-624, 2007.

PONTES, H.; PINHO, P. G.; CASAL, S.; CARMO, H.; SANTOS, A.; MAGALHÃES, T.; REMIÃO, F.; CARVALHO, F.; BASTOS, M. L. GC Determination of Acetone, Acetaldehyde, Ethanol, and Methanol in Biological Matrices and Cell Culture. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, n. 4, p. 272 – 278, 2009.

POOLE, C. F. Ionization-based detectors for gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1421, p. 137 – 153, 2015.

PORTER, R. J.; MELDRUM, B. S. Fármacos anticonvulsivantes. In: KATSUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia**, 12 ed, p. 403 – 427. Porto Alegre: AMGH, 2014.

PRAGST, F. Application of solid-phase microextraction in analytical toxicology. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 7, p. 1393 – 1414, 2007.

PRAGST. F.; HERZLER, M.; ERXLEBEN, B. T. Systematic toxicological analysis by high-performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD). **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 42, n. 11, p. 1325 – 1340, 2004.

PROSSER, J. M.; HOFFMAN, R. S. Cocaine. In NELSON, L. S.; LEWIN, N. A.; HOWLAND, M. A.; HOFFMAN, R. S.; GOLDFRANK, L. R.; FLOMENBAUM, N. E. **Goldfrank's Toxicologic Emergencies**, ed. 9, p. 1091 – 1102, New York: The McGraw-Hill Companies, 2011.

RACAMONDE, I.; RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; VILLAVERDE-DE-SÁA, E.; CELA, R. Determination of benzodiazepines, related pharmaceuticals and metabolites in water by solid-phase extraction and liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 25, n. 1352, p. 69 – 79, 2014.

RANG, H. P.; DALE, M.M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Pharmacology**. ed. 6, p. 535 – 544, London: Churchill Livingstone, 2007.

REHM, J.; KANTERES, F.; LACHENMEIER, D. W. Unrecorded consumption, quality of alcohol and healthconsequences. **Drug and Alcohol Review**, n. 29, p. 426 – 36, 2010.

REIS, M. M. **Desenvolvimento e aplicações de metodos quimiometricos de ordem superior,** Tese de Doutorado, IQ-UNICAMP, 2002.

REYNOLDS, L. M.; ENGIN, E.; TANTILLO, G.; LAU, H. M.; MUSCHAMP, J.W.; CARLEZON JR, W. A.; RUDOLPH, U. Differential Roles of GABAA Receptor Subtypes in Benzodiazepine-Induced Enhancement of Brain-Stimulation Reward. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, p. 2531 – 2540, 2012.

RICHMOND, R. L.; KEHOE, L. A.; WEBSTER, I. W. Multivariate models for predicting abstention following intervention to stop smoking by general practitioners. **Addiction**, v. 88, n. 8, p. 1127 – 1135, 1993.

RINGNÉR, M. What is principal component analysis? **Nature Biotechnology**, v. 26, p. 303 – 304, 2008.

SAARI, T. I.; UUSI-OUKARI, M.; AHONEN, J.; OLKKOLA, K. T. Enhancement of GABAergic Activity: Neuropharmacological Effects of Benzodiazepines and Therapeutic Use in Anesthesiology. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 1, p. 243 – 267, 2011.

SABIM, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,** v. 40, n. 3, 2004.

SANCHES, L. R.; SEULIN, S. C.; LEYTON, V.; PARANHOS, B. A.; PASQUALUCCI, C. A.; MUÑOZ, D. R.; OSSELTON, M.D.; YONAMINE, M. Determination of opiates in whole blood and vitreous humor: a study of the matrix effect and an experimental design to optimize conditions for the enzymatic hydrolysis of glucuronides. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 36, n. 3, p. 162 – 170, 2012.

SCHEIDWEILER, K. B.; DESROSIERS, N. A.; HUESTIS, M. A. Simultaneous quantification of free and glucuronidated cannabinoids in human urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Clinica Chimica Acta**, v. 413, p. 1839 – 1847, 2012.

SCHEIDWEILER, K. B.; PLESSINGER, M.A.; SHOJAIE, J.; WOOD, R.W.; KWONG, T.C. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Methylecgonidine, a Crack Cocaine Pyrolyzate. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 307, p. 1179 – 1187, 2003.

SCHULZ, M.; IWERSEN-BERGMANN, S.; ANDRESEN, H.; SCHMOLDT, A. Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. **Critical Care**, v. 16, n. 4, 2012.

SEMPIO, S.; MORINI, L.; VIGBALI, C.; GROPPI, A. Simple and sensitive screening and quantitative determination of 88 psychoactive drugs and their metabolites in blood through LC–MS/MS: Application on postmortem samples. **Journal of Chromatography B**, v. 970, p. 1 – 7, 2014

SHIELD, K. D.; PARRY, C.; REHM, J. Chronic diseases and conditions related to alcohol use. **Alcohol Research Current Reviews**, v. 35, p. 155 – 171, 2013.

SHIN, M.; JI, D.; KANG, S.; YANG, W.; CHOI, H.; LEE, S. Screening of multiple drugs of abuse and metabolites in urine using LC/MS/MS with polarity switching electrospray ionization. **Archives of Pharmacal Research**, v. 37, p. 760 – 772, 2014.

SHOKRY, E.; VILLANELLI, F.; MALGAVIA, S.; ROSATI, A.; FORNI, G.; FUNGHINI, S.; OMBRONE, D.; BONA, M. D.; GUERRINI, R.; LA MARCA, G. Therapeutic drug monitoring of carbamazepine and its metabolite inchildren from dried blood spots using liquid chromatography andtandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 109, p. 164 – 170, 2015.

SILBER, B. Y.; CROFT, R. J.; PAPAFOTIOU, K.; STOUGH, C. The acute effects of d-amphetamine and methamphetamine on attention and psychomotor performance. **Psychopharmacology**, v.187, p. 154 – 169, 2006.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO. **SINAN.** Disponível em: < http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29892176&VObj=http%3A%2F%2Ftabnet.datasus.gov.br%2Fcgi%2Fdeftohtm.exe%3Fsinannet%2Fcnv%2FIntox>, acesso em 15 de março de 2018.

STAEHELI, S. N.; POETZSCH, M.; KRAEMER, T.; STEUER, A. E. Development and validation of a dynamic range-extended LC-MS/MS multi-analyte method for 11 different postmortem matrices for redistribution studies applying solvent calibration and additional (13)C isotope monitoring. **Analytical and Bioanalytical Chemistry,** v. 407, n. 29, p. 8681 – 8712, 2015.

STEUER, A. E.; FORSS, A. M.; DALLY, A. M.; KRAEMER, T. Method development and validation for simultaneous quantification of 15 drugs of abuse and prescription drugs and 7 of their metabolites in whole blood relevant in the context of driving under the influence of drugs-usefulness of multi-analyte calibration. **Forensic Science International,** n. 244, p. 92 – 101, 2014.

SZTAJNKRYCE, M. D. Valproic Acid Toxicity: Overview and Management. **Journal of Toxicology Clinical Toxicology**, v. 40, n. 6, p. 789 – 801, 2002.

TAYLOR, B.; IRVING, H. M.; KANTERES, F.; ROOM, R.; BORGES, G.; CHERPITEL, C.; et al. The more you drink, the harder you fall: A systematic review and meta-analysis of how acute alcohol consumption and injury or collision risk increase together. **Drug and Alcohol Dependence,** v. 110, p. 108 – 16, 2010.

TENNAKOON, S. D. A.; KARUNARATHNA, W. D.; UDUGAMPALA, U.S. Carbofuran concentrations in blood, bile and tissues in fatal cases of homicide and suicide. **Forensic Science International**, v. 227, p. 106 – 110, 2013.

TENNAKOON, S.; PERERA, B.; HATURUSINGHE, L. Intentional poisoning cases of animals with anticholinesterase pesticide-carbofuran. **Sri Lanka Legal Medicine,** v. 11, p. S500 – S502, 2009.

THÖRNGREN, J. O.; OSTERVALL, F.; GARLE, M. A high-throughput multicomponent screening method for diuretics, masking agents, central nervous system (CNS) stimulants and opiates in human urine by UPLC-MS/MS. Journal of **Mass Spectrometry**, v. 43, n. 7, p. 980 – 992, 2008.

TISCIONE, N. B.; ALFORD, I.; YEATMAN, D. T.; SHAN, X. Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 35, n. 7, p. 501 – 511, 2011.

TRACQUI, A.; FLESCH, F.; SAUDER, P.; RAUL, J. S.; GÉRAUT, A.; LUDES, B.; JAEGER, A. Repeated measurements of aldicarb in blood and urine in a case of nonfatal poisoning. **Human & Experimental Toxicoly**, v. 20, p. 657 – 660, 2001.

TRESVENZOL, L. M. PAULA, J. R.; FERRI, P. H.; OLIVEIRA, F. N. M. Composition and Chemical Variability in the Essential Oil from Leaves of Memora nodosa (Silva Manso) Miers. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 3, p. 237 – 240, 2010.

UGES, D. R. A. Hospital Toxicology. In: MOFFAT A. C., OSSELTON M. D., WIDDOP B., WATTS J. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons**, v. 1, ed. 4, p. 3 – 58, London: Pharmaceutical Press, 2011.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. UNODC. **Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens**. United Nations: New York. 2009.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. UNODC. **World Drug Report**. United Nations publication, Vienna, 2017.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP**: parte I (ABNT) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, 2016.

VALE, A. Cocaine. **Medicine**, v. 35, p. 607, 2007.

VERSTRAET, A.; PEAT, M. Workplace Drug Testing. In: MOFFAT A. C., OSSELTON M. D., WIDDOP B., WATTS J. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons**, v. 1, ed. 4, p. 73 – 86, London: Pharmaceutical Press, 2011.

VIETTE, V.; HOCHSTRASSER, D.; FATHI, M. LC-MS (/MS) in Clinical Toxicology Screening Methods. **Chimia**, v. 66, p. 339 – 342, 2012.

VINCENTI, M.; CAVANNA, D.; GERACE, E.; PIRRO, V.; PETRARULO, M.; DI CORCIA, D.; SALOMONE, A. Fast screening of 88 pharmaceutical drugs and metabolites in whole blood by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem

mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 863 – 879, 2013.

VOSOUGH, M.; GHAFGHAZI, S.; SABETKASAEI, M. Chemometrics enhanced HPLC–DAD performance for rapid quantification of carbamazepine and phenobarbital in human serum samples. **Talanta**, v. 119, p. 17 – 23, 2014.

WARD JR, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of American statistical association**, v. 3, n. 9, p. 236 – 244, 1963.

WASSEM, M.; PERRY, C.; BOMANN, S.; PAI, M.; GERNSHEIMER, J. Cholinergic Crisis after Rodenticide Poisoning. **Western Journal of Emergency Medicine**, v.11, n. 5, p. 524 – 527, 2010.

WERNER, M. **Identification of multivariate outliers in large data sets**. 2003. 241p. Thesis (philosophy Applied Mathematics). University of Colorado at Denver in partial fulfillment, Colorado, 2003.

WHISKEY, E.; TAYLOR, D. A review of the adverse effects and safety of noradrenergic antidepressants. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, v. 8, p. 732 – 739, 2013.

WHITE, S. M.; LAMBE, C. J. T. The pathophysiology of cocaine abuse. **Journal of Clinical Forensic Medicine**, v. 10, p. 27 – 39, 2003.

WINEK, C. L.; WAHBA, W. W. ; WINEK JR, C. L.; BALZER, T. W. Drug and chemical blood-level data 2001. **Forensic Science International**, v. 122, p. 107 – 123, 2001.
WOLD, S. Principal component analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 2, p. 37 – 52, 1987.

WOOD, M.; LALOUP, M.; SAMYNC, N.; FERNANDEZ, M. M .R.; BRUIJN, E. A.; MAES, R. A. A.; BOECK, G. Recent applications of liquid chromatography–mass spectrometry in forensic science. **Journal of Chromatography A**, n. 1130, p. 3 – 15, 2006.

YOON, Y. H.; CHEN, C. M.; YI, H. Y. Unitentional alcohol and drug posoing in associatiom with substance use disorders and mood and anxiety disorders: results from the 2010 Nationwide Inpatient Sample. **Injury prevention**, v. 20, n. 1, p. 21 – 28, 2014.

YONAMINE, M.; SILVA, O. A. Confirmation of cocaine exposure by gas chromatography-mass spectrometry of urine extracts after methylation of benzoylecgonine**. Journal of Chromatography**, v. 773, p. 83 – 87, 2002.

ZHANG, Y.; KWONG, T. C. Utilization management in toxicology. **Clinica Chimica Acta**, v. 427, p. 158 – 166, 2014.

ZIMMERMAN, J. L. Cocaine Intoxication. **Critical Care Clinics**, v. 28, p. 517 – 526, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela de contingência da frequência de dados

Rows	Agente tóxico						
Columns	Avaliação						
Counts	Intoxicação grave	Intoxicação leve	Intoxicação moderada	Intoxicação não excluída	Não Tóxico	Provavelmente não tóxico	OVERALL
Rows %							
Columns %							
Agrotóxicos (Uso Agr	0	2	1	1	0	0	4
	0,00	50,00	25,00	25,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	2	2	0	0	1
Agrotóxicos (Uso A_1	0	2	0	0	0	0	2
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	1
Alimentos	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Drogas de abuso	4	135	30	16	8	3	196
	2,04	68,88	15,31	8,16	4,08	1,53	100,00
	36	71	55	33	80	50	61
Drogas de abuso_Alim	0	0	0	1	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	2	0	0	0
Ignorada	0	3	3	8	2	0	16
	0,00	18,75	18,75	50,00	12,50	0,00	100,00
	0	2	5	16	20	0	5
Medicamentos	4	26	14	19	0	3	66
	6,06	39,39	21,21	28,79	0,00	4,55	100,00
	36	14	25	39	0	50	21
Medicamentos_Drogas	1	11	3	1	0	0	16
	6,25	68,75	18,75	6,25	0,00	0,00	100,00
	9	6	5	2	0	0	5
Medicamentos_Produto	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Medicamentos_Raticid	1	1	1	0	0	0	3
	33,33	33,33	33,33	0,00	0,00	0,00	100,00
	9	1	2	0	0	0	1
Outra	0	2	0	2	0	0	4
	0,00	50,00	0,00	50,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	4	0	0	1
Plantas	0	0	1	0	0	0	1
	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	2	0	0	0	0
Prod. Quím. Indust.	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Raticidas	1	2	2	1	0	0	6
	16,67	33,33	33,33	16,67	0,00	0,00	100,00
	9	1	4	2	0	0	2
Raticidas_Drogas de	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Saneantes Domésticos	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
OVERALL	11	189	55	49	10	6	320
	3,44	59,06	17,19	15,31	3,13	1,88	100,00
	100	100	100	100	100	100	100

Rows	Agente tóxico															
Columns	Circunstância															
Counts	Abuso	Abuso_Tent de suic	Abuso_Violência/Homi	Acidente coletivo	Acidente Individual	Acidente Individual	Acidente Individual	Auto medicação	Erro administração	Erro administração_A	Ignorada	Outra	Tentativa de suicidi	Uso terapêutico	Violência/Homicídio	OVERALL
Rows %																
Columns %																
Agrotóxicos (Uso Agr	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	1
Agrotóxicos (Uso A_1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1
Alimentos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Drogas de abuso	187	1	1	0	1	1	0	0	1	0	2	0	0	0	2	196
	95,41	0,51	0,51	0,00	0,51	0,51	0,00	0,00	0,51	0,00	1,02	0,00	0,00	0,00	1,02	100,00
	94	25	100	0	13	100	0	0	50	0	10	0	0	0	100	61
Drogas de abuso_Alim	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Ignorada	3	0	0	0	2	0	0	0	0	0	9	1	1	0	0	16
	18,75	0,00	0,00	0,00	12,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	56,25	6,25	6,25	0,00	0,00	100,00
	2	0	0	0	25	0	0	0	0	0	45	50	1	0	0	5
Medicamentos	4	0	0	1	2	0	1	1	1	0	6	1	48	1	0	66
	6,06	0,00	0,00	1,52	3,03	0,00	1,52	1,52	1,52	0,00	9,09	1,52	72,73	1,52	0,00	100,00
	2	0	0	100	25	0	100	100	50	0	30	50	64	100	0	21
Medicamentos_Drogas	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	8	0	0	16
	25,00	12,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,50	0,00	50,00	0,00	0,00	100,00
	2	50	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	11	0	0	5
Medicamentos_Produto	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
Medicamentos_Raticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	1
Outra	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	50,00	0,00	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	1	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Plantas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Prod. Quím. Indust.	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raticidas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	6
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	2
Raticidas_Drogas de	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Saneantes Domésticos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
OVERALL	200	4	1	1	8	1	1	1	2	1	20	2	75	1	2	320
	62,50	1,25	0,31	0,31	2,50	0,31	0,31	0,31	0,63	0,31	6,25	0,63	23,44	0,31	0,63	100,00
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Rows	Circunstância						
Columns	Avaliação						
Counts	Intoxicação grave	Intoxicação leve	Intoxicação moderada	Intoxicação não excl	Não Tóxico	Provavelmente não tó	OVERALL
Rows %							
Columns %							
Abuso	4	136	31	18	8	3	200
	2,00	68,00	15,50	9,00	4,00	1,50	100,00
	36	72	56	37	80	50	63
Abuso_Tentativa de s	0	3	1	0	0	0	4
	0,00	75,00	25,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	2	2	0	0	0	1
Abuso_Violência/Homi	0	0	0	1	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	2	0	0	0
Acidente coletivo	0	0	1	0	0	0	1
	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	2	0	0	0	0
Acidente Individual	0	4	0	4	0	0	8
	0,00	50,00	0,00	50,00	0,00	0,00	100,00
	0	2	0	8	0	0	3
Acidente Individual	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Acidente Individua_l	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Auto medicação	0	0	1	0	0	0	1
	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	2	0	0	0	0
Erro administração	0	1	0	0	0	1	2
	0,00	50,00	0,00	0,00	0,00	50,00	100,00
	0	1	0	0	0	17	1
Erro administração A	0	1	0	0	0	0	1
	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
	0	1	0	0	0	0	0
Ignorada	1	5	7	5	1	1	20
	5,00	25,00	35,00	25,00	5,00	5,00	100,00
	9	3	13	10	10	17	6
Outra	0	0	1	0	1	0	2
	0,00	0,00	50,00	0,00	50,00	0,00	100,00
	0	0	2	0	10	0	1
Tentativa de suicídi	6	37	13	18	0	1	75
	8,00	49,33	17,33	24,00	0,00	1,33	100,00
	55	20	24	37	0	17	23
Uso terapêutico	0	0	0	1	0	0	1
	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	2	0	0	0
Violência/Homicídio	0	0	0	2	0	0	2
	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
	0	0	0	4	0	0	1
OVERALL	11	189	55	49	10	6	320
	3,44	59,06	17,19	15,31	3,13	1,88	100,00
	100	100	100	100	100	100	100

ANEXOS

ANEXO I

Paracer nº 018 aprovado pela Comissão de Ética do Hospital Municipal Dr Arthur Ribeiro de Saboya

PREFEITURA DE SÃO PAULO
SAÚDE

Prefeitura do Município de São Paulo
Secretaria Municipal da Saúde
Autarquia Hospitalar Municipal
Hospital Municipal Dr Arthur Ribeiro de Saboya

SABOYA

São Paulo, 18 de setembro de 2.014.

Oficio nº 018/CEM/HMARS-2014
Ref. Oficio nº 10/COVISA/CCI -2014

Prezada Doutora,

A Comissão de Ética do Hospital entende que a pesquisa intitulada "Aplicação de técnicas estatísticas multivariadas para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo" proposta pelo pesquisador Farmacêutico Bioquímico Dr. Maurício Yonamine, do Departamento de Análise Clínicas Toxicológicas da USP e Farmacêutica Bioquímica Sarah Carobini Werner de Souza Eller, e como pesquisadora corresponsável Dra. Ligia Veras Gimenez Fruchtengarten e a colaboração de Profissionais desse nosocômio. As técnicas de análises multivariadas são ferramentas úteis para identificar e caracterizar grupos de risco, fornecendo embasamento científico através da criação de um banco de dados, para orientar as intervenções emergenciais e favorecer ações preventivas. Cabe salientar a alta prevalência das intoxicações por drogas de abuso na nossa região.

A pesquisa é de risco baixo, pois a coleta de sangue e urina não implica em risco ao sujeito da pesquisa.

Sendo assim essa Comissão considera relevante o desenvolvimento da pesquisa e de seu aceite.

Aproveito a oportunidade para renovar protestos de elevada e distinta consideração.

Dra. Maria de Lourdes J. Fernandes
Médica
CRM-46.900

Dra. Maria de Lourdes de Jesus Fernandes
Presidente
Comissão de Ética - HMARS

Ilústrissima Senhora
Dra Ligia Veras Gimenez Fruchtengarten
Coordenadora Clínica
Centro de Controle de Intoxicações
Hospital Municipal Dr. Arthur Ribeiro de Saboya

MLJF/acpls

ANEXO II

Paracer nº 902.088 aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo dos casos de intoxicações em um Hospital da cidade de São Paulo
Pesquisador: Mauricio Yonamine
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 37890414.7.0000.0067
Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 902.088
Data da Relatoria: 23/11/2014

Apresentação do Projeto:
Trata-se de pesquisa para doutoramento da aluna Sarah Carobini Werner de Souza Eller. Pesquisa bem elaborada, com metodologia adequada e consistente. Propõe-se a estudar e mostrar a importância de análises multivariadas como uma ferramenta epidemiológica para auxiliar na prevenção de casos de intoxicação atendidos em ambiente hospitalar, bem como orientar intervenções de emergência. Para sua realização, os pesquisadores avaliarão dados epidemiológicos e de saúde de 1.000 pacientes atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo e correlacionarão estes dados com o tipo de droga; a análise será feita no sangue e na urina dos colaboradores da pesquisa.

Objetivo da Pesquisa:
O objetivo da pesquisa é a aplicação de técnicas estatísticas multivariadas para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas passíveis de análise toxicológica, atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Os colaboradores da pesquisa não terão benefício direto com a mesma. Mas uma vez que se vislumbra uma melhoria do atendimento e prevenção dos pacientes intoxicados, os participantes poderão ter um benefício indireto. Para os profissionais de saúde, essa pesquisa trará benefícios de orientação de atendimento além de orientar o desenvolvimento de medidas preventivas de

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112
Bairro: Butantã **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-3622 **Fax:** (11)3031-8986 **E-mail:** cepfcf@usp.br

novos eventos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa bem elaborada, com objetivos e metodologia clara

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE e termo de assentimento bem elaborados e obedecem a Resolução 466/12 do CNS.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem inadequações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEP entende que o projeto de pesquisado pode ser aprovado.

SAO PAULO, 08 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Valentina Porta
(Coordenador)

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112
Bairro: Butantã **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-3622 **Fax:** (11)3031-8986 **E-mail:** cepfcf@usp.br

ANEXO III

Ficha de Atendimento Hospitalar

PMSP - SMS
Vigilância em Saúde

Ficha de Atendimento Hospitalar (HMARS)

Centro de Controle de Intoxicações
Município de São Paulo

Centro de Controle de Intoxicações

Número: _____ Data: _____/_____/_____ Hora: _____

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: DATA DE NASCIMENTO: _____/_____/_____ (dd/mm/aaaa) **FO:** _____

Nome: _____ (sem abreviar)

IDADE: (D.M.A) SEXO [1] MASC [2] FEM. GESTANTE [0] NÃO GESTANTE [1] 1.TRIM. [2] 2. TRIM.

PESO (kg): _____ ESTATURA (cm): _____ [3] 3. TRIM [4] IGNORADO [5] TRIM. IGNORADO

PROFISSÃO: _____ EMPREGADO ☐ SIM ☐ NÃO ESCOLARIDADE: _____

ENDEREÇO: _____ FONE: _____

BAIRRO: _____ MUNICÍPIO: _____ ESTADO: _____

ATENDIMENTO HOSPITALAR	TIPO DE OCORRÊNCIA	CIRCUNSTÂNCIA	
[1] PS	[1] INTOXICAÇÃO	[1] ACIDENTE INDIVIDUAL	[09] ABSTINÊNCIA
[2] ENFERMARIA _____ LEITO: ____	[2] EXPOSIÇÃO	[2] ACIDENTE COLETIVO	[10] ABUSO
[3] AMBULATÓRIO	[3] REAÇÃO ADVERSA	[3] ACIDENTE AMBIENTAL	[11] INGESTÃO DE ALIMENTO
[4] UTI	[4] DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	[4] OCUPACIONAL	[12] TENTATIVA DE SUICÍDIO
[5] EMERGÊNCIA	[8] OUTRO _____	[5] USO TERAPÊUTICO	[13] TENT. DE ABORTAMENTO
[8] OUTRO _____	[9] IGNORADO	[6] PRESC. MÉD. INADEQ.	[14] VIOLÊNCIA/HOMICÍDIO
		[7] ERRO ADMINISTRAÇÃO	[15] USO INDEVIDO
		[8] AUTO MEDICAÇÃO	[99] IGNORADA
			[88] OUTRA: _____

ZONA		EXPOSIÇÃO		TIPO
[1] URBANA	[2] RURAL	[1] ORAL	[07] RETAL	[1] AGUDA ÚNICA
LOCAL		[2] CUTÂNEA	[08] VAGINAL	[2] AGUDA REPETIDA
[1] RESIDÊNCIA	[6] ESCOLA/CRECHE	[3] RESPIRATÓRIA	[09]	[3] CRÔNICA
[2] AMB. TRABALHO	[7] AMB. EXTERNO	MORDEDURA/PICADA		[4] AGUDA SOBRE CRÔNICA
[3] VIA/ÁREA PÚBLICA	[8] OUTRO:	[4] PARENTERAL	[99] IGNORADA	[9] IGNORADA
[4] SERV. SAÚDE	_____	[5] NASAL	[88] OUTRA	TEMPO DECORRIDO DA EXPOSIÇÃO: _____
[5] TRAJETO TRABALHO	[9] IGNORADO	[6] OCULAR	_____	DURAÇÃO DA EXPOSIÇÃO: _____
ENDEREÇO: _____				

DADOS DE HISTÓRIA: _____

AGENTE TÓXICO

NOME (COMERCIAL)	DOSE/QUANTIDADE	PRINCÍPIOS ATIVOS	
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO
			[ ] CLANDESTINO

[1] MEDICAMENTOS	[5] RATICIDAS	[9] METAIS	[13] ANIMAIS PEÇ. - SERPENTES	[17] ANIMAIS NÃO PEÇONHENTOS
[2] AGROTÓXICOS (USO AGRÍC.)	[6] SANEANTES DOMÉSTICOS	[10] DROGAS ABUSO	[14] ANIMAIS PEÇ. - ARANHAS	[99] DESCONHECIDO
[3] AGROTÓXICOS (USO DOMÉST.)	[7] COSMÉTICOS	[11] PLANTAS	[15] ANIMAIS PEÇ. - ESCORPIÕES	[88] OUTROS: _____
[4] PRODUTOS VETERINÁRIOS	[8] PROD. QUÍMICOS INDUSTRIAIS	[12] ALIMENTOS	[16] OUTROS ANIMAIS PEÇONHENTOS/VENENOSOS	

EVOLUÇÃO:

MANIFESTAÇÃO CLÍNICA: [1] SIM [2] NÃO **INTERNAÇÃO:** [1] SIM [2] NÃO [9] IGNORADO

ANÁLISE TOXICOLÓGICA: [1] SIM [2] NÃO SUBSTÂNCIAS: _____

EVOLUÇÃO: [1] CURA [2] CURA NÃO CONFIRMADA [3] SEQUELA [4] ÓBITO [5] ÓBITO OUTRA CAUSA [8] OUTRA _____ [9] IGNORADO

HIPÓTESE DIAGNÓSTICA: _____ **DIAGNÓSTICO DE ALTA:** _____ CID: _____

DATA DE ALTA PELO CCI: _____/_____/_____ **AVALIAÇÃO FINAL:** [ ] (VER CÓDIGO NO VERSO)

RESPONSÁVEL PELA ALTA: _____

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

INÍCIO DOS SINTOMAS: _____/_____/_____ ÀS _____:_____h.

FC: _____ PA: _____ FR: _____ T: _____ DEXTRO: _____

GERAL ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] ANASARCA
[ ] ANOREXIA
[ ] ASTENIA /FRAQUEZA
[ ] CEFALÉIA
[ ] CHOQUE
[ ] CIANOSE
[ ] DESIDRATAÇÃO
[ ] DISTÚRBIO METABÓLICO
[ ] DISTÚRBIO ÁCIDO BASE
[ ] DISTROFIA
[ ] DOR
[ ] EDEMA
[ ] FEBRE
[ ] HIPETERMIA
[ ] HIPOTERMIA
[ ] ICTERÍCIA
[ ] INCONTINÊNCIA URINÁRIA
[ ] INCONTINÊNCIA FECAL
[ ] LACRIMEJAMENTO
[ ] LIPOTIMIA
[ ] MAL ESTAR
[ ] MIALGIA
[ ] PALIDEZ
[ ] PRURIDO
[ ] RUBOR FACIAL
[ ] SANGRAMENTO
[ ] SEPTICEMIA
[ ] SIALORRÉIA
[ ] SIALOSQUESE
[ ] SÍNCOPE
[ ] SUDORESE
[ ] TONTURA
[ ] OUTRAS: _____

NEUROLÓGICAS / PSÍQUICAS ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] ABALOS MUSCULARES
[ ] AGITAÇÃO
[ ] AGRESSIVIDADE
[ ] ALUCINAÇÃO
[ ] ANISOCORIA
[ ] ARREFLEXIA
[ ] ATAXIA
[ ] CÁIBRAS
[ ] COMA
[ ] CONFUSÃO MENTAL
[ ] CONVULSÕES
[ ] DIPLOPIA
[ ] DISFONIA
[ ] DISTONIA
[ ] DISTÚRBIO DE COMPORTAMENTO
[ ] DISTÚRBIO DA FALA
[ ] FASCILAÇÕES
[ ] HIPERATIVIDADE
[ ] HIPERREFLEXIA
[ ] HIPERTONIA
[ ] HIPOATIVIDADE
[ ] HIPOREFLEXIA
[ ] HIPOTONIA
[ ] IRRITABILIDADE
[ ] LETARGIA
[ ] MIDRÍASE
[ ] MIOSE
[ ] NISTÁGMO
[ ] OPSTÓTONO
[ ] PARALISIA
[ ] PARESTESIA
[ ] PTOSE PALPEBRAL
[ ] REFL. FOTOMOTOR
[ ] SONOLÊNCIA
[ ] TORPOR
[ ] TREMORES
[ ] VERTIGEM
[ ] VISÃO TURVA
[ ] ZUMBIDO
[ ] OUTRAS _____

GASTRINTESTINAIS ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] CÓLICAS
[ ] DIARRÉIAS
[ ] DOR ABDOMINAL
[ ] ENTERORRAGIA
[ ] HEMATÊSE
[ ] INSUF. HEPÁTICA
[ ] MELENA
[ ] NÁUSEAS
[ ] OBSTIPAÇÃO
[ ] VÔMITOS
[ ] OUTRAS _____

RESPIRATÓRIAS ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] APNÉIA
[ ] BRAPNÉIA
[ ] DISPNÉIA
[ ] ESTERTORES
[ ] INS. RESPIRATÓRIA
[ ] OBSTRUÇÃO NASAL
[ ] RINORRÉIA
[ ] RONCOS
[ ] SIBILOS
[ ] TAQUIPNÉIA
[ ] TOSSE
[ ] OUTRAS _____

CARDIOVASCULARES ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] ARRITMIA
[ ] BRADICARDIA
[ ] DOR PRÉCORDIAL
[ ] HIPERTENSÃO
[ ] HIPOTENSÃO
[ ] INSUF. CARDÍACA
[ ] MÁ PERFUSÃO
[ ] TAQUICARDIA
[ ] PALPITAÇÕES
[ ] P. C. R.
[ ] OUTRAS _____

RENAIS ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] ANÚRIA
[ ] COLÚRIA
[ ] DISÚRIA
[ ] HEMATÚRIA
[ ] INSUF. RENAL
[ ] OLIGÚRIA
[ ] POLIÚRIA
[ ] SEDIM. URINÁRIO
[ ] OUTRAS _____

CUTÂNEO-MUCOSA ☐ SIM ☐ NÃO

[ ] ABSCESSO
[ ] BOLHAS
[ ] DISCROMIA
[ ] ECMOSE
[ ] EXANTEMA
[ ] HEMATOMA
[ ] HIPEREMIA
[ ] NECROSE
[ ] PETÉQUIAS
[ ] QUEIMADURA
[ ] LESÃO CUTÂNEA: _____
[ ] LESÃO MUCOSA: _____
[ ] LOCAL DA PICADA: _____
[ ] OUTRAS: _____

OUTRAS:

EXAMES LABORATORIAIS (admissão):

COLINESTERASES: PI: _____ Er: _____ T: _____ HT: _____

ALCOOLEMIA: _____ CCD: [ ] POS. [ ] Neg. [ ] Não realizado

HEMOGRAMA: _____

GOAGULOGRAMA (TC, AP, INR): _____

GASOMETRIA ARTERIAL: _____

ELETRÓLITOS: Na: _____ K: _____ Cl: _____ Ca: _____ Mg: _____ GLICEMIA: _____

BILIRRUBINAS: _____ TGO: _____ TGP: _____ GGT: _____ FA: _____

URÉIA: _____ CREATININA: _____ CK: _____ CKMB: _____ DHL: _____

AMILASE: _____ ALBUMINA: _____ URINA I: _____

RX TÓRAX: _____

ECG: _____

OUTROS: _____

AVALIAÇÃO DE ESPECIALISTAS: _____

TRATAMENTO

A	B	C	A - TRATAMENTO INICIAL	A	B	C	B - TRATAMENTO PROPOSTO	A	B	C	C - TRATAMENTO REALIZADO	A	B	C
(01)	(01)	(01)	NENHUM	(08)	(08)	(08)	DEMULCENTES	(15)	(15)	(15)	CATÁRTICOS	(22)	(22)	(22) ANTÍDOTO: _____
(02)	(02)	(02)	OBS. CLÍNICA	(09)	(09)	(09)	NEUTRALIZAÇÃO	(10)	(10)	(10)	DIURESE FORÇADA			
(03)	(03)	(03)	TRAT. SINTOMÁTICO	(10)	(10)	(10)	EMESE	(17)	(17)	(17)	HEMODIÁLISE	(23)	(23)	(23) SORO: _____
(04)	(04)	(04)	TRAT. SUPORTE	(11)	(11)	(11)	LAVAGEM GÁSTRICA	(18)	(18)	(18)	HEMOPERFUSÃO			
(05)	(05)	(05)	DESC. CUT/MUCOSA	(12)	(12)	(12)	IRRIGAÇÃO INTESTINAL	(19)	(19)	(19)	EXSANGUÍNEO PERF.	(88)	(88)	(88) OUTRO: _____
(06)	(06)	(06)	DESCONT. OCULAR	(13)	(13)	(13)	CARVÃO AT. DOSE ÚNICA	(20)	(20)	(20)	RETIRADA ENDOSC.			
(07)	(07)	(07)	DILUIÇÃO	(14)	(14)	(14)	CARVÃO AT DOSE MÚLTIPLA	(21)	(21)	(21)	INTERV. CIRÚRGICA	(99)	(99)	(99) IGNORADO

AVALIAÇÃO

[1] NÃO TÓXICO
[2] PROVAVELMENTE NÃO TÓXICO
[3] INTOXICAÇÃO NÃO EXCLUÍDA
[4] INTOXICAÇÃO LEVE
[5] INTOXICAÇÃO MODERADA
[6] INTOXICAÇÃO GRAVE

RESPONSÁVEL PREENCHIMENTO

_____
ASSINATURA

ANEXO IV

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

1. Informações do Participante da Pesquisa

Nome:		
Documento de Identidade (tipo):	Nº.:	Sexo: ( ) M ( ) F
Local de Nascimento:	Data de Nascimento: / /	
Endereço:	Nº.:	
Complementos:	Bairro:	
Cidade:	Estado:	
CEP:	Telefones:	

2. Informações do Responsável Legal

Nome:		
Documento de Identidade (tipo):	Nº.:	Sexo: ( ) M ( ) F
Local de Nascimento:	Data de Nascimento: / /	
Endereço:	Nº.:	
Complementos:	Bairro:	
Cidade:	Estado:	
CEP:	Telefones:	

3. Título do Projeto de Pesquisa

"Aplicação de técnicas estatísticas multivariadas para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo"

4. Duração da Pesquisa

Quatro anos

5. Nome do Pesquisador Responsável

Mauricio Yonamine	
Cargo/ Função: Professor Doutor	Nº de registro do Conselho Regional:

6. Instituição/Instituições

Universidade de São Paulo e Hospital Municipal Dr. Arthur Ribeiro de Saboya

Prezado (a) senhor (a)

Meu nome é Mauricio Yonamine, sou professor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP) e junto com a aluna de doutorado, Sarah Carobini Werner de Souza Eller e com a equipe do Hospital Municipal Dr. Arthur Ribeiro de Saboya, Dra. Ligia Fruchtengarten, Dra. Edna Maria Miello Hernandez, Dra. Carolina Dizioli Rodrigues de Oliveira, enfermeiro Alexandre Dias Zucoloto e farmacêutico Paulo Tenório de Cerqueira Neto convidamos você a participar do projeto de pesquisa intitulado "Aplicação de técnicas estatísticas multivariadas

para o mapeamento dos casos de intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo".

Nesta pesquisa serão incluídos pacientes de ambos os sexos, de qualquer idade, com suspeita de intoxicação, passíveis de análises toxicológicas, que forem atendidos pelo Centro de Controle de Intoxicações (CCI) de São Paulo alocado no Hospital Municipal Dr. Arthur Ribeiro de Saboya e que consentirem em participar voluntariamente do estudo. Aqueles que estiverem em estado inconsciente, porém acompanhados de um responsável legal, e o mesmo autorizar a coleta do material, também será incluído. De forma semelhante será aplicado a menores de idade. O objetivo desta pesquisa é identificar as substâncias mais comumente encontradas em casos de intoxicações e com isso favorecer ações preventivas e evitar estas intoxicações.

Se você aceitar participar da pesquisa, um membro da equipe irá perguntá-lo sobre dados pessoais e informações sobre o possível caso de intoxicação. Desse modo, estamos solicitando a sua permissão para utilizar as informações contidas na sua ficha de atendimento hospital e também para um profissional de saúde do Hospital coletar cerca de 3 mL sangue e 3 mL de urina. As amostras serão analisadas para tentar verificar qual a provável substância que causou a intoxicação.

As amostras serão acondicionadas em recipiente plástico adequado, devidamente identificadas por números, para que seja preservada a sua identidade, e encaminhado ao Laboratório de Análises Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, onde será mantido sob refrigeração, para posterior análise toxicológica. Após o término da pesquisa as amostras serão devidamente descartadas em recipiente apropriado para o descarte de material biológico. Os dados e os resultados obtidos durante a pesquisa serão confidenciais. Sua identidade será mantida em segredo quando os resultados deste estudo forem publicados em artigos de revistas científicas ou forem apresentados em temas de aulas e debates.

Você não receberá pagamento, portanto, a sua participação neste estudo é voluntária. Entretanto, caso haja despesas em virtude de sua participação na pesquisa, esses gastos serão

ressarcidos. Da mesma forma, haverá indenização no caso de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem que isto traga qualquer prejuízo à continuidade da assistência médica. É garantido a você, a qualquer tempo, receber informações sobre procedimentos da pesquisa para eliminar quaisquer dúvidas que possam surgir. Caso você desista de participar da pesquisa, poderá solicitar a retirada de seus dados deste projeto.

Em caso de dúvidas, entrar em contato com: Sarah Carobini W. S. Eller (fone 3091-2194) e e-mail: sarahcarobini@usp.br; com o Prof. Dr. Mauricio Yonamine (fone 3091-2194) e e-mail: yonamine@usp.br ou com Dra. Dra Ligia Fruchtengarten (fone 5012-2399) e email: lfruchtengarten@uol.com.br

Duas vias do termo de consentimento livre e esclarecido serão assinadas pelo pesquisador responsável e por você (participante da pesquisa), sendo que uma cópia ficará com você e a outra cópia ficará com o pesquisador responsável desta pesquisa.

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

São Paulo,_____de_____de 20___.

_____ _____

Assinatura do participante da pesquisa ou do responsável legal

Assinatura do pesquisador responsável

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900. Fone: 3091-3622, fone-fax: 3091-3677 – e-mail: cepfcf@usp.br

ANEXO V

Ficha do Aluno

NUSP: 7844748 Nome: Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

Ficha do Aluno

	Curso	Área	Nº Sequencial	Situação	Visualizar
	Mestrado	Toxicologia e Análises Toxicológicas (9141)	1	Titulado	
➔	Doutorado	Toxicologia e Análises Toxicológicas (9141)	2	Matrícula de Acompanhamento	

Preparar para imprimir

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9141 - 7844748/2 - Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

Email:	sarahcarobini@usp.br
Data de Nascimento:	17/02/1986
Cédula de Identidade:	RG - MG-13.301.629 - MG
Local de Nascimento:	Estado de Minas Gerais
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Farmacêutica - Universidade Estadual da Paraíba - Paraíba - Brasil - 2011
Mestrado:	Mestra em Ciências - Área: Toxicologia e Análises Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2014

Curso:	Doutorado
Programa:	Toxicologia e Análises Toxicológicas
Data de Matrícula:	28/04/2014
Início da Contagem de Prazo:	28/04/2014
Data Limite para o Depósito:	02/05/2018
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Maurício Yonamine - 28/04/2014 até o presente. Email: yonamine@usp.br
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 28/04/2014
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 17/06/2016
Data do Depósito do Trabalho:	
Título do Trabalho:	
Data Máxima para Aprovação da Banca:	
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 28/04/2014

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 05/02/2018

Impresso em: 19/02/2018 17:00:29

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9141 - 7844748/2 - Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5784-3/5	Tópicos Avançados em Toxicologia II	05/08/2014	17/11/2014	15	1	100	A	N	Concluída
FBC5818-1/2	Neurotoxicidade Provocada por Xenobióticos e sua Relação com Doenças Neurodegenerativas	29/09/2014	02/11/2014	45	3	100	A	N	Concluída
Atividade do Programa	Participou da Etapa de Estágio Supervisionado em Docência do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino junto à Disciplina FBC0416 Fisiopatologia II, ministrada aos alunos de graduação do curso de Farmácia e Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (1)	23/02/2015	04/07/2015	-	3	100	A	-	-
TNM5801-2/5	Princípios e Aplicações da Espectrometria de Massas (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo)	26/02/2015	20/05/2015	120	8	90	A	N	Concluída
MCM5880-3/3	Bioestatística I (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	17/03/2015	27/04/2015	90	6	90	A	N	Concluída
FBA5905-1/1	Planejamento Experimental e Análise Multivariada	13/02/2017	26/02/2017	60	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	10	20	21
Estágios:			
Total:	10	20	21

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Observações:

1) Créditos atribuídos de acordo com o disposto na Portaria GR-3588 e GR-4391 - PAE, de 31.08.09 e aprovados pela Comissão de Pós-Graduação, em Sessão de 09/03/2016.

Conceito a partir de 02/01/1997:
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 05/02/2018

Impresso em: 19/02/2018 17:00:29

ANEXO VI

Curriculum Vitae

Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira
Curriculum Vitae
http://lattes.cnpq.br/5065573051212675

Dados pessoais

Nome Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira
Filiação Henrique Werner Dutra e Maria Emilia Souza Dutra
Nascimento 17/02/1986 - Manhumirim/MG - Brasil

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Avenida Professor Lineu Prestes 580
Cidade Universitária - Butantã - São Paulo
05508000, SP - Brasil
Telefone: 11 30912194

Endereço eletrônico
E-mail para contato : sarahcarobini@usp.br

Formação acadêmica/titulação

2014 Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Aplicação da análise multivariada para o mapeamento das intoxicações agudas atendidos no Centro de Controle de Intoxicações da cidade de São Paulo
Orientador: Mauricio Yonamine
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

2012 - 2014 Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Estudo da incerteza de medição em análises toxicológicas de substâncias psicoativas em urina, Ano de obtenção: 2014
Orientador: Prof. Dr. Maurício Yonamine
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2006 - 2011 Graduação em Farmácia.
Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, Brasil

2010 - 2011 Graduação em Ciências Farmacêuticas.
Universidade de Coimbra, UC, Coimbra , Portugal
Bolsista do(a): Mobility Network Europe-Southamerica: an Institutional Approach

---

Formação complementar

2016 - 2016 Curso de curta duração em Toxicologia e suas Implicações Clínicas e Forenses. (Carga horária: 8h).
Sociedade Brasileira de Toxicologia, SBTOx, São Paulo, Brasil

2016 - 2016 Curso de curta duração em Sistema para detecção do uso abusivo e dependência de substânica psicoativa. (Carga horária: 150h).
Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, São Paulo, Brasil

2014 - 2014 Curso de curta duração em Análise multivariada de dados. (Carga horária: 12h).

Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil

2013 - 2013 Curso de curta duração em Method validation in forensic toxicology. (Carga horária: 3h).
XVIII Congresso Brasileiro de Toxicologia, CBTOX, Brasil

2012 - 2012 Curso de curta duração em Princípios Operacionais no software Statistica. (Carga horária: 6h).
StatSoft South América Comercio de Software Ltda, StatSoft , São Caetano Do Sul, Brasil

2012 - 2012 Curso de curta duração em Incerteza de Medição. (Carga horária: 16h).
Rede Metrológica do Estado de São Paulo, REMESP, Sao Paulo, Brasil

2012 - 2012 Curso de curta duração em Formação de Auditores Internos ISO 19011:2002.
Danilo Zanvettor Consultores Associados, HARDBISS ASSESSO, Brasil

2011 - 2011 Curso de curta duração em Toxicologia Forense Internacional. (Carga horária: 6h).
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil

2011 - 2011 Prática Profissionalizante em Toxicologia. (Carga horária: 400h).
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil

2009 - 2010 Extensão universitária em Plantas Med. e Sistemas Orgânicos: Lab. Itinerante.
Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, Brasil

2007 - 2010 Extensão universitária em Ações Educativas em Saúde: Doenças Crônicas..
Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, Brasil

2010 - 2010 Curso de curta duração em XIX Curso de Verão Prof. Wilson Teixeira Beraldo. (Carga horária: 80h).
Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, Brasil

2010 - 2010 Estágio no Laboratório de Controle de Qualidade. (Carga horária: 360h).
Farmácia com Manipulação Magistral Pharma Face®, PF, Brasil

2009 - 2009 Curso de curta duração em Farmácia Clínica e Reações Adversas a Medicamentos. (Carga horária: 16h).
Conselho Regional de Farmacia, CRF, Brasil

2007 - 2007 Extensão universitária em I Curso de Extensão em Plantas Medicinais. (Carga horária: 40h).
Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, Brasil

---

Atuação profissional

1. Sociedade Brasileira de Toxicologia - SBTOx

Vínculo institucional

2016 - 2017 Vínculo: Membro da Diretoria, Enquadramento funcional: Conselho Consultivo, Regime: Parcial
Outras informações:
Membro eleito em 2015 com mandato até 2017.

2. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2015 - 2016 Vínculo: Representante Discente , Enquadramento funcional: Membro Titular, Regime: Parcial
Outras informações:
Representante Discente junto à Comissão Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

2015 - 2015 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Programa de Aperfeiçoamento de Ensino-PAE , Carga horária: 6, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitor da disciplina de Toxicologia Social junto ao curso de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas

2014 - 2018 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Estudante de Doutorado , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva
Outras informações:
Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

2013 - 2013 Vínculo: Monitor, Enquadramento funcional: Programa de Aperfeiçoamento de Ensino-PAE , Carga horária: 6, Regime: Parcial
Outras informações:
Disciplina de Toxicologia Ambiental junto ao curso de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas

2013 - 2013 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Programa de Aperfeiçoamento de Ensino-PAE , Carga horária: 6, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitor da disciplina de Informação Científica junto ao curso de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas

2012 - 2014 Vínculo: Estudante de Mestrado, Enquadramento funcional: Estudante de Mestrado, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva
Outras informações:
Bolsista do CNPq

2012 - 2012 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Programa de Aperfeiçoamento de Ensino-PAE , Carga horária: 6, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitor da disciplina de Toxicologia Forense junto ao curso de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas

3. Universidade de Coimbra - UC

Vínculo institucional

2010 - 2011 Vínculo: Intercâmbio Acadêmico , Enquadramento funcional: Estudante de Ciências Farmacêuticas, Regime: Dedicação exclusiva

---

Atividades

05/2011 - 06/2011 Estágio, DANCAKE Indústria do Setor Alimentar
Estágio:
Controle de Qualidade de Alimentos

02/2011 - 07/2011 Estágio, Laboratório de Bromatologia, Hidrologia e Nutrição da Faculdade de Farmácia

Estágio:
Grupo de investigação "Health Surveillance" do Centro de Estudos Farmacêuticos. Trabalho de investigação científica: "Determinação de resíduos de antibióticos do grupo das fluorquinolonas em tecido muscular suíno".

4. Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Vínculo institucional

2006 - 2011 Vínculo: Estudante de Farmácia, Enquadramento funcional: Estudante de Farmácia, Regime: Dedicação exclusiva

Idiomas

Inglês Compreende bem , Lê bem

Prêmios e títulos

2015 Fellowship Travel Award Winner, The International Union of Toxicology and the Brazilian Society of Toxicology

Producão

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. **OLIVEIRA, S. C. W. S. E. F.**; ZUCOLOTO, A. D.; OLIVEIRA, C. D. R.; HERNANDEZ, E. M. M.; FRUCHTENGARTEN, L. V. G.; YONAMINE, M.
Determinação de Etanol e Metanol em Sangue por Hs/Gc-Fid nos Casos Atendidos Pelo Centro de Controle de Intoxicações de São Paulo. Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics, v.6, p.61 - 71, 2016.

2. **ELLER, S. C. W. S.**; TAKAI, L.Y.; OLIVEIRA, T. F.; YONAMINE, M.
Estimativa da Incerteza de Medição em Análises de Benzoilecgonina em Urina por GC-MS. Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics, v.5, p.215 - 231, 2016.

3. **S.C.W.S.E. Franco de Oliveira**; YONAMINE, M.
Measurement uncertainty for the determination of amphetamines in urine by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. Forensic Science International, v.265, p.81 - 88, 2016.

4. **ELLER, S. C. W. S**.; FEITOSA, V. A.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P.; CATAO, R. M. R.
Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica in vitro. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v.36, p.131 - 136, 2015.

5. **DE SOUZA ELLER, SARAH CAROBINI WERNER**; FLAIBAN, LUMA GONÇALVES; PARANHOS, BEATRIZ APARECIDA PASSOS BISMARA; DA COSTA, JOSÉ LUIZ; LOURENÇO, FELIPE

REBELLO; YONAMINE, MAURICIO
Analysis of 11-nor-9-carboxy--9-tetrahydrocannabinol in urine samples by hollow fiber-liquid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry in consideration of measurement uncertainty. Forensic Toxicology, v.32, p.282 - 291, 2014.

6. FARIAS, N. S.; CAVALCANTI, M. T.; **ELLER, S. C. W. S.**; FEITOSA, V. A.; FLORENTINO, E. R.
Elaboração de biscoitos tipo cookie enriquecido com macambira (Bromélia laciniosa). Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v.6, p.50 - , 2011.

7. CAVALCANTI, M. T.; FLORENCIO, I. M.; **ELLER, S. C. W. S.;** FEITOSA, V. A.
Obtenção da farinha do fruto do juazeiro (Ziziphus joazeiro Mart.) e caracterização físico-química. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v.6, p.220 - 224, 2011.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. FEITOSA, V. A.; **ELLER, S. C. W. S**.; CAVALCANTI, M. T.; FLORENCIO, I. M.; PIRES, V. C. F.
Caracterização fisico-química do fruto desidratado do juazeiro (Ziziphus joazeiro) In: V Congresso Latino Americano e XI Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 2011, Salvador.
V Congresso Latino Americano e XI Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 2011.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. PEGO, A. M. F.; **FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. S. E**.; OLIVEIRA, T. F.; LEYTON, V.; MIZIARA, I.; YONAMINE, M.
A comparison between post-mortem blood and hair samples from victims of violent death in brazil. **SOFT-TIAFT 5th Joint Meeting, 2018**, Boca Raton, Flórida. SOFT-TIAFT 5th Joint Meeting Abstract Book, 2018. p.98 - 98

2. ROVERI, F. L.; PEGO, A. M. F.; **FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. S. E**; OLIVEIRA, T. F.; YONAMINE, M.
Evaluation of artificial drug incorporation into hair for the production of quality control samples.
SOFT-TIAFT 5th Joint Meeting, 2018, Boca Raton, Flórida. SOFT-TIAFT 5th Joint Meeting Abstract Book, 2018. p.112 - 112

3. **FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. S. E**.; ZUCOLOTO, A. D.; OLIVEIRA, C. D. R.; FRUCHTENGARTEN, L. V. G.; HERNANDES, E. M. M.; OLIVEIRA, T. F.; YONAMINE, M.
Fast and simple screening of 40 drugs in diluted blood and urine samples by uhplc-ms/ms: application in emergency toxicology.
SOFT-TIAFT 5th Joint Meeting, 2018, Boca Raton, Flórida. SOFT-TIAFT 5th Joint Meeting Abstract Book, 2018. p.196 – 196

4. ZUCOLOTO, A. D.; OLIVEIRA, C. D. R.; **ELLER, S. C. W. S.**; YONAMINE, M.; HERNANDEZ, E. M. M.; FRUCHTENGARTEN, L. V. G.
Chest pain related to cocaine use: Case series In: 9th Congress of Toxicology in Developing Countries/XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2015, Natal, RN.
9th Congress of Toxicology in Developing Countries/XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia. , 2015.

5. **Franco de Oliveira, S. C. W. S. E.**; YONAMINE, M.
Estimation of the measurement uncertainty in quantitative determination of blood ethanol In: 9th Congress of Toxicology in Developing Countries/XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2015, Natal, RN.
9th Congress of Toxicology in Developing Countries/XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2015.

6. **Franco de Oliveira, S. C. W. S. E.**; YONAMINE, M.
Measurement uncertainty in determination of amphetamines in urine by liquid-phase microextraction

and gas chromatography-mass spectrometry In: 53 TIAFT meeting 2015, 2015, Florença, Itália.
53 TIAFT meeting 2015. , 2015.

7. FRUCHTENGARTEN, L. V. G.; ZUCOLOTO, A. D.; OLIVEIRA, C. D. R.; **Franco de Oliveira, S. C. W. S. E.**; PASSIO, S. A. M.; YONAMINE, M.; HERNANDES, E. M. M.
Prolonged use of n-acetylcysteine in several paracetamol poisoning associated with other drugs: case report In: 9th Congress of Toxicology in Developing Countries/XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2015, Natal, RN.
9th Congress of Toxicology in Developing Countries/XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia. , 2015.

8. **ELLER, S. C. W. S.**; SANTOS, M. F.; YUKI, L.; LOURENCO, F. R.; YONAMINE, M.
Estimation of the measurement uncertainty in the determination of benzoylecgonine in urine In: 4º Encontro Nacional de Química Forense - ENQFOR / 1º Simpósio Nacional sobre Drogas Sintética, 2014, Ribeirão Preto, SP.
4º Encontro Nacional de Química Forense - ENQFOR / 1º Simpósio Nacional sobre Drogas Sintética, 2014.

9. ELLER, S. C. W. S.; LOURENCO, F. R.; FLAIBAN, L. G.; PARANHOS, B. A. P. B.; YONAMINE, M.
Determination of 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-carboxylic acid in urine samples by applying the concepts of measurement uncertainty In: XVIII Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2013, Porto Alegre - RS.
XVIII Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2013.

10. ELLER, S. C. W. S.; YONAMINE, M.
Estimation of the measurement uncertainty of 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-carboxylic acid in urine In: XVIII Semana Farmacêutica de Ciência e tecnologia, 2013, São Paulo - SP.
XVIII Semana Farmacêutica de Ciência e tecnologia, 2013.

11. ELLER, S. C. W. S.; NUNES, L. E.; FERNANDES, A. F. C.; RICARDO, B. C.; ARRUDA, T. A.; CATAO, R. M. R.
Atividade antimicrobiana interativa in vitro entre extratos vegetais In: XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2010, João Pessoa.
XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2010.

12. ELLER, S. C. W. S.; FEITOSA, V. A.; ARRUDA, T. A.; CATAO, R. M. R.
Estudo do atividade antimicrobiana interativa in vitro de extratos vegetais In: X Congresso Nacional de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica / VII Congresso Nacional sobre SIDA, 2010, Coimbra.
X Congresso Nacional de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica, 2010.

13. VILAR, M.; ELLER, S. C. W. S.; FEITOSA, V. A.; FIALHO, G. J. D.; NUNES, L. E.; PACHU, C. O
Avaliação preliminar da utilização empírica de plantas medicinais por dirigentes de sociedades de amigos de bairro da Cidade de Campina Grande In: Encontro Nordestino de Etnoecologia e Etnobiologia, 2009, Campina Grande - PB.
Encontro Nordestino de Etnoecologia e Etnobiologia, 2009.

14. APOLINÁRIO, A. C.; ELLER, S. C. W. S.; FEITOSA, V. A.; FIALHO, G. J. D.; NUNES, L. E.; COSTA, M. A. A.; BELEM, L. F.
Relato de Experiência na Implantação do Componente Curricular Uso Racional de Medicamentos no Curso de Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba UEPB. In: III Congresso Brasileiro sobre o Uso Racional de Medicamentos, Fortaleza - CE.
III Congresso Brasileiro sobre o Uso Racional de Medicamentos, 2009.

15. ELLER, S. C. W. S.; APOLINÁRIO, A. C.; FIALHO, G. J. D.; NUNES, L. E.; PACHU, C. O
Tentativa de controle do tabagismo na cidade de Remígio-PB por acadêmicos do curso de Farmácia através do programa Laboratório Itinerante In: 4ª Semana de Extensão Universitária da Universidade Estadual da Paraíba, 2009, Campina Grande.
Políticas Públicas e Compromisso Social, 2009.

16. ELLER, S. C. W. S.; APOLINÁRIO, A. C.; FERNANDES, A. F. C.; NUNES, L. E.; PACHU, C. O

Trabalhos Educativos em Saúde com jovens do ensino médio de escola pública da cidade de Campina Grande - PB In: 4ª Semana de Extensão Universitária da Universidade Estadual da Paraíba, 2009, Campina Grande.
Políticas Públicas e Compromisso Social, 2009.

17. ELLER, S. C. W. S.; NUNES, L. E.; FEITOSA, V. A.; APOLINÁRIO, A. C.; PACHU, C. O
Álcool e tabaco como agentes causadores do infarto In: XI Simpósio Internacional sobre Tratamento de Tabagismo / VII Simpósio Internacional sobre Álcool e Outras Drogas, 2008, Rio de Janeiro - RJ.
XI Simpósio Internacional sobre Tratamento de Tabagismo / VII Simpósio Internacional sobre Álcool e Outras Drogas, 2008.

18. ELLER, S. C. W. S.; FEITOSA, V. A.; FERNANDES, A. F. C.; NUNES, L. E.; PACHU, C. O
Avaliação do grau de conhecimento de estudantes de uma escola pública em relação ao infarto In: Congresso de Biomedicina e Farmácia - ASCES, 2008, Caruaru - PE.
Congresso de Biomedicina e Farmácia - ASCES, 2008.

19. NUNES, L. E.; ELLER, S. C. W. S.; APOLINÁRIO, A. C.; FIALHO, G. J. D.; Jales, D. F. A.; PEQUENO, A. S.; Queiroz, M. S. R.
Avaliação do Uso de Ácido Acetilsalicilico(AAS) em Portadores de Diabetes Mellitus In: 3° Seminario Multidisciplinar Sobre Diabetes, 2008, Campina Grande - PB.
3° Seminario Multidisciplinar Sobre Diabetes. , 2008.

20. ELLER, S. C. W. S.; APOLINÁRIO, A. C.; FIALHO, G. J. D.; NUNES, L. E.; QUEIROZ, M. S. R.
Avaliação do Uso de Hipoglicemiantes e Diuréticos em Portadores de Diabetes Mellitus Tipo 2 In: 3º Seminário Multidisciplinar Sobre Diabetes, 2008, Campina Grande.
3º Seminário Multidisciplinar Sobre Diabetes, 2008.

21. ELLER, S. C. W. S.; NUNES, L. E.; FERNANDES, A. F. C.; FEITOSA, V. A.; PACHU, C. O
Infarto: uma abordagem educativa In: IV Seminário Internacional de Atenção Primária/Saúde da Família/III Mostra Nacional de Produção em Saúde da Família, 2008, Brasília.
IV Seminário Internacional de Atenção Primária/Saúde da Família/III Mostra Nacional de Produção em Saúde da Família, 2008.

22. FERNANDES, A. F. C.; NUNES, L. E.; ELLER, S. C. W. S.; PACHU, C. O
O infarto como tema de discussão em uma escola pública In: 3ª Semana de Extensão da Universidade Estadual da Paraíba, 2008, Campina Grande - PB.
3ª Semana de Extensão da Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande. Campina Grande: Editora da Universidade Estadual da Paraíba, 2008.

23. ELLER, S. C. W. S.; NUNES, L. E.; FERNANDES, A. F. C.; JUNIOR, E. F. P.; PACHU, C. O
Que doença é essa: Infarto In: II Semana de Extensão - Extensão, Cidadania e Diversidade Cultural, 2007, Campina Grande.
II Semana de Extensão - Extensão, Cidadania e Diversidade Cultural, 2007.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. ELLER, S. C. W. S.; FEITOSA, V. A.; CAVALCANTI, M. T.; FLORENCIO, I. M.; DANTAS, J. P.
Caracterização físico-química das brácteas e miolo da macambira (BROMELIA LACINIOSA) In: VII Seminário Nacional da Agroindústria (SEMIAGRO) / IV Jornada Nacional da Agroindústria, 2010, Bananeiras - PB.
VII Seminário Nacional da Agroindústria (SEMIAGRO) / IV Jornada Nacional da Agroindústria, 2010.

Produção técnica

2017 Substâncias estimulantes do SNC sob o aspecto da Toxicologia Forense. Curso de extensão ministrado (16 horas). Centro Universitário São Camilo.

2017 Toxicologia Forense. Palestra ministrada (1 hora). XVII Semana Acadêmica da Biomedicina Metodista, Universidade Metodista.

2016 Doping no Esporte. Aula ministrada (10 horas), Faculdade de Farmácia, Fundação Herminio Ometto – Uniararas.

2016 Pesquisas e inovações em Toxicologia Forense. Palestra ministrada (1 hora). VIII Semana da Farmácia, Universidade Metodista.

2016 Toxicologia Forense. Palestra ministrada (1 hora). XVI Jornada Acadêmica de Biomedicina, Universidade Metodista.

2016 Incerteza de medição em análises toxicológicas. Aula ministrada (4 horas). Disciplina de pós-graduação Análises Toxicológica de fármacos e drogas que causam dependência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2016 Métodos analíticos para o preprao de amostras biológicas e medicamentos. Aula prática ministrada (6 horas). Ciclo de Cursos e Palestras em Toxicologia, Sociedade Brasileira de Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2016 Toxicologia Forense. Curso de Curta duração (8 horas), Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal de Alfenas.

2016 Incerteza de Medição em Análises Toxicológicas - Curso de Toxicologia Analítica. Curso de Curta duração (4 horas), Sociedade Brasileira de Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2016 Estimulantes do Sistema Nervoso Central. Palestra ministrada (1 hora). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2015 Doping no esporte. Aula ministrada (2 horas). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

2015 Simpósio de Toxicologia - Toxicologia Analítica. Curso de Curta duração (2 horas), V Congresso Farmacêutico, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

2015 Pesquisas e inovações na área de Toxicologia Forense. Palestra ministrada (1 hora). Jornada Científica da Saúde. Universidade Católica de Santos.

2015 Detecção de drogas em matrizes biológicas. Aula prática ministrada (4 horas). IV Escola de Inverno em Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2015 Doping no esporte. Palestra ministrada (1 hora). IV Escola de Inverno em Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2015 Métodos analíticos para identificação e detecção de drogas de abuso. Curso de Curta duração (8 horas), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

2014 Incerteza de medição em análises toxicológicas. Aula ministrada (4 horas). Disciplina de pós-graduação Toxicologia Forense, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2014 Análise Estatística dos casos de intoxicação do CCI de São Paulo. Palestra ministrada (2 horas). Centro de Controle de Intoxicações da Cidade de São Paulo – CCI-SP.

2014 Doping no Esporte. Palestra Ministrada (4 horas). Sociedade Brasileira de Toxicologia. Unifenas.

2014 Linhas de pesquisa do Laboratório de Toxicologia Analítica. Palestra ministrada (1 hora). III Escola de Inverno em Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2014 Abordagem Interdisciplinar na Intoxicação por Substância Psicoativa. Aula prática ministrada (4 horas). III Escola de Inverno em Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2014 Drogas ilícitas. Palestra ministrada (4 hora). Faculdade de Farmácia, Universidade Anhembi Morumbi.

2013 Determinação de etanol em saliva e sangue por *headspace* e GC-FID. Aula prática ministrada (4 horas). Disciplina de pós-graduação Análises Toxicológica de fármacos e drogas que causam dependência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2013 Análise de incerteza de em análises toxicológicas. Aula ministrada (4 horas). Disciplina de pós-graduação Análises Toxicológica de fármacos e drogas que causam dependência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.

2013 Determinação de etanol em saliva. Curso de Curta duração (4 horas), III Escola de Inverno em Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP.