

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento e validação de método multianalítico para análise qualitativa e quantitativa de solventes de abuso em fluido oral e em inalantes de apreensão por HS-CG/EM e CG/DIC

BRUNA CLAUDIA COPPE

Porto Alegre, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento e validação de método multianalítico para análise qualitativa e quantitativa de solventes de abuso em fluido oral e em inalantes de apreensão por HS-CG/EM e CG/DIC

Dissertação apresentada por **Bruna Claudia Coppe** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^ª Dr. Renata Pereira Limberger

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 31.03.2015, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Martin Steppe

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Lysa Silveira Remy

Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas

Dr. Kristiane de Cássia Mariotti

Departamento de Polícia Federal

CIP - Catalogação na Publicação

Coppe, Bruna Claudia
Desenvolvimento e validação de método
multianalítico para análise qualitativa e
quantitativa de solventes de abuso em fluido oral e
em inalantes de apreensão por HS-CG/EM e CG/DIC /
Bruna Claudia Coppe. -- 2015.
114 f.

Orientador: Renata Pereira Limberger.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto
Alegre, BR-RS, 2015.

1. Inalantes. 2. Solventes de abuso. 3. Fluido
oral. 4. Validação. 5. Headspace. I. Pereira
Limberger, Renata , orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido sob orientação da prof. Dr. Renata Pereira Limberger, no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na cidade de Porto Alegre, com financiamento de agências de fomento. A autora recebeu bolsa de estudos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

AGRADECIMENTOS

À prof. Dr. Renata Pereira Limberger, pela oportunidade de realizar esse trabalho, pela confiança e pelo aprendizado proporcionado.

À equipe do Labtoxico, Bruna Tassi, Taís, Ana Cláudia, Eloísa, Ana Laura, Rosana e Amanda, pela companhia e coleguismo durante os dias em que passamos juntas.

Agradecimento especial às amigas e colegas Bruna Tassi, Taís e Ana Cláudia que sempre me apoiaram se fazendo presente nos momentos de alegrias e nos difíceis também, vocês foram essenciais no desenvolvimento desse trabalho, obrigada pelo carinho constante.

Ao Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas (CPAD), e à pesquisadora Lysa pela oportunidade da aplicação do método desenvolvido.

Ao IGP/SC, em especial a Bruna Boff pelo fornecimento dos dados dos inalantes.

A Fapergs, pela bolsa de estudos.

A toda a minha família pelo carinho e apoio, especialmente às minhas queridas e amadas tias, Mariza, Cátia, Lizi e Beatriz, por se fazerem sempre presente, pelo incentivo, pelas conversas, pela amizade e pelos sonhos compartilhados.

Às minhas eternas amigas de Souza, por todas as alegrias vividas e pelo companheirismo fiel da vida toda.

Ao Solano, meu amor, pelo carinho, apoio, amor, paciência, preocupação e por todas as coisas boas que compartilhamos juntos.

Ao meu irmão Mateus, pelo carinho, e simplesmente por ser essa pessoa incrível e cativante que és.

As duas pessoas mais importantes na minha vida, meus pais, Enio e Silvana, pelos valores transmitidos, pelo amor incondicional, por aceitarem as minhas escolhas, acreditarem nelas e me darem o suporte necessário para atingir os meus objetivos. Vocês são meus maiores exemplos de determinação, honestidade e humildade. Obrigada infinitamente por tudo!

RESUMO

As drogas inalantes são um grupo de substâncias voláteis e psicoativas consumidas intencionalmente a fim de produzir alterações no estado de consciência. Apesar da considerável prevalência e dos importantes danos à saúde física e mental, o abuso de inalantes é considerado uma “epidemia silenciosa”, que é pouco compreendida, negligenciada e esquecida. A utilização do FO como matriz biológica para monitorar o uso de drogas é uma tendência mundial por apresentar inúmeras vantagens e boa correlação com o nível sanguíneo. Considerando o intenso consumo de inalantes, o presente trabalho propôs desenvolver e validar um método de diagnóstico para detectar a exposição intencional do uso de solventes inalantes em fluido oral (FO) pela técnica de headspace e cromatografia em fase gasosa acoplada a detector de massa (HS-CG/EM). Diante da diversidade de substâncias utilizadas como drogas inalantes o trabalho investigou a composição dos inalantes enviados para exame pericial ao Instituto Geral de Perícia do estado de Santa Catarina (IGP/SC), além de fazer um levantamento do número de apreensões entre os anos de 2010 e 2014 e a partir disso, um método por CG/DIC com confirmação por CG/EM foi validado para análise de solventes em amostras de inalantes apreendidos. O método validado na matriz FO atendeu aos critérios preconizados pelos guias de validação e permitiu a quantificação de baixas concentrações de etanol, éter etílico, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e butanol, e a identificação qualitativa de cloreto de etila, n-propanol, tolueno, xilol e clorofluorcarbonos. O método demonstrou ser uma técnica promissora no monitoramento toxicológico clínico e forense do abuso de inalantes. Os dados fornecidos pelo IGP/SC demonstraram uma alta prevalência de apreensões de inalantes entre os anos de 2010 a 2014, e na análise pericial, o cloreto de etila (91,4%) e o éter etílico (45,8%) foram os solventes mais encontrados. O método proposto para análise dos inalantes por CG/DIC e confirmado por CG/EM mostrou-se uma ferramenta importante para futuros estudos sobre as formulações de inalantes de abuso, podendo ainda ser empregado na rotina de laboratórios de perícia.

Palavras-chave: Inalantes, solventes de abuso, fluido oral, validação, headspace.

ABSTRACT

Inhalant drugs are a group of volatile and psychoactive substances intentionally consumed to cause changes in consciousness. Besides the significant prevalence and major damages to physical and mental health, the abuse of inhalants is considered a “silent epidemic”, which is poorly understood, neglected, and forgotten. The use of OF as a biological matrix to monitor the use of drugs is a global trend for it presents several advantages and good correlation to the blood level. Considering the strong consumption of inhalants, the present work proposed to develop and validate a diagnosis method to detect the intentional exposure of the use of inhalant solvents in oral fluid (OF), by headspace and gas chromatography coupled with a mass detector (HS-GC/MS). In the face of the diversity of substances used as inhalant drugs, the study investigated the composition of inhalants sent for forensic analysis to the General Institute of Forensics of the state of Santa Catarina (IGP/SC); it also performed a survey on the number of confiscations between the years 2010 and 2014. From then on, a GC/FID method confirmed by GC/MS was validated for analysis of solvents in samples of the inhalants confiscated. The method validated in the OF matrix met the criteria predicted by the validation guidelines and it allowed the quantification of low concentrations of ethanol, diethyl ether, dichloromethane, chloroform, ethyl acetate, and butanol, as well as the qualitative identification of chloroethane, n-propanol, toluene, xylene, and chlorofluorocarbons. The method represented a promising technique for the toxicological-clinical and forensic monitoring of inhalants abuse. Data provided by the IGP/CS showed high prevalence of confiscations of inhalants between the years of 2010 and 2014, and forensic analysis showed that chloroethane (91.4%) and diethyl ether (45.8%) were the most found solvents. The method proposed for the analysis of inhalants by GC/FID and confirmed by GC/MS proved to be an important tool for future studies on the formulation of inhalants of abuse, and it may be applied in the routine of forensic laboratories.

Keywords: Inhalants, solvents of abuse, oral fluid, validation, headspace.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Uso de drogas psicotrópicas por estudantes brasileiros.....	33
Figura 2	Drogas mais utilizadas segundo o levantamento nacional de consumo de drogas.....	34
Figura 3	Frasco de headspace.....	42
Figura 4	Coleta de fluido oral com dispositivo de coleta Quantisal®.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais produtos empregados como inalantes.....	30
Tabela 2	Técnicas empregadas para análise de voláteis.....	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	23
2.1. Objetivo Geral.....	25
2.2. Objetivos Específicos.....	25
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	27
3.1. Inalantes de abuso.....	29
3.1.1 <i>Dados epidemiológicos do abuso de inalantes.....</i>	31
3.1.2 <i>Inalantes de abuso no Brasil.....</i>	32
3.2. Toxicologia dos inalantes de abuso.....	35
3.2.1 <i>Toxicidade no sistema nervoso central.....</i>	36
3.2.2 <i>Toxicidade cardiovascular.....</i>	36
3.2.3 <i>Toxicidade hepática e renal.....</i>	37
3.2.4 <i>Toxicidade pulmonar.....</i>	37
3.2.5 <i>Outros tipos de toxicidade.....</i>	37
3.3. Diagnóstico laboratorial de inalantes de abuso.....	38
3.3.1 <i>HS-CG/EM.....</i>	41
3.4. Fluido oral.....	43
3.4.1 <i>Dispositivos de coleta de FO.....</i>	44
4. MANUSCRITO I.....	47
5. MANUSCRITO II.....	71
6. DISCUSSÃO GERAL.....	93
7. CONCLUSÕES.....	99
8. REFERÊNCIAS.....	103

1. INTRODUÇÃO

O abuso de inalantes ou abuso de solventes é definido como a inalação intencional de substâncias voláteis com o propósito de alcançar um estado mental alterado (CSACNACH, 1996; WHO, 2004; WILLIAMS, STORCK, 2007; BALSTER, 2009; BAYDALA, 2010). Apesar do consumo de inalantes ser reconhecido como um problema mundial, estes compostos pertencem a uma classe pouco estudada como droga de abuso (KURTZMAN *et al.*, 2001; GERASIMOV *et al.*, 2002; BALSTER, 2009).

Um grande número de produtos químicos comerciais são utilizados como inalantes de abuso, as apresentações mais comuns são as colas, thinner, tintas, verniz, removedores de esmalte, fluidos de gás, adesivos, propulsores de aerossol, agentes de limpeza seco e sprays de pintura (BASTER, 2009; PEDROZO, JESUS, 2008; BRASIL, 2010; NIDA, 2012). No Brasil, alguns são contrabandeados, como é o caso do lança-perfume (cloreto de etila), ou fabricados clandestinamente para fins de abuso, como o cheirinho-da-loló à base de etanol, éter e clorofórmio, podendo ainda conter qualquer outro produto (CARLINI-COTRIM, 1995; PEDROZO, JESUS, 2008; BRASIL, 2010). Os inalantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura química, uso comercial ou perfil farmacológico, incluindo todas as substâncias que são utilizadas por inalação através da boca e/ou nariz (THIESEN, 2005).

Os inalantes estão entre as drogas de maior consumo abusivo no mundo (BOWEN, DANIEL, BALSTER, 1999) e as taxas de uso são maiores do que aquelas de outras substâncias comumente reconhecidas como drogas (McGARVEY, CANTERBURY, WAITE, 1996). Os padrões de uso geralmente diferem de acordo com as características das populações, sendo detectada a maior prevalência entre jovens em situação de rua (THIESEN, 2005) e, atualmente, entre frequentadores de festas de músicas eletrônicas (DIELH *et al.*, 2012).

Ao longo dos últimos anos, diversas metodologias têm sido apresentadas para a determinação qualitativa e quantitativa de solventes de abuso em análises de interesse forense e clínica, porém, não há método publicado ou disponível na literatura científica para análise simultânea de solventes utilizando a matriz fluido oral (FO). O fluido oral tem sido utilizado em vários países do mundo para monitorar o consumo de drogas

(GUBALA, ZUBA, 2002; CONE, HUESTIS, 2007; DRUMER, 2006; BOSKER, HUESTIS, 2009; GJERDE *et al.*, 2011; CHU *et al.*, 2012). O termo "fluido oral" refere-se à matriz orgânica consistindo de saliva pura secretada pelas glândulas salivares e uma mistura de partículas e fluídos encontrados na cavidade oral (SOUZA *et al.*, 2011; LANGEL *et al.*, 2013). Esta matriz biológica apresenta vantagens como o fato da coleta ser não invasiva, de fácil aplicação, rápida e preditiva (GUBALA, ZUBA, 2002; YONAMINE, 2004; LANGEL *et al.*, 2013; CHU *et al.*, 2012; ZANCANARO *et al.*, 2012).

A técnica mais recomendada para a análise de substâncias voláteis é a cromatografia em fase gasosa (CG) com utilização do *headspace* (HS) (SPINELLI, 2004; PORTARI, MARCHINI, JORDÃO, 2008; BERNAL, 2012). Os detectores frequentemente utilizados são o de ionização em chama (DIC) e de espectrometria de massas (EM), sendo que a análise por CG/EM permite a identificação inequívoca dos analitos (WASFI *et al.*, 2004; BERNAL, 2012) além de proporcionar uma maior sensibilidade. O *headspace* é uma técnica relativamente simples que se caracteriza pela possibilidade de determinação de substâncias voláteis de forma direta, permitindo a introdução da amostra sem pré-tratamento no cromatógrafo à gás (GOBATO, LANÇAS, 2001; BERNAL, 2012).

Considerando o intenso consumo de inalantes é importante definir parâmetro laboratorial para avaliar a exposição aguda a estes compostos. Para isso, foi desenvolvido e validado um método analítico por HS-CG/EM para detecção e quantificação simultânea de solventes de abuso em fluido oral (FO). O dispositivo escolhido pelo nosso grupo de pesquisa para a coleta das amostras de fluido oral foi o Quantisal®, por possuir melhor indicativo do volume de coleta (1mL), e por já ter sido previamente validado pelo nosso grupo de pesquisa (SOUZA *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2014; BORILLE *et al.*, 2015). Após a validação do método, esse foi aplicado em amostras de voluntários participantes do Programa de Assistência a Usuários de Drogas realizado em parceria com Serviço de Psiquiatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e o Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas – CPAD da UFRGS.

Por fim, foi investigada a composição dos inalantes consumidos no sul do Brasil, realizando-se um estudo sobre os inalantes de abuso encaminhados para exame pericial ao Departamento de Toxicologia Forense do Instituto Geral de Perícia do estado de Santa Catarina (IGP/SC), Brasil, no período de 2010 a 2014, a partir disso, desenvolvido e validado um método analítico para análise destes na rotina pericial.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e validar método analítico para análise simultânea de solventes de abuso em fluido oral através da técnica HS-CG/EM, e em amostras de apreensão através da técnica de CG/DIC com confirmação por CG/EM.

2.2 Objetivos específicos

- Validar método analítico para análise qualitativa e quantitativa de solventes em fluido oral por HS-CG/EM, utilizando como dispositivo de coleta o Quantisal®;
- Aplicar o método validado em amostras de fluido oral de voluntários participantes de um programa de assistência a usuários de drogas.
- Realizar análise descritiva sobre o número de apreensões e a composição dos inalantes de abuso encaminhados para exame pericial ao Instituto Geral de Perícias do estado de Santa Catarina (IGP/SC);
- Validar método analítico para análise de solventes em amostras de inalantes de apreensão pela técnica de CG/DIC, confirmado por HS-CG/EM.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Inalantes de abuso

A inalação voluntária de substâncias com o propósito de alterar o humor era uma prática comum já nos tempos mais remotos da nossa civilização (PEDROZO, JESUS, 2008). Os anciãos hebreus utilizavam a inalação de gases frios que emanavam das fendas das rochas como parte de um culto. Nativos da América do Sul empregaram, por séculos, rapés, semelhantes aos alucinógenos, em cerimônias religiosas para marcar ritos de passagem dos jovens (CCSA, 2006). No século passado, o pintor Van Gogh (1853-1890) inalava terebentina, usado como solvente de tintas (FORSTER *et al.*, 1994).

O abuso de produtos químicos contendo substâncias voláteis teve início nos países industrializados a partir de 1940, período de início da produção industrial e consequente uso generalizado de tais substâncias. Na década de 60 foi identificada a primeira epidemia do abuso de inalantes, sendo as colas os produtos de escolha (NOVAK, 1980, FORSTER *et al.*, 1994). O abuso de inalantes aparentemente aumentou nas décadas seguintes à medida que a disponibilidade de novos produtos industriais e domésticos contendo solventes se tornou maior (THIESEN, 2005). Os solventes passaram a ser inalados intencionalmente, principalmente por crianças e adolescentes em situação de rua, estudantes e jovens institucionalizados, em busca de seus efeitos psicoativos, sendo que o consumo destes é favorecido pelo fato dos produtos geralmente serem de fácil obtenção, baixo custo e legalmente distribuídos, o que os torna acessíveis (CARLINI-COTRIM, CARLINI, 1988; PEDROZO, JESUS, 2008).

O Instituto Nacional de Drogas de Abuso dos Estados Unidos (NIDA, 2012) classificou os inalantes em quatro categorias, baseado na forma como se encontram em produtos comerciais, industriais e médicos, sendo eles: os solventes voláteis, os nitritos, os gases e os aerossóis. Os solventes são os líquidos que vaporizam a temperatura ambiente; os nitritos também chamados de “poppers” são utilizados para o relaxamento muscular, usados principalmente entre homossexuais no intuito de aumentar a atividade sexual; os gases incluem butano e propano e anestésicos

médicos; aerossóis são propulsores que contêm solventes como, por exemplo, produtos de higiene pessoal e odorizadores de ambiente. A classificação pela forma do produto é comum no campo de estudo dos inalantes, porém, assim como nos medicamentos, nos inalantes o mesmo produto químico pode ser encontrado em formas diferentes (BALSTER, 2009). Os produtos mais frequentemente empregados como inalantes de abuso e os componentes da formulação que são responsáveis pelo seu uso como inalantes estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Principais produtos empregados como inalantes.

Produto	Principais componentes voláteis
Cheirinho da loló	Etanol, éter etílico e clorofórmio
Lança-perfume	Cloreto de etila
Adesivos e colas	Acetato de etila, acetona, butanona, hexano, tolueno, xilenos, ésteres
Aerossóis	Butano, propano, dimetil éter, óxido nitroso
Gasolina	Hidrocarbonetos alifáticos, tolueno e xilenos
Diluentes e solubilizantes	Acetona, hexano, tolueno e xilenos
Esmaltes e removedores	Acetona e ésteres
Fluído corretivo	Tricloroetano e tricloroetileno
Fluído de isqueiros	Butano, propano e isobutano
Gases refrigerantes, “sucesso”	Freons
Agentes desengraxantes e produtos para limpeza a seco	Diclorometano, metanol, tricloroetileno, tetracloroetileno, xilenos
Tintas e removedores de tintas	Acetonas, butanona, hexano, tricloroetileno, etanol, metanol, butanol, isopropanol
Vernizes	Hexano, tolueno e xilenos
Gases inalatórios	Halotano, isoflurano, enflurano, óxido nitroso, éter etílico

Fonte: FLANAGAN, STREETE, RAMSEY, 1997; BROUSSARD, 2000; WILLIAN, STORCK, 2007; DIEHL *et al.*, 2012; BRASIL, 2010.

O usuário de solventes pode ser classificado como: (1) experimental, aquele que usa por curiosidade poucas vezes; (2) recreativo, que faz uso intencional de solventes periodicamente, geralmente em eventos sociais e em grupo; e (3) habitual, aquele que abusa de solventes regularmente (CCSA, 2006). Populações vulneráveis como jovens em situação rua estão mais sujeitos ao uso habitual, enquanto os jovens estudantes costumam consumir inalantes de modo experimental e recreativo (NASCIMENTO, 2009).

Quanto ao modo de utilização, a forma física do produto empregado geralmente determina como se dará a exposição ao inalante. Estes produtos podem ser sólidos (adesivos) ou semi-sólidos (colas), líquidos voláteis (gasolina, diluentes e solventes), gases (fluidos de isqueiros) ou vapores mantidos em recipientes pressurizados. As colas geralmente são colocadas em sacos plásticos ou de papel, e seus vapores são inalados posicionando o saco junto à boca e/ou nariz (*bagging*). Vapores de solventes voláteis podem ser inalados diretamente de seus recipientes (*sniffing*), ou após embeber um tecido (trapos, mangas e lenços) com o solvente e colocá-lo na boca e/ou nariz (*huffing*). Latas de cola são frequentemente aquecidas para aumentar a liberação de vapores, e propelentes em aerossóis podem ser inalados após liberá-los diretamente na boca e/ou nariz, em sacos ou sob as cobertas (FLANAGAN, STREETE, RAMSEY, 1997; WEIR, 2001; BAYDALA, 2010).

3.1.1 *Dados epidemiológicos do abuso de inalantes*

O abuso de inalantes é um problema endêmico em todo o mundo (NIDA 1995; BOWEN, DANIEL, BALSTER, 1999; WILLIAMS, STORCK, 2007). Vários estudos epidemiológicos, em diferentes países (Brasil, México, Paraguai, Espanha, Canadá, Nova Zelândia, Austrália, Chile, Colômbia, Nicarágua) têm apontado que o uso, abuso e a dependência de substâncias inalantes são especialmente prevalentes entre adolescentes e crianças muito jovens, com uma variedade de desfechos e consequências negativas para esta população. A idade média de experimentação é entre os 14 e 15 anos, mas parece haver uma diminuição da idade de experimentação em populações mais vulneráveis, tais como os meninos de rua (DIEHL *et al.*, 2012).

Maiores índices de consumo de inalantes são encontrados entre indivíduos com baixo desempenho escolar, com baixo nível socioeconômico e socialmente marginalizados, com famílias desestruturadas, envolvidos com álcool e outras drogas, com histórico de abuso sexual e em conflito com a lei (PERRON, HOWARD, 2009; BAYDALA, 2010; DIEHL *et al.*, 2012).

Nos Estados Unidos (EUA), os quatro grandes levantamentos populacionais que investigaram o uso, abuso e dependência de substâncias voláteis apontam taxas que variam em média de 12% a 19% de prevalência de uso na vida, com mais de 22 milhões de americanos com histórico de abuso destas substâncias (GARLAND *et al.*, 2011; PERRON *et al.*, 2011; DIEHL *et al.*, 2012). Em 2007, nos EUA, uma pesquisa realizada com 14.103 estudantes (9^a e 12^a séries), 13,3% admitiram ter experimentado substâncias inalantes (GARLAND *et al.*, 2011). No Canadá, um estudo realizado no ano de 2004 demonstrou que 1,3 % dos canadenses de 15 anos de idade ou mais relataram ter feito uso de inalantes na vida, e esse número seria ainda maior se a pesquisa tivesse englobado moradores de rua e encarcerados (BAYDALA, 2010). Na maioria dos países latino-americanos a prevalência é significativamente elevada sendo o maior consumo pelo sexo masculino (PEDROZO, JESUS, 2008).

3.1.2 Inalantes de abuso no Brasil

No Brasil, o abuso de inalantes é um fenômeno antigo, na década de 20 um dispositivo de metal pequeno contendo cloreto de etila e chamado de lança-perfume era normalmente comercializado durante o carnaval e em festas particulares. O propósito original de lança-perfume, como seu nome indica, era para ser usado como uma brincadeira, a fim de lançar jatos de perfume sobre as pessoas durante as festividades. Como tal, foi comprado e vendido sem restrições por muitos anos até quando a sua produção e comercialização tornaram-se ilegal na década de 60 (CARLINI-COTRIM, CARLINI, 1988; NIDA, 1995; DIEHL *et al.*, 2012). Em países vizinhos como Argentina e Paraguai a produção e comercialização é livre, e o produto acaba sendo contrabandeado para o Brasil (PEDROZO, JESUS, 2008; CORDEIRO, DIEHL, 2011).

Relatórios sobre outros tipos de abuso de inalantes começaram a aparecer nos principais jornais brasileiros no início da década de 80. Estudos nacionais realizados entre estudantes nos anos de 1987 a 1997 pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas – CEBRID, indicaram que os inalantes foram as drogas mais consumidas depois do álcool e do tabaco (GALDURÓZ, NOTO, CARLINI, 1997; GALDURÓZ, 2001). Os achados dos últimos levantamentos realizados nos anos de 2004 e 2010, entre estudantes de ensino fundamental e médio, demonstraram que os inalantes continuaram a ser a droga de maior uso na vida depois do álcool e do tabaco, sendo relatado seu uso por 15,5% dos entrevistados em 2004, e 8,7% em 2010 (GALDURÓZ *et al.*, 2004; CARLINI, NOTO, SANCHEZ, 2010) (Figura 1). Entre às crianças em situação de rua, foram encontrados índices muito elevados de consumo, 44,4% já experimentaram algum inalante (cola, cheirinho-da-loló, thinner, entre outros) (NOTO *et al.*, 2003).

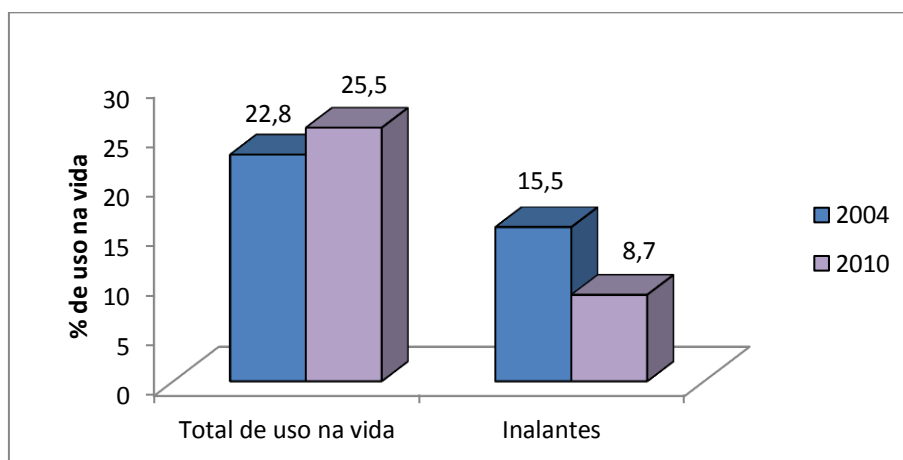


Figura 1: Uso de drogas psicotrópicas e de inalantes por estudantes brasileiros nos anos de 2004 e 2010. Fonte: adaptado de CARLINI, NOTO, SANCHEZ, 2010.

Os levantamentos domiciliares sobre o uso de drogas realizados nas 108 maiores cidades brasileira em 2001 e 2005 demonstraram que os inalantes são a quarta droga mais prevalente, atrás do álcool, tabaco e maconha (Figura 2). Em 2005, 6,1% dos entrevistados relataram ter feito uso durante a vida, porcentagens inferiores às encontradas nos EUA (9,5%) e superiores a países, como Espanha (4,0%), Bélgica

(3,0%) e Colômbia (1,4%). O uso maior foi relatado entre indivíduos do sexo masculino, 10,3%, contra 3,3% para o feminino. A faixa etária que relatou maior uso na vida foi de 18 a 24 anos (CARLINI *et al.*, 2006).

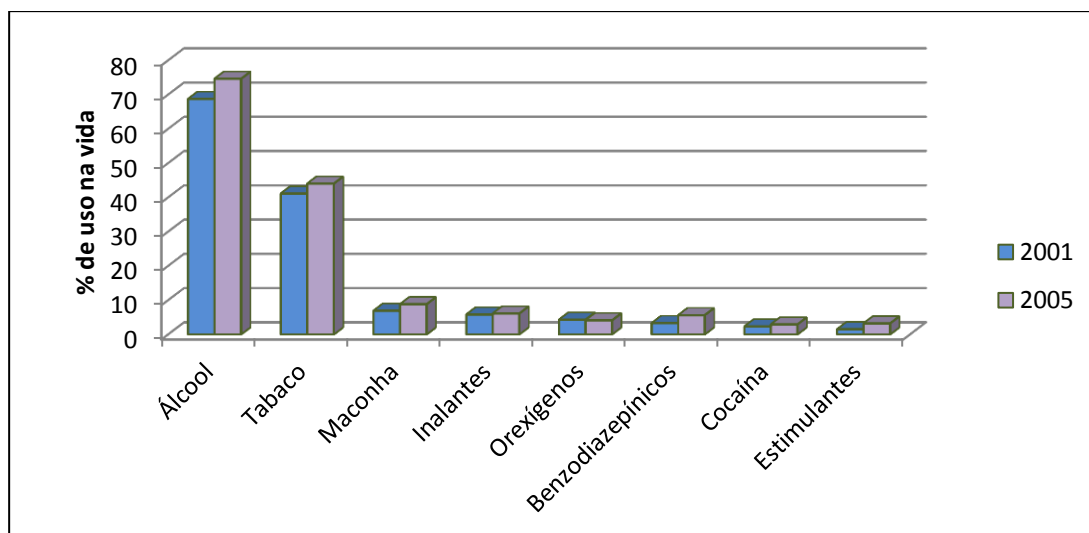


Figura 2: Drogas mais utilizadas segundo o Levantamento Nacional sobre o Consumo de Drogas Psicotrópicas realizado nos anos de 2001 e 2005. Fonte: adaptado de CARLINI *et al.*, 2006.

Quanto aos produtos mais utilizados como inalantes no Brasil, o lança-perfume, a cola de sapateiro, e cheirinho-da-loló são os mais apontados, segundo pesquisas. A popularidade dos inalantes, todavia, varia com a população exposta. Entre os estudantes a escolha recai sobre o lança-perfume, cheirinho-da-loló, éter e thiner, enquanto que as colas são as preferidas pelas crianças de rua (PEDROZO, JESUS, 2008; BRASIL, 2010).

No Brasil estes dados não são conhecidos, apesar de todos os anos nos depararmos com notícias na televisão ou em jornais impressos relatando as apreensões de inalantes juntamente com outras drogas ilícitas e mais populares. O uso de inalantes não fica restrito somente as crianças e adolescentes em situação de rua, ou marginalizados. Nos últimos anos há relatos de mortes de jovens de classe média/alta em decorrência do uso de inalantes associados a festas em cruzeiros, micaretas, carnaval e *raves* (CORDEIRO, DIELH, 2011).

3.2 Toxicologia dos inalantes de abuso

A manifestação dos efeitos tóxicos está relacionada a vários fatores incluindo estrutura química do composto, quantidade inalada, frequência da exposição e suscetibilidade individual (PEDROZO, JESUS, 2008). O abuso de inalantes pode ser detectado por sinais e sintomas clínicos ou alterações comportamentais comuns, mas com grande variação interindividual (KURTZMAN *et al.*, 2001).

Os efeitos agudos dos inalantes assemelham-se aqueles induzidos pela ingestão de etanol e de outros depressores do sistema nervoso central, sendo que os efeitos são imediatos (TEGERIS, BALSTER, 1994; RAIKHLIN-EISENKRAFT *et al.*, 2001). Na fase de excitação inicial encontram-se os efeitos buscados pelos usuários, caracteriza-se por um estágio de euforia, desinibição e bem estar, que é seguido por relaxamento, fala lenta, sonolência, tonteira, náuseas e vômitos. Sedação e vômito são os dois efeitos que ocorrendo ao mesmo tempo predispõe o usuário a uma broncospiração. Esses efeitos tipicamente depressores são também acompanhados por sensação de invulnerabilidade, e dependendo da dose por alucinações. Doses elevadas podem produzir convulsões e coma (CSACNACH, 1996; DINWIDDIE, 1994; RIBEIRO, MARQUES, 2002; SPINELLI, 2004; PEDROZO, JESUS, 2008).

No uso crônico são observados vários danos como, neuropatia periférica, perda de memória, dificuldade de concentração, distúrbios visuais, encefalopatia crônica e demência. Pode haver ainda, insuficiência renal crônica, hepatites, náuseas e vômitos recorrentes, dores abdominais difusas, pneumonites, tosse e broncoespasmos. A intoxicação crônica difere entre os compostos e pode ser produzida pelos produtos de biotransformação ou pelas drogas inalteradas (DINWIDDIE, 1994; SPINELLI, 2004; PEDROZO, JESUS, 2008; DIEHL *et al.*, 2012).

O mecanismo de ação dos inalantes é pouco entendido, tendo em vista a variedade de classes químicas envolvidas e a frequente associação entre diferentes solventes e poliabuso. Seus efeitos intensos e efêmeros estimulam o uso continuado (*rush*), principalmente em usuários crônicos, população com propensão significativa ao uso nocivo e continuado (DINWIDDIE, 1994; RIBEIRO, MARQUES, 2002). Há

controvérsias quanto à existência de tolerância e síndrome de abstinência para essa classe (RIBEIRO, MARQUES, 2002), segundo Pedrozo e Jesus (2008) a síndrome de abstinência tem sido descrita, embora ocorra esporadicamente, inclui sintomas como distúrbio do sono, irritabilidade e tremores. A dependência psicológica manifesta-se pela compulsão em inalar essas substâncias para compensar a ansiedade e a depressão experimentadas com a descontinuidade do uso (SPINELLI, 2004; PEDROZO, JESUS, 2008).

3.2.1 Toxicidade do Sistema Nervoso Central

Devido à lipossolubilidade dos solventes, o sistema nervoso central (SNC) é um dos mais vulneráveis aos efeitos tóxicos desses compostos especialmente dos usuários crônicos (KURTZMAN *et al.*, 2001; UZUN, KENDIRLI, 2005). A maioria dos compostos atuam no SNC como depressores pela alteração da função da membrana neuronal através de alguns efeitos mediados pelo neurotransmissor GABA (ácido gama aminobutírico) e pelo receptor glutâmico/glutamato (KURTZMAN *et al.*, 2001). O uso prolongado pode causar atrofia cortical e cerebelares, quadro com déficit cognitivo, ataxia cerebelar, espasticidade, miopatias, além de neuropatia periférica (RIBEIRO, MARQUES, 2002; UZUN, KENDIRLI, 2005; FIRST, TASMAR, 2010; DIEHL *et al.*, 2012). A neuropatia periférica pode se apresentar como fraqueza muscular proximal ou distal, perda de massa muscular, ausência ou diminuição dos reflexos ou parestesias (ANDERSON, LOOMIS, 2003; PEDROZO, JESUS, 2008). A recuperação dos danos neurológicos pode ocorrer embora de forma lenta, danos irreversíveis podem ocorrer após uso contínuo por vários anos (PEDROZO, JESUS, 2008).

3.2.2 Toxicidade cardiovascular

A maioria dos inalantes são depressores cardíacos (PERRON, HOWARD, 2009) e os efeitos agudos cardiovasculares são os mais comuns de levarem a morte (WILLE, LAMBERT; 2004; CCSA, 2006). A morte súbita é ocasionada principalmente por arritmias cardíacas devido à sensibilização do miocárdio as

catecolaminas (WILLE, LAMBERT; 2004). A toxicidade cardíaca inclui edema do miocárdio, miocardite irreversível, fibrose e falência cardíaca congestiva. Em doses baixas os hidrocarbonetos podem também causar hipotensão ligeira e taquicardia através da vasodilatação periférica e diminuição da contractilidade miocárdia (KURTZMAN *et al.*, 2001; WILLE, LAMBERT; 2004).

3.2.3 Toxicidade hepática e renal

O metabolismo de alguns inalantes ocorre no fígado e nos rins, isso tende a favorecer a toxicidade pela formação de produtos tóxicos (WILLE, LAMBERT; 2004). Radicais livres oriundos do metabolismo podem gerar peroxidação das membranas celulares dos hepatócitos. A inalação crônica de solventes, particularmente os hidrocarbonetos clorados, pode acarretar dano hepático manifestado por hepatomegalia e cirrose (KURTZMAN *et al.*, 2001; WILLE, LAMBERT, 2004; PEDROZO, JESUS, 2008). Embora o mecanismo de ação ainda não tenha sido bem caracterizado, a exposição a solventes hidrocarbonetos pode estar relacionada a uma variedade de doenças renais, incluído acidose tubular renal (ATR), cálculos renais, glomerulonefrite, hematúria, proteinúria, hipocalcemia e insuficiência renal (KURTZMAN *et al.*, 2001; WILLE, LAMBERT, 2004).

3.2.4 Toxicidade pulmonar

Sobre o sistema respiratório, os efeitos dos inalantes incluem tosse, chiado, enfisema, dispneia e pneumonia (RIDENOUR, 2005). Casos fatais podem ocorrer por asfixia pelo deslocamento do oxigênio levando a hipóxia, ou aspiração de vômito. Pode ocorrer ainda, parada respiratória pela depressão do centro nervoso respiratório ou pela estimulação vagal (WILLE, LAMBERT, 2004).

3.2.5 Outros tipos de toxicidade

O uso indevido de inalantes pode causar lesões cutâneas principalmente em torno do nariz e da boca, queimaduras e dermatites, irritação das mucosas oculares, hemorragia nasal, fraqueza muscular, além de problemas do trato gastrointestinal. A

exposição à longo prazo pode provocar laringite, dermatose, rinite crônica, perda de peso (WILLE, LAMBERT, 2004; BAYDALA, 2010; PEDROZO, JESUS, 2008), ainda, pode resultar supressão da medula óssea, levando a leucopenia, anemia, trombocitopenia e hemólise (PEDROZO, JESUS, 2008).

Como os solventes são lipofílicos, passam facilmente a barreira placentária ocasionando aumento do risco de aborto espontâneo e malformações fetais (CCSA, 2006; BOWEN *et al.*, 2009; DIEHL *et al.*, 2012). Alguns relatos em amostras clínicas mostram a ocorrência de uma síndrome neonatal semelhante àquela encontrada em gestantes usuárias de etanol, principalmente, crianças com baixo peso ao nascer (CCSA, 2006; FIRST, TASMAN, 2010).

3.3 Diagnóstico laboratorial de inalantes de abuso

O diagnóstico do abuso de inalantes é difícil, uma vez que é baseado quase que inteiramente em uma história clínica e no alto índice de suspeita (ANDERSON, LOOMIS, 2003). A história clínica pode estar prejudicada pela falta de veracidade intencional por parte de alguns usuários. Em autópsias médico-legais, os toxicologistas são frequentemente solicitados pela polícia a avaliar a presença de inalantes no organismo e verificar sua possível influência em ações ou condições prévias à morte. Além disto, o laboratório deve detectar seu uso em casos de abuso de inalantes e intoxicações agudas, pois este diagnóstico permitirá implementar um tratamento mais adequado (THIESEN, 2005).

Os inalantes geralmente não são detectados em testes de triagem nas análises toxicológicas de rotina para identificar o uso de drogas, estes geralmente investigam apenas as substâncias, como cocaína, maconha, anfetamínicos e derivados do ópio (CSACNACH, 1996; THIESEN, 2005; BAYDALA, 2010). A identificação laboratorial do abuso de inalantes exige análise de fluídos biológicos, geralmente por CG (BROUSSARD, 2000; SPINELLI, 2004; BERNAL, 2012) com utilização da técnica de HS para separação dos voláteis do material biológico (SPINELLI, 2004). Teoricamente devem ser investigadas todas as substâncias voláteis possíveis de serem

empregadas como inalantes, pois nenhum teste laboratorial específico confirma a inalação de solventes pesquisando um único composto, uma vez que são um grupo heterogêneo de substâncias (THIESEN, 2005).

O sangue é a matriz de escolha na análise de compostos voláteis de abuso, e a urina também é utilizada, principalmente quando o composto volátil sofre biotransformação no organismo e passa a ser eliminado por essa via (MOREAU, SIQUEIRA, 2008). A tabela 2 apresenta algumas publicações encontradas na literatura com as técnicas empregadas para análise de voláteis, as matrizes biológicas de escolha e os analitos pesquisados.

Apesar da crescente utilização do fluido oral no monitoramento da exposição de agentes tóxicos, há poucos relatos na literatura sobre o uso desta matriz no monitoramento de substâncias voláteis. Publicações como a de Ferrari e colaboradores (2008) e Gherard e colaboradores (2010) utilizam o fluido oral para avaliar a exposição de trabalhadores a solventes como o tolueno, etilbenzeno e xilenos no ambiente ocupacional. Não há relatos sobre a utilização dessa matriz no monitoramento do uso intencional de inalantes.

Tabela 2: Técnicas empregadas para análise de voláteis em matrizes biológicas.

Método de análise	Matriz biológica	Analitos	Referência
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue e urina	Tolueno, benzeno, etilbenzeno, n-butil acetato, n-butanol, n-isoamil acetato	Lee, Kumazawa, Sato, 1995
(SPME) HS-CG/DIC	Urina	Tolueno, benzeno, etilbenzeno e xilenos	Fustinoni <i>et al.</i> , 1999
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue	Etanol, acetaldeído, acetona, metanol, 1-propanol, 2-propanol	Zuba, Parczewski, Reichenbacher, 2002
HS-CG/EM	Sangue	n-butano, iso-butano, n-propano	Bouche <i>et al.</i> , 2002

HS-CG/EM	Sangue	Diclorometano, acetato de etila, benzeno, tolueno, xilenos	Wasfi <i>et al.</i> , 2004
(SPME) HS-CG/EM	Urina	Tolueno, benzeno, xileno	Alkalde <i>et al.</i> , 2004
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue	Tolueno, benzeno, xilenos	Alegretti, Thiesen, Maciel, 2004
(SPME) CG/DIC	Sangue	Propanol	Park <i>et al.</i> , 2005
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue, soro	Tolueno, estireno	Barua <i>et al.</i> , 2008
HS-CG/DIC	Sangue e urina	Etanol, acetaldeído, metanol, acetona	Portari, Marchini, Jordão, 2008
HS-CG/EM	Sangue, urina e fluido oral	Tolueno	Ferrari <i>et al.</i> , 2008
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue, urina, humor vítreo	Acetona, acetaldeído, etanol, metanol	Pontes <i>et al.</i> , 2009
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue e fluido oral	Etanol, acetaldeído, metanol, acetona, isopropanol	Feltraco, Antunes, Linden, 2009
(SPME) HS-CG/DIC	Sangue e urina	Tolueno, benzeno e n-hexano	Gomes <i>et al.</i> , 2010
HS-CG/EM	Fluido oral	Tolueno, estireno, etilbenzeno, xilenos	Gherardi, Gordiani, Gatto, 2010
HS-CG/DIC e CG/EM	Sangue e urina	Metanol, acetona, acetaldeido, tolueno, metiletilcetona, isopentanol, isobutanol, n-butanol, norflurano, cloreto de etila, clorofluorcarbonos (Freons)	Tiscione <i>et al.</i> , 2013

HS-CG/DIC	Sangue, urina, humor vítreo	1-butanol, 2-propanol, acetaldeído, acetato de etila, acetona, acetonitrila, clorofórmio, éter etílico, metanol, tolueno e xileno	Monteiro <i>et al.</i> , 2014
------------------	-----------------------------	---	-------------------------------

3.3.1 HS-CG/EM

A técnica de escolha para a análise de inalantes é a CG/DIC ou CG/EM (MOREAU, SIQUEIRA, 2008; BERNAL, 2012). Sempre que possível, a CG/EM deve ser utilizada, por apresentar especificidade suficiente para identificar a presença de uma substância com alto grau de certeza. A CG/EM pode ser considerada como a técnica “padrão-ouro” quando são necessárias análises confirmatórias (SPINELLI, 2004; SOFT, 2006; LIMBERGER *et al.*, 2010). Os detectores de massa possibilitam a identificação e a quantificação simultânea de inúmeras substâncias, nas mais variadas matrizes e aplicações, com alta sensibilidade e comprovada confiabilidade, proporcionando uma maior certeza na identificação de compostos de interesse devido à fragmentação seletiva dos seus íons (íon precursor) e o monitoramento dos respectivos íons produzidos a partir de sua fragmentação, aumentando a seletividade da análise. Sendo uma das técnicas mais difundidas nas análises toxicológicas (LIMBERGER *et al.*, 2010).

O HS associado à CG tem sido utilizado por possibilitar a amostragem de uma ampla gama de amostras sem degradação ou perda dos analitos. A principal característica do HS é a possibilidade da determinação de componentes voláteis da amostra a ser estudada de forma direta, pois possibilita a introdução da amostra sem pré-tratamento no cromatógrafo a gás (BERNAL, 2012). É considerada uma técnica simples, rápida e de baixo custo, além de prolongar a vida útil da coluna e prevenir à contaminação do injetor e do detector do CG (GOBATO, LANÇAS, 2001; DE MARTINIS, RUZZENE, MARTIN, 2004; MOREAU, SIQUEIRA, 2008). É uma técnica bem conhecida e usada em vários campos, como o farmacêutico e o toxicológico, sendo que o equipamento automatizado do HS permite o controle exato

do volume de injeção, da temperatura em que a amostra é submetida e da agitação do frasco durante o equilíbrio entre a fase líquida e a gasosa (DUJOURDY, BECASIER, 2008).

Duas metodologias podem ser utilizadas na análise de compostos voláteis por HS, a estática e a dinâmica. O HS estático é a técnica mais utilizada, que consiste em inserir a amostra em um frasco de vidro equipado com uma tampa seladora e um septo e submetê-lo a uma determinada temperatura e agitação, pré-estabelecidas. Os analitos volatilizam e migram da amostra para o HS até atingir o equilíbrio entre as fases (Figura 3), então, o septo é perfurado com uma seringa específica chamada *gas-tight* que pode ser usada manualmente ou com amostrador automático, a fase de vapor é amostrada e injetada no CG (DUJOURDY, BECASIER, 2008; BERNAL, 2012; BUENO *et al.*, 2014). A técnica de HS estático é mais simples do que a do dinâmico, sendo a mais aplicada em rotinas laboratoriais.

Em análises forenses a técnica de HS associada à CG é largamente empregada, para determinação de etanol e outros voláteis em amostras de sangue e outras matrizes (SPINELLI, 2004; MOREAU, SIQUEIRA, 2008; BERNAL, 2012). Na clínica, o HS pode ser uma ferramenta útil no diagnóstico do abuso de substâncias voláteis.

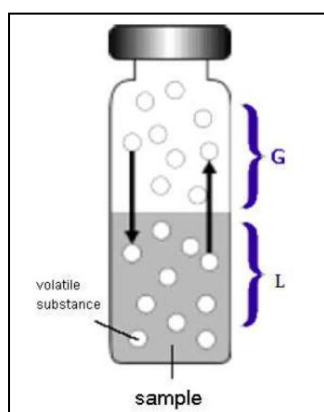


Figura 3: Frasco de headspace, equilíbrio entre a fase de vapor e a fase líquida. Fonte: BERNAL *et al.*, 2012.

3.4 Fluido oral

O fluido oral (FO) é constituído principalmente por saliva, misturada ao fluido crevicular gengival (exsudato gengival), ao transudato da mucosa oral, a fragmentos celulares, a microorganismos e a resíduos de alimentos (CONE: HUESTIS, 2007; SAMYN, LALOUP, DE BOECK 2007; LANGEL *et al.*, 2013).

A saliva é um fluido incolor, viscoso, formado pelas secreções de três pares de glândulas principais, as submandibulares, as parótidas e as sublinguais, além de outras glândulas menores (SAMYN, LALOUP, DE BOECK 2007). A secreção submandibular contribui com cerca de 70% do volume total de saliva, a secreção parótida com 25% e a sublingual e as glândulas menores com os 5% restante (MOFFAT *et al.*, 2004). A saliva é composta por 99% de água, 0,3% de enzimas (principalmente amilase), 0,3% de glicoproteínas (mucina) e o restante por eletrólitos, imunoglobulinas, albumina e outras proteínas e peptídeos (LIMA *et al.*, 2010, SOUZA *et al.*, 2011).

De uma forma geral, a maioria das drogas chega à saliva por meio de difusão passiva (CONE: HUESTIS, 2007; COMIRAN, 2012). Esse tipo de transporte transmembrana é dependente de inúmeros fatores, incluindo as propriedades químicas da substância como lipofilicidade, pKa e o tamanho da molécula, além do pH do sangue e da saliva (CONE: HUESTIS 2007; COMIRAN, 2012). As moléculas precisam ter lipossolubilidade adequada e estar na sua forma não-ionizada e não-ligada a proteínas plasmáticas, para atravessar livremente as membranas, de forma que a concentração de uma droga no FO representa a sua fração livre e não ionizada no plasma sanguíneo (SAMYN, LALOUP, DE BOECK, 2007; LIMBERGER *et al.*, 2010). Substâncias com características de base fraca possuem a tendência de se acumular no FO, com predomínio da droga original e não seus produtos de biotransformação, pois o pH da saliva é mais ácido que o pH sanguíneo, o que promove sua ionização e impede o retorno para o plasma (LIMBERGER *et al.*, 2010). Devido às glândulas salivares serem altamente perfundidas, a transferência de substâncias do sangue para o FO ocorre rapidamente (SOUZA *et al.*, 2011; COMIRAN, 2012).

3.4.1 Dispositivos de coleta de FO

A coleta do FO pode ser realizada diretamente em recipientes apropriados, por aspiração da amostra através de um tubo de vácuo ou através de dispositivos coletores comerciais, os quais fazem o uso de absorventes, impregnados ou não com estimulantes da salivação (ex. ácido cítrico), podendo ou não apresentar tampões de preservação, sendo que alguns apresentam indicador de volume coletado (APS; MARTENS, 2005; BOSKER, HUESTIS, 2009; SOUZA *et al.*, 2011; BUENO *et al.*, 2014).

A utilização de dispositivos de coleta que contém indicadores de volume permite que o coletador mantenha o dispositivo na boca do doador o tempo que for necessário para a coleta do volume adequado, geralmente cerca de 1 mL (BOSKER, HUESTIS, 2009). Os dispositivos de coleta que contêm estimulantes a fim de aumentar a produção de saliva devem ser utilizados apenas em últimos casos, por exemplo, por pessoas que sofrem de xerostomia (“boca seca”) (APS, MARTENS, 2005; BOSKER, HUESTIS, 2009) visto que existem vários problemas potenciais associados com a estimulação da produção de saliva (CROUCH, 2005). A estimulação pode alterar a composição salivar, afetando as concentrações de drogas no FO. A estimulação com ácido cítrico muda o pH do FO, podendo alterar as concentrações das substâncias nele presentes (CROUCH, 2005).

O dispositivo escolhido para a coleta das amostras de FO foi o Quantisal® (Immunoanalysis Corporation, Pomona, California) por possuir indicativo do volume de coleta (1 mL), facilitando assim a obtenção de volumes homogêneos de amostras de FO, além de possuir tampão conservante, utilizado para inibir o crescimento microbiano e a degradação dos analitos, e, pelo fato de ter sido previamente utilizado e validado pelo nosso grupo de pesquisa (SOUZA *et al.*, 2011; ZANCANARO *et al.*, 2012, SANTOS *et al.*, 2014; BORILLE *et al.*, 2015). Alguns fabricantes já oferecem garantias do grau de variabilidade da coleta, sendo relatada variabilidade menor do que 10% para o dispositivo de coleta Quantisal® (BOSKER, HUESTIS, 2009). Este dispositivo não contém estimulante de produção de FO, não alterando os resultados

obtidos nas etapas analíticas. Na figura 4 está representada ilustrativamente a metodologia de coleta utilizando o dispositivo Quantisal®.

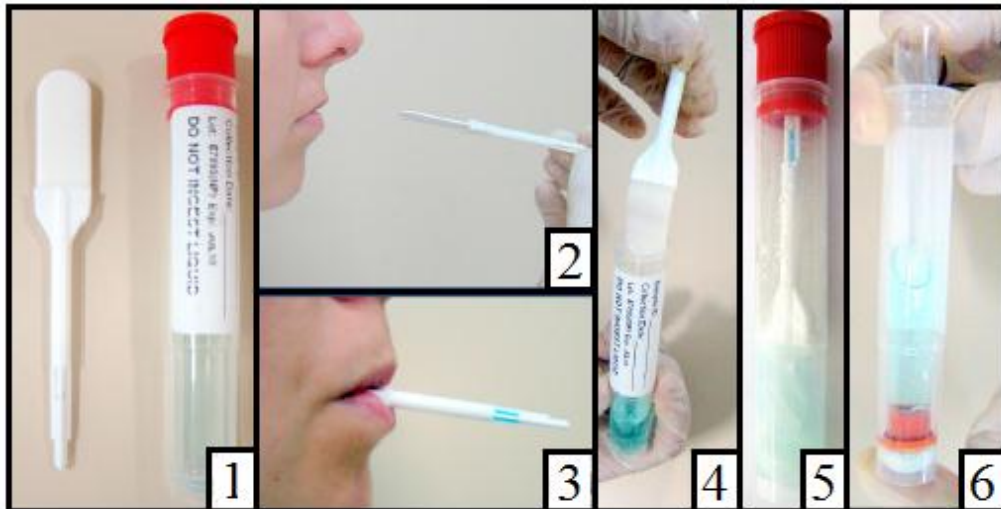


Figura 4: Coleta de fluido oral com dispositivo de coleta Quantisal®: 1. Dispositivo de coleta e frasco com tampão conservante; 2. Insira o dispositivo coletor sob a língua; 3. Aguarde até o indicador de volume tornar-se azul; 4. Insira o dispositivo no frasco com tampão conservante; 5. Feche a tampa do frasco; 6. Após remover a haste plástica do dispositivo, insira o filtro plástico Quantisal® para separar a solução do suab coletor. Fonte: SOUZA, 2010.

As vantagens destes dispositivos coletores estão em propiciar uma coleta limpa, rápida, fácil, de forma não invasiva e sem constrangimentos (SAMYN, LALOUP, DE BOECK, 2007). A coleta obtida de forma não invasiva, segura e com um custo menor, poderá promover um aumento na participação dos indivíduos em estudos epidemiológicos, bem como no monitoramento em análises toxicológicas de drogas de abuso (SANTOS *et al.*, 2007).

4. MANUSCRITO I

“Multi-analytical method validation for qualitative and quantitative analysis of solvents of abuse in oral fluid by HS-GC/MS”

5. MANUSCRITO II

“Profile of inhalants of abuse confiscated in the state of Santa Catarina/Brazil, and multi-analytical method validation for analysis of solvents in inhalants from legal seizure”.

6. DISCUSSÃO GERAL

A utilização de matrizes biológicas alternativas ao sangue e a urina tem aumentado cada vez mais em áreas como toxicologia forense, clínica e ocupacional (BRUNI, VELHO, OLIVEIRA, 2012). O uso do FO como uma ferramenta diagnóstica vem crescendo nos últimos anos devido ao aumento significativo de metodologias sensíveis e ao maior entendimento dos mecanismos de transferências de substâncias à cavidade oral. Atualmente o FO é reconhecido como uma matriz alternativa robusta, com numerosas aplicações (SPIEHLER, COOPER, 2008). Outro aspecto a ser considerado é a facilidade da coleta do FO, de forma rápida, assistida e não invasiva, segundo Moreau e Siqueira (2008) tanto melhor uma amostra, quando menos invasiva for considerada. Além disso, o FO constitui o fluído biológico pelo qual se pode traçar paralelos com a concentração sanguínea, sendo que a concentração no FO reflete a fração livre no plasma podendo ser útil em estudos farmacocinéticos, análises forenses e clínicas (CONE, HUESTIS, 2007; MOREAU, SIQUEIRA, 2008; LIMBERGER *et al.*, 2010). O monitoramento dos solventes na sua forma inalterada facilita a análise laboratorial, diminuindo o tempo de preparo das amostras (BERNAL, 2012), além de apresentar uma maior correlação com o nível da exposição. Estudos publicados relatam que há uma boa correlação entre as concentrações de solventes no FO e no sangue (FERRARI, 2008; GHERARD, GORDANI, GATTO, 2010).

É importante considerar que a utilização de dispositivos de coleta de FO podem apresentar problemas analíticos decorrentes do uso de soluções tampão e conservantes com diferentes composições de sais e tensoativos que podem alterar a precisão e exatidão das análises (GALLARDO, QUEIROZ, 2008). É necessário observar no desenvolvimento de novas metodologias essa possibilidade, no entanto, a utilização do tampão Quantisal® se mostrou adequado na análise dos solventes em FO.

O HS é uma técnica simples e sensível, podendo ser utilizada para analisar compostos em baixas concentrações, livre de outros interferentes da amostra e possibilita a introdução da amostra sem pré-tratamento no cromatógrafo à gás evitando a indesejável contaminação da coluna por resíduos não voláteis (GOBATO, LANÇAS, 2001). Alguns parâmetros são importantes e devem ser controlados (MOREAU, SIQUEIRA, 2008). Para determinar condições experimentais ótimas de análise a

utilização de experimentos fatoriais pode ser vantajosa. Um delineamento experimental permite a escolha das variáveis que são importantes na análise e descarta as que não têm influência na resposta que se pretende estudar. Além disso, ajuda a definir a região ótima da análise (MATEUS, BARBIN, CONAGIN, 2001). No caso do HS a determinação das condições experimentais ótimas para a análise dos solventes é multifatorial, sendo influenciada por fatores como tempo de equilíbrio e temperatura. Em geral é comum aumentar a temperatura de aquecimento do sistema a fim de se obter uma melhor recuperação (MOREAU, SIQUEIRA, 2008). A fim de determinar as condições experimentais ótimas da análise da extração dos solventes por HS, foi realizado um estudo de superfície resposta através da técnica do delineamento do composto central (DCC) para as variáveis tempo e temperatura. Porém, por se tratar de uma análise simultânea, envolvendo solventes com diferentes propriedades físico-químicas os resultados das respostas experimentais variaram consideravelmente, sendo assim, optou-se por utilizar um tempo de incubação e temperatura próximas a de outros trabalhos previamente validado pelo nosso grupo de pesquisa por Santos e colaboradores (2014) e Borille e colaboradores (2015) para determinação de etanol em FO.

Em análises toxicológicas é imprescindível que a metodologia empregada demonstre confiança e aplicabilidade (LIMBERGER *et al.*, 2010), qualquer conclusão a respeito do uso de drogas ou efeitos sobre o comportamento humano deve ser baseada apenas em estudos cientificamente validados (SOFT, 2006). A metodologia proposta para a análise de solventes inalantes em FO pela técnica confirmatória de HS-CG/EM foi validada demonstrando resultados satisfatórios para os solventes analisados, embora, a análise toxicológica de substâncias voláteis apresente alguns problemas particulares, e exige cuidados. A coleta, o transporte, o armazenamento e a manipulação das amostras precisam ser controlados de modo a evitar perdas por volatilização. O frasco de coleta deve ter boa vedação, devem ser mantidos sob refrigeração e abertos somente na hora da análise (SPINELLI, 2004; WILLE, LAMBERT, 2004; MOREAU, SIQUEIRA, 2008).

O método proposto demonstrou boa sensibilidade, permitindo identificar substâncias em baixas concentrações na matriz FO, sendo essencial para a avaliação da exposição aos solventes de abuso. As concentrações de solventes encontradas em amostras biológicas relacionadas ao uso intencional dos solventes são significativamente maiores do que os limites de tolerância biológica nos casos da exposição ocupacional (SPINELLI, 2004; THIESEN, 2005). O uso do detector de massa se mostra vantajoso em análises multianalíticas, por permitir a identificação estrutural das moléculas e possibilitar a quantificação simultânea de inúmeros analitos (LIMBERGER *et al.*, 2010; BERNAL, 2012), como é o caso dos solventes de abuso.

Para permitir a máxima confiabilidade da determinação quantitativa é necessária a utilização de um padrão interno, juntamente com a amostra no início do processo analítico, dessa forma, reduzem os fatores de variação que acompanha a fase de extração e análise instrumental (MOREAU, SIQUEIRA, 2008). Quando possível, o padrão interno deve ter as propriedades químicas e físicas semelhantes ao analito em estudo (SOFT, 2006). A utilização do isopentanol como PI se mostrou adequado, além do mais, o isopentanol é pouco utilizado a nível industrial e laboratorial, diminuindo a possibilidade deste ser encontrado nas amostras.

Os dados fornecidos pelo IGP/SC demonstraram um grande número de apreensões de inalantes, sendo que a maioria contendo cloreto de etila (91,4%). O cloreto de etila é classificado pela ANVISA segundo a Portaria SVS/MS nº 344/98 (BRASIL, 1998) como uma substância psicotrópica de uso proscrito, e é contrabando para o Brasil pelas fronteiras com o Paraguai e Argentina (BRASIL, 2010). Os dados das apreensões são de grande importância porque demonstram a dimensão do problema do abuso de inalantes no Brasil e a prevalência do abuso destes, principalmente por jovens brasileiros, justificando a necessidade de novos métodos de diagnóstico clínico e forense para detecção de drogas inalantes.

Além do mais, os inalantes de abuso têm características próprias e variam sua composição conforme a região e a população exposta (PEDROZO, JESUS, 2008), podendo ser consumidos na sua forma comercial (colas, tiner, diluentes, entre outros), na forma de preparos clandestinos, os quais podem conter misturas de solventes, na

forma de lança-perfume e atualmente os gases fréons em frascos pressurizados. Não há método de triagem que faça a identificação de um grupo tão heterogêneo de substâncias como as presentes nos inalantes, à análise pericial das amostras apreendidas deve ser feita por cromatografia à gás. A validação do método analítico por CG/DIC com confirmação por CG/EM se mostrou adequada para a análise dos solventes presentes nos inalantes apreendidos e encaminhados para exame pericial, sendo que a quantificação desses solventes pode ser útil na elucidação das formulações preparadas de forma clandestina. A composição desconhecida dos inalantes significa toxicidade imprevisível, por isso, torna-se importante no âmbito da toxicologia identificar os solventes presentes nos inalantes e avaliar as consequências da diversidade das formulações.

7. CONCLUSÕES

O FO mostrou-se uma matriz promissora na análise de inalantes de abuso, sendo de fácil coleta e livre de interferentes. A utilização do dispositivo de coleta Quantisal® viabilizou a coleta e proporcionou maior rapidez ao coletar as amostras de FO dos voluntários, além do mais, o tampão Quantisal® se mostrou adequado para as análises.

A utilização do HS permitiu que as amostras fossem injetadas de forma direta sem etapas de preparo, proporcionando rapidez e economia às análises. A temperatura do HS e o tempo de agitação permitiram uma boa extração dos voláteis e consequentemente boa sensibilidade ao método proposto.

O uso de um detector de massa permitiu a identificação inequívoca dos analitos se mostrando vantajosa em análise toxicológica do abuso de inalantes em FO, os quais podem conter múltiplas substâncias.

O desenvolvimento de métodos validados é um pré-requisito para demonstrar confiabilidade e a correta interpretação dos resultados. O método aqui descrito permitiu a análise simultânea de solventes de abuso em FO e demonstrou ser altamente sensível para a quantificação de baixas concentrações de etanol, éter etílico, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol, e a identificação qualitativa de cloreto de etila, n-propanol, tolueno, xilol e clorofluorcarbonos. O método descrito pode ser amplamente empregado por laboratórios para análise toxicológica clínica e forense.

Quando aplicado o método validado em FO de voluntários usuários de drogas, foi detectado a presença de etanol em 59% das amostras, e as concentrações de etanol variaram entre 50 mg/L e 60 mg/L, nenhum outro solvente foi detectado.

O número de inalantes apreendidos no estado de Santa Catarina reflete a alta prevalência do uso destes como droga de abuso. Os dados demonstraram um aumento significativo das apreensões entre os anos de 2010 e 2014, sendo o cloreto de etila a principal substância encontrada nas análises periciais.

O desenvolvimento do método analítico para análise de solventes em amostras de inalantes de apreensão pela técnica de CG/DIC e confirmação em CG/EM pode ser

uma ferramenta importante na análise pericial, visto que não há método de triagem para detecção simultânea de solventes.

8. REFERÊNCIAS

ALEGRETTI, A. P; THIESEN, F. V; MACIEL, G.P. Analytical method for evaluation of exposure to benzene, toluene, xylene in blood by gas chromatography preceded by solid phase microextraction. **Journal of Chromatography B**, v. 809, p. 183-187, 2004.

ALKALDE, T. K; PERALBA, M. C. R; ZINI, C. A; CARAMÃO, E. B. Quantitative analysis of benzene, toluene, and xylenes in urine by means of headspace solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1027, p.37-40, 2004.

ANDERSON, C. E; LOOMIS, G. A. Recognition and prevention of inhalant abuse. **American Family Physician**, v.68, n. 5, p. 869-874, 2003.

APS, J. K. M; MARTENS, L. C. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. **Forensic Science International**, v.150, p. 119-131, 2005.

BALSTER, R. L; CRUZ, S. L; HOWARD, M. O; DELL, C.A; COTTLER, L. B. Classification of abused inhalants. **Addiction**, v.104, p. 878-882, 2009.

BARUA, R; CHI, L; FITZPATRICK, R; GILLARD, D; KOSTYNIK, P. J. Determination of volatile organic compounds in biological samples using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography: toluene and styrene. **Journal of Analytical Toxicology**. v.32, p. 379-386. 2008.

BAYDALA, L; Canadian Paediatric Society First Nations, Inuit and Métis Health Committee. Inhalants abuse. **Paediatric Child Health**, v.15, p. 443-448, 2010.

BERNAL, E. Determination of Volatile Substances in Forensic Samples by Static Headspace Gas Chromatograph, In: Salih B. (Eds.), **Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications**. InTech: México, cap. 10, p. 198-224, 2012.

BORILLE, B. T; FIORENTIN, T. R; COPPE, B. C; COMIRAN, E; JACQUES, A. L. B; SOUZA, T. R. V; PASA, G. G; PECHANSKY, F; CASTRO, S. M. J; LIMBERGER, R. P. Detection of ethanol in Brazilian gasoline stations attendants. **Analytical Methods**, 2015.

BOSKER, W. M; HUESTIS, M. A. Oral Fluid Testing for Drugs of Abuse. **Clinical Chemistry**, v.55, p. 1910–1931, 2009.

BOUCHE, M; LAMBERT, W. E; VAN BOCXLAER, J. F. P; PIETTE, M. H; DE LEENHEER, A. P. Quantitative determination of n-propane, iso-butane, and n-butane by headspace GC–MS in intoxications by inhalation of lighter fluid. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 26, p. 35-42, 2002.

BOWEN, S. E; DANIEL, J; BALSTER, R. L. Deaths associated with inhalant abuse in Virginia from 1987 to 1996. **Drug and Alcohol Dependence**, v.53, p. 239-245, 1999.

BOWEN, S. E; IRTENKAUF, S; HANNIGAN, J. H; STEFANSKI, A. L. Alterations in Rat Fetal Morphology Following Abuse Patterns of Toluene Exposure. **Reproductive Toxicology**, v. 27, p. 161-9, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 344 de 12 de maio de 1998. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 fevereiro, 1999.

BRASIL. Presidência da República. Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas. Drogas: cartilha sobre maconha, cocaína e inalantes, Brasília, p. 29-35, 2010.

BROUSSARD, L.A. The role of the laboratory in detecting inhalant abuse. **Clinical Laboratory Science**, v. 13, p. 205-209, 2000.

BRUNI, A. T; VELHO, J. A; OLIVEIRA, M. F. **Fundamentos de química forense uma análise prática da química que soluciona crimes**. 1. ed. São Paulo, v. 1, p. 363, 2012.

BUENO, L. H. P; DA SILVA, R. H. A; AZENHA, A. V; DIAS, M. C. DE S; DE MARTINIS, B. S. Oral fluid as an alternative matrix to determine ethanol for forensic purposes. **Forensic Science International**, v. 242, p. 117-122, 2014.

CCSA. Canadian Centre on Substance Abuse. Indian and Inuit Health Committee. Canadian Pediatric Society. **Youth volatile solvent abuse**. Ottawa. 2006.

CARLINI, E. A; GALDUROZ, J. C; NOTO, A. R; NAPPO, S. A. **II Levantamento Domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo 108 maiores cidades do país**. Centro Brasileiro sobre Drogas Psicotrópicas, CEBRID, São Paulo, 2006.

CARLINI, E. A; NOTO, A. R; SANCHEZ, Z. M. **VI Levantamento Nacional sobre o Consumo de Drogas Psicotrópicas entre Estudantes do Ensino Fundamental e Médio das Redes Pública e Privada de Ensino nas 27 Capitais Brasileiras – 2010.** Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas, Brasília – SENAD, 2010.

CARLINI-COTRIM, B. Inhalant use among Brazilian youths. In: Kozel, N; sloboda, Z; dela rosa, M. Eds. **Epidemiology of inhalant abuse: an international perspective.** NIDA Research Monograph, v.148, p. 64–78, 1995.

CARLINI-COTRIM, B; CARLINI, E. The use of solvents and other drugs among homeless and destitute children living in the city streets of São Paulo, Brazil. **Social Pharmacology**, n.2, p.51-62, 1988.

CHU, M.; GEROSTAMOULOS, D.; BEYER, J.; RODDA, L.; BOORMAN, M.; DRUMMER, O. H. The incidence of drugs of impairment in oral fluid from random roadside testing. **Forensic Science International**, v. 215, p. 28-31, 2012.

COMIRAN, E; SOUZA, D. Z; BOEHL, P. O; MARIOTTI, K. C; PECHANSKY, F; DUARTE, P. A. V; DE BONI, R. B; FRÖEHLICH, P. E; LIMBERGER, R. P. Fenproporex and Amphetamine Pharmacokinetics in OralFluid After Controlled Oral Administration of Fenproporex. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 0, p. 1-9, 2012.

CONE, E. J; HUESTIS, M. A. Interpretation of oral fluid tests for drugs of abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1098, n. 1, p. 51-103, 2007.

CORDEIRO, D. C; DIEHL, A. In: Inalantes e outras drogas de abuso. Diehl, A; Cordeiro, D. C; Laranjeira, R. **Dependência Química: Prevenção, Tratamento e Políticas Públicas**, Porto Alegre, p. 230-242, 2011.

CROUCH, D. J. Oral fluid collection: The neglected variable in oral fluid testing. **Forensic Science International**, v. 150, p. 165–173, 2005.

CSACNACH. Committee on Substance Abuse and Committee on Native American Child Health. Inhalant abuse. **Pediatrics**, v. 97, n. 3, p. 420-423, 1996.

DE MARTINIS, B. S; RUZZENE, M. A. M; MARTIN, C. C. S. Determination of ethanol in human blood and urine by automated headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 522, n. 2, p. 163-168, 2004.

DIEHL, A; CORDEIRO, D. C; RATTO, L. R. C; RAMOS, A. A. M; MARQUES, A. C. P. R; RIBEIRO, M; LARANJEIRA, R. R; ANDRADA, N. C. **Abuso e Dependência de Inalantes**. Projeto Diretrizes. Associação Brasileira de Psiquiatria, 2012.

DINWIDDIE, S. H. Abuse of inhalants: a review. **Addiction**, v. 89, p. 925-939, 1994.

DRUMMER, O. H. Drug Testing in Oral Fluid. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 27, p. 147-159, 2006.

DUJOURDY, L; BECASIER, F. Headspace profiling of cocaine samples for intelligence purposes. **Forensic Science International**, v. 179, p. 111-122, 2008.

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. **Química Nova**, v.32, p. 2401-2406, 2009.

FERRARI, M; NEGRI, S; ZADRA, P; GHITTORI, S; IMBRIANI, M. Saliva as an analytical tool to measure occupational exposure to toluene. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 81, p. 1021-1028, 2008.

FIRST, M. B; TASMAN, A. Clinical Guide to the Diagnosis and Treatment of Mental Disorders. John Wiley & Sons, West Sussex. 2 ed. p. 203-9, 2010.

FLANAGAN, R. J; STREETE, P.J; RAMSEY, J. D. Volatile substance abuse. Practical guidelines for analytical investigation of suspected cases and interpretation of results. United Nation Office on Drugs and Crime. 1997.

FORSTER, L. M. K; TANNHAUSER, M; TANNHAUSER, S. L. Toxicologia do tolueno: aspectos relacionados ao abuso. **Revista de Saúde Pública**, v. 29, n. 2, p. 167-172. 1994.

FUSTINONI, S; GIAMPICCOLO, R; PULVIRENTI, S; BURATTIA M; COLOMBI, A. Headspace solid-phase microextraction for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in urine. **Journal of Chromatography B**, v. 723, p. 105-115. 1999.

GALDURÓZ, J. C. F. Uso e abuso de drogas psicotrópicas no Brasil. **Revista IMESC**, n. 3, p. 37-42, 2001.

GALDURÓZ, J. C. F; NOTO, A. R; CARLINI, E. A. **IV Levantamento sobre o Uso de Drogas entre Estudantes de 1º e 2º Graus em 10 Capitais Brasileiras - 1997**. Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, CEBRID, São Paulo, 1997.

GALDURÓZ, J. C. F; NOTO, A. R; NAPPO, S. A; CARLINI, E. A. Trends in drug use among students in Brazil: analysis of four surveys in 1987, 1989, 1993 and 1997. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 523-531, 2004.

GALLARDO, E; QUEIROZ, J. A. The role of alternative specimens in toxicological analysis. **Biomedical Chromatography**, v. 22, p. 795–821, 2008.

GARLAND, E. L; HOWARD, M. O; VAUGHN, M. G; PERRON, B. E. Volatile Substance Misuse in the United States. **Substance Use & Misuse**, v.46, p. 8-20, 2011.

GERASIMOV, M. R; SCHIFFER, W. K; MARSTELLAR, D; FERRIERI, R; ALEXOFF, D; DEWEY, S. L. Toluene inhalation produces regionally specific changes in extracellular dopamine. **Drug and Alcohol Dependence**, v 65, p. 243-251. 2002

GHERARDI, M; GORDIANI, A; GATTO, M. Development and validation of method for analysis of some ototoxic solvents in saliva matrix by headspace gas chromatography mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 878, p. 2391-2396, 2010.

GJERDE, H; NORMANN, P. T; CHRISTOPHERSEN, A. S; SAMUELSEN, S. O; MØRLAND, J. Alcohol, psychoactive drugs and fatal road traffic accidents in Norway: a case-control study. **Accident Analysis & Prevention**, v.43, p. 1197–1203, 2011.

GOBATO, E. A. A. F; LANÇAS, F. M.; Comparação entre injeção na coluna (“on-column”) e headspace dinâmico na determinação de benzeno, tolueno e xilenos (BTX) em amostras de água. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 176-179, 2001.

GOMES, P. C. F. L; D’ANDREA, É. D; MENDES, C. M; SIQUEIRA, M. E. P. B. Determination of Benzene, Toluene and N-Hexane in Urine and Blood by Headspace

Solid-Phase Microextraction/Gas-Chromatography for the Biomonitoring of Occupational Exposure. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p.119-126, 2010.

GUBALA, W; ZUBA, D. Saliva as an alternative specimen for alcohol determination in the human body. **Polish Journal of Pharmacology**, n. 54, p. 161-165, 2002.

KURTZMAN, T. L; KIMBERLY, B. A; OTSUKA, K. N; WAHL, R. A. Inhalant abuse by adolescents. **Journal of adolescent health**, v. 28, p. 170-180, 2001.

LANGEL, K; GJERDE H; FAVRETTO, D; LILLSUNDE, P; ØIESTAD, E. L; FERRARA, S. D; VERSTRAETE, A. G. Comparison of drug concentrations between whole blood and oral fluid. **Drug Testing and Analysis**. 2013.

LEE, X. P; KUMAZAWA, T; SATO, K. A simple analysis of 5 tinier components in human body fluid by headspace solid-phase microextraction (SPME). **International Journal of Medicine**, v. 6, p. 310-313, 1995.

LIMA, D. P; DINIZA, D. G; MOIMAZA, S. A. S; SUMIDAB, D. H; OKAMOTOC, A. C. Saliva: reflection of the body. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p.184-188, 2010.

LIMBERGER, R. P; FRÖEHLICH, P. E; BOEHL, P. O; SOUZA, D. Z; ZANCANARO, I; MARIOTTI, K. C; COMIRAN, E; PRUSCH, D. S; OLIVEIRA, F. Testes toxicológicos para aferição de substâncias psicoativas em condutores. In. Pechansky F; Arruda, P. C.V; De Boni, R. B. **Uso de bebidas alcoólicas e outras drogas nas rodovias brasileiras e outros estudos**. Porto Alegre: Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas-SENAD, 121p, 2010.

MATEUS, N. B; BARBIN, D; CONAGIN, A. Viabilidade de uso do delineamento composto central. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 1537-1546, 2001.

MCGARVEY, E. L; CANTERBURY, R. J; WAITE, D. Delinquency and family problems in incarcerated adolescents with and without a history of inhalant abuse. **Addictive Behaviors**, v. 21, p. 537-542, 1996.

MOFFAT, A. C; OSSELTON, D. M; WIDDOP, B; CLARKE, E. G. C. **Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids, and postmortem material**. Pharmaceutical Press, 3 ed. v.1, 2004.

MONTEIRO, C; FRANCO, J.M; PROENCA, P; CASTANERA, 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**, 2014.

MOREAU, R. L. M; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Toxicologia Analítica**. 1.ed, v. 1, p. 318, 2008.

NASCIMENTO, A. Uso de solventes por crianças e adolescentes em situação de rua no Distrito Federal. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Brasília DF. 2009.

NIDA. National Institute on Drug Abuse. Epidemiology of Inhalant Abuse: An International Perspective. **NIDA Research Report Series**. 1995.

NIDA. National Institute on Drug Abuse. Inhalant abuse. **NIDA Drug Facts**. 2012.

NOTO, A. R; GALDURÓZ, J. C. F; NAPPO, A S; FONSECA, A. M; CARLINI, C; MOURA, Y. G; CARLINI, E. A. **Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas entre Crianças e Adolescentes em Situação de Rua nas 27 Capitais Brasileiras – 2003**. Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas, CEBRID, São Paulo, 2004.

NOVAK, A. The deliberate inhalation of volatile substances. **Journal of psychedelic drugs**, v. 12, p. 105-118, 1980.

PARK, J; MIN, J; HEO, S; LIM, M; PARK, S. W. Quantification of propane in biological materials by head-space GC. **Forensic Science International**, v.151, p. 165–170, 2005.

PEDROZO, M. F. M.; JESUS, M. G. S. Inalantes. In: Oga, S; Camargo, M. M. A; Batistuzzo, J. A. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo, 2008.

PERRON, B. E; GLASS, J. E; AHMEDANI, B. K; VAUGHN, M. G; ROBERTS, D. E; WU, L. T. The prevalence and clinical significance of inhalant withdrawal symptoms among a national sample. **Substance Abuse and Rehabilitation**, v.2, p. 69-76, 2011.

PERRON, B. E; HOWARD, M. O. **Inhalants: Extend of use and complications. Encyclopedia of drugs, alcohol and addictive behavior.** 3 ed, p.285-287, 2009.

PONTES, H; DE 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, p. 272-8. 2009.

PORTARI, G. V; MARCHINI, J. S; JORDÃO A. A. Validation of a Manual Headspace Gas Chromatography Method for Determining Volatile Compounds in Biological Fluids. **Lab Medicine**, v. 39, p. 42-45, 2008.

RAIKHLIN-EISENKRAFT, B; HOFFER, E; BAUM, Y; BENTUR, Y. Determination of urinary hippuric acid in toluene abuse. **Clinical Toxicology**, v. 39, p. 73-76, 2001.

RIBEIRO, M; MARQUES, A. C. P. R. Abuso e dependência dos solventes. Associação Brasileira de Psiquiatria, Projeto Diretrizes. 2002.

RIDENOUR, T. A. Inhalants: not to be taken lightly anymore. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 18, p. 243-247, 2005.

SAMYN, N; LALOUP, N; DE BOECK, G. Bioanalytical procedures for determination of drugs of abuse in oral fluid. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 7, p. 1437-1453, 2007.

SANTOS, M. K; BORILLE, B. T; CRUZ, G. N. F; COPPE, B. C; COMIRAN, E; KAISER, S; FROEHLICH, P. E; LIMBERGER, R. P. Extraction optimization using Box-Behnken designand method validation for ethanol in oral fluid. **Analytical Methods**, v. 6, p. 6095-6104, 2014.

SANTOS, P. P. A; IGLESIAS, D. P. P; SOUZA, E. L; FREITAS, R. A; GALVÃO, H. C. Saliva: Métodos Atuais para Coleta e Obtenção da Amostra. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Porto Alegre, v. 48, p. 95-98, 2007.

SOFT/AAFS. Society of Forensic Toxicologists e American Academy of Forensic Sciences. **Forensic Toxicology Laboratory Guidelines.** 2006.

SOUZA, D. Z. **Determinação de estimulantes anfetamínicos no fluido oral: Especificidade dos métodos de triagem e análise confirmatória.** Dissertação

(Mestrado). 2010. Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SOUZA, D. Z; BOEHL, P.O; COMIRAN, E; MARIOTTI, K. C; PECHANSKY, F; DUARTE, P. C. A. V; DE BONI, R. B; FROEHLICH, P. E; LIMBERGER, R. P. Determination of amphetamine-type stimulants in oral fluid by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.696, p. 67-76, 2011.

SPIEHLER, V; COOPER, G. Drugs-of-abuse testing in saliva or oral fluid. In: Jenkins, A.J. (ed.) Drug Testing in Alternate Biological Specimens. Series: Forensic science and medicine. Humana Press: Totowa, NJ, USA, p. 83-99, 2008.

SPINELLI, E. **Vigilância Toxicológica: comprovação do uso de álcool e drogas através de testes toxicológicos**. Editora: Interciência. Rio de Janeiro, 2004.

TEGERIS, J. S; BALSTER, R. L. A comparison of the acute behavioral effects of alkylbenzenes using a functional observational battery in mice. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 22, p. 240-250, 1994.

THIESEN, F. V. **Diagnóstico laboratorial do consumo de inalantes a base de tolueno: um estudo entre adolescentes de rua de Porto Alegre, RS**. Tese (Doutorado). Escola Paulista de Medicina. São Paulo. 2005.

TISCIONE, N. B; YEATMAN, D. T; SHAN, X; KAHL, J. Identification of Volatiles by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame Ionization and Mass Spectrometric Detection. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 37, p. 573–579, 2013.

UZUN, N; KENDIRLI, Y. Clinical, socio-demographic, neurophysiological and neuropsychiatric evaluation of children with volatile substance addiction. **Child: Care, Health and Development**, v. 31, p. 425-432, 2005.

WASFI, I. A; AL-AWADHI, A. H; AL-HATALI, Z. N; AL-RAYAMI, F. J. Rapid and sensitive static headspace gas chromatography–mass spectrometry method for the analysis of ethanol and abused inhalants in blood. **Journal of Chromatography B**, v. 799, n.2, p. 331-336, 2004.

WEIR, E. Inhalant use and addiction in Canada. **CMAJ**, v. 164, n. 3, p. 397, 2001.

WILLE, S; LAMBERT, W. Volatile substance abuse - post-mortem diagnosis. **Forensic Science International**, v. 142, p.135-156, 2004.

WILLIAMS, J. F; STORCK, M. Committee on Substance Abuse and and Committee on Native American Child Health. Inhalant abuse. **Pediatrics**, v. 119, p.1009-1017, 2007.

WHO. World Health Organization. Neuroscience of psychoactive substance use and dependence. Switzerland. 2004.

YONAMINE, M. **A saliva como espécime biológico para monitorar o uso de álcool, anfetamina, metanfetamina, cocaína e maconha por motoristas profissionais.** Tese (Doutorado). 2004. Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Universidade de São Paulo.

ZANCANARO, I; LIMBERGER, R. P; BOHEL, P. O; SANTOS, M. K; DE BONI, R. B; PECHANSKY, F; CALDAS, E. D. Prescription and illicit psychoactive drugs in oral fluid-LC-MS/MS method development and analysis of samples from Brazilian drivers. **Forensic Science International**, v. 223, p. 208-216, 2012.

ZUBA, D; PARCZEWSKIA, A; REICHENBACHER, M. Optimization of solid-phase microextraction conditions for gas chromatographic determination of ethanol and other volatile compounds in blood. **Journal of Chromatography B**, v.773, p. 75–82, 2002.