



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

MARILIA SANTORO CARDOSO

ANÁLISE TOXICOLÓGICA DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM CABELO:
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO E APLICAÇÃO NA INVESTIGAÇÃO DE
TENTATIVAS DE SUICÍDIO ATENDIDAS EM UNIDADE DE EMERGÊNCIA DE
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

CAMPINAS

2020

MARILIA SANTORO CARDOSO

ANÁLISE TOXICOLÓGICA DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM CABELO:
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO E APLICAÇÃO NA INVESTIGAÇÃO DE
TENTATIVAS DE SUICÍDIO ATENDIDAS EM UNIDADE DE EMERGÊNCIA DE
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Mestra em Farmacologia.

ORIENTADOR: PROFESSOR DOUTOR JOSÉ LUIZ DA COSTA

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO/TESE DEFENDIDA PELO
ALUNA MARILIA SANTORO CARDOSO, E ORIENTADA
PELO PROF. DR. JOSÉ LUIZ DA COSTA.

CAMPINAS

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

C179a Cardoso, Marília Santoro, 1994-
Análise toxicológica de substâncias psicoativas em cabelo :
desenvolvimento de método e aplicação na investigação de tentativas de
suicídio atendidas em unidade de emergência de hospital universitário / Marília
Santoro Cardoso. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: José Luiz da Costa.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Ciências Médicas.

1. Cabelo. 2. Tentativa de suicídio. 3. Transtornos relacionados ao uso de
substâncias. 4. Detecção do abuso de substâncias. 5. Cromatografia líquida. 6.
Espectrometria de massas. I. Costa, José Luiz da, 1978-. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Method development for determination of drugs of abuse in hair
analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Palavras-chave em inglês:

Hair

Suicide, Attempted

Substance-Related disorders

Substance Abuse Detection

Chromatography, Liquid

Mass spectrometry

Área de concentração: Farmacologia

Titulação: Mestra em Farmacologia

Banca examinadora:

José Luiz da Costa [Orientador]

Carla Beatriz Grespan Bottoli

Marina Franco Maggi Tavares

Data de defesa: 20-02-2020

Programa de Pós-Graduação: Farmacologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-4558-3209>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8359243311002903>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

MARILIA SANTORO CARDOSO

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ LUIZ DA COSTA

MEMBROS TITULARES:

1. PROF. DR. JOSÉ LUIZ DA COSTA

2. PROF.^a DR.^a CARLA BEATRIZ GRESPAN BOTTOLI

3. PROF.^a DR.^a MARINA FRANCO MAGGI TAVARES

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 20/02/2020

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. José Luiz da Costa por todo o ensinamento nestes anos trabalhando juntos. Sou muito grata por ser tão presente e pronto a ajudar.

À minha namorada, Ana Carolina, que me ajudou, me apoiou, me reergueu e confortou várias vezes com muita paciência e compreensão. Obrigada por estar do meu lado nos dias bons e ruins.

Ao Rafael Lanaro, pelo incentivo no começo do mestrado e deste projeto, e claro, por toda ajuda na elaboração do mesmo.

Aos meus pais e meus familiares por sempre me apoiarem nas minhas decisões profissionais e entenderem a minha ausência devido a dedicação a este trabalho.

Aos meus amigos, Mariana, Caroline, Renata, Renato, Thaylise, Fernanda, Pamela por torcerem por mim, pelos momentos bons de distração e todo o carinho.

As minhas amigas do laboratório, Izabelly, Aline, Kelly e Taís por sempre me apoiarem falando que tudo ia dar certo, por me confortarem nos piores momentos e pelos momentos relaxantes que tivemos juntas.

À Profa. Dra. Karina Diniz Oliveira pela concessão deste trabalho, por todo auxílio e apoio dedicado à este trabalho.

Aos colaboradores, Damila e Raul por todo auxílio para elaboração deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Análise toxicológica de substâncias psicoativas em cabelo: desenvolvimento de método e aplicação na investigação de tentativas de suicídio atendidas em unidade de emergência de hospital universitário

O cabelo é um importante amostra biológica para evidenciar exposição progressiva às substâncias e pode ser utilizada como uma matriz alternativa ou complementar nas análises toxicológicas. O suicídio é um dos principais problemas de saúde pública, somando aproximadamente oitocentas mil mortes ao ano no mundo. Além disso, a cada suicídio consumado, outros vinte indivíduos estariam tentando cometê-lo. No presente trabalho, um método analítico foi desenvolvido, validado e aplicado na análise de amostras de cabelo coletadas de pacientes que tentaram suicídio e receberam atendimento no Hospital de Clínicas da UNICAMP, entre os anos de 2017 e 2018. O método desenvolvido permitiu a análise de morfina, codeína, 6-acetilmorfina, anfetamina, metanfetamina, femproporex, dietilpropiona, mazindol, MDA, MDMA, benzoilecgonina, cocaína, cocaetileno, éster metilecgonina, éster metilanidroecgonina (AEME) e THC. As amostras de cabelo foram extraídas utilizando pulverização, metanol como solvente extrator e sonicação sob aquecimento, sendo posteriormente analisadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial. Durante a validação, o método atendeu aos critérios recomendados internacionalmente para análise de drogas em cabelo, apresentando limites de detecção entre 2,5 e 50 pg/mg e linearidade entre 25 e 10.000 pg/mg. O método apresentou boa especificidade quando desafiado na presença de outras 41 substâncias (possíveis interferentes exógenos), e seletivo quando amostras de cabelo de diferentes doadores não usuários de substâncias psicoativas foram analisadas. A imprecisão foi melhor que 17,5%, inexatidão melhor que 7,5% e efeito matriz melhor que -16,7% para todos os analitos. Não foi observada contaminação cruzada (*carryover*). Das substâncias investigadas, apenas a AEME não atingiu valores aceitáveis de imprecisão e inexatidão, sendo investigada apenas de forma qualitativa. Foram analisadas 109 amostras de cabelo, sendo cada amostra seccionada em até cinco segmentos de 1,5 centímetros, totalizando 404 segmentos. Do total de amostras analisadas, 30,3% apresentaram resultado positivo para pelo menos uma substância psicoativa (SPA, $n=33$), dentre elas: cocaína (90,9%), codeína (12,1%), morfina

(3,0%), MDMA (3,0%) e THC (3,0%). Na análise segmentar das amostras positivas para cocaína ($n=30$), 76,7% das amostras indicaram exposição recente à substância (aproximadamente 1 mês), uma vez que foi detectada a presença do analito no segmento proximal. Esse mesmo comportamento foi observado quando as amostras positivas para codeína ($n=4$) e morfina ($n=1$) foram analisadas. Para THC e MDMA, a análise segmentar foi positiva para segmentos menos recentes, indicando uso há 4 e 3 meses, respectivamente. Em conclusão, o método foi validado seguindo parâmetros recomendados internacionalmente para doze das principais substâncias psicoativas consumidas no país, além de dois metabólitos mais comumente encontrados. O método foi ainda aplicado para análise de amostras de cabelo de pacientes que tentaram suicídio, no qual demonstrou positividade em 30,3 % do total de amostras analisadas para pelo menos uma SPA, com maior frequência para cocaína. Na análise segmental das amostras positivas pôde-se observar uma maior frequência na exposição recente à substância (aproximadamente 1 mês).

Palavras-chave: Cabelo; Tentativa de Suicídio; Transtornos Relacionados ao Uso de Substâncias; Detecção do Abuso de Substâncias; Cromatografia Líquida; Espectrometria de Massas.

ABSTRACT

Toxicological analysis of psychoactive substances in hair: development method and application in the investigation suicide attempts of attended at university hospital emergency units

Hair is an important biological sample to reveal chronic exposure to substances and can be used as an alternative or complementary matrix in toxicological analyzes. Suicide is one of the major public health problems accounting approximately eight hundred thousand worldwide deaths per year. In addition, for each consummated suicide, twenty other individuals are trying to commit it. In the present work, an analytical method was developed, validated and applied in hair samples collected from patients who attempted suicide and attended at University of Campinas Hospital (2017-2018). The method was developed for the following analytes: morphine, codeine, 6-acetylmorphine, amphetamine, methamphetamine, fenproporex, diethylpropion, mazindol, MDA, MDMA, benzoylecgonine, cocaine, cocaethylene, ecgonine methyl ester, anhydroecgonine methyl ester (AEME) and THC. Hair samples were extracted using methanol and sonicated under heating, and then analyzed using liquid chromatography tandem mass spectrometry. During validation, the method attended to international recommended criteria, with limits of detection between 2.5 and 50 pg/mg and linearity between 25 and 10,000 pg/mg. The method showed good specificity in the presence of 41 other substances (possible exogenous interferents) and selectivity when analyzed in different matrices. Imprecision was better than 17.5%, bias was better than 7.5% and matrix effect was better than -16.7% for all analytes. No carryover was observed. Among all investigated substances, only AEME did not reach acceptable values of imprecision and bias, which was validated only qualitatively. A total of 109 hair samples were analyzed, each segment had up to five parts of 1.5 cm, involving 404 segments. Between all samples analyzed, 30.3% were positive for at least one psychoactive substance (PSA, $n = 33$), such as: cocaine (90.9%), codeine (12.1%), morphine (3.0%), MDMA (3.0%) and THC (3.0%). In segmental analysis of cocaine positive samples ($n = 30$), 76.7% of the samples indicated recent exposure to cocaine (about 1 month), considering the substance was detected in the proximal segment. This same behavior was observed when analyzing codeine ($n = 4$) and

morphine ($n = 1$) positive samples. For THC and MDMA, the segmented analysis was positive for less recent segments, indicating that drug use happened 4 and 3 months ago, respectively. In conclusion, the method was validated following international recommendations for twelve of the main psychoactive substances consumed in the country, as well as two of most common found metabolites. Then, the method was also applied to hair analysis of patients who attempted suicide, which demonstrated positivity in 30.3% of the total samples analyzed for at least one PSA, with a higher frequency of cocaine. In the segmented analysis of the positive samples, it was possible to observe a greater frequency in the recent exposure of the substance (approximately 1 month).

Keywords: Hair; Suicide, Attempted; Substance-Related Disorders; Substance Abuse Detection; Chromatography, Liquid; Mass Spectrometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação da estrutura capilar. Fonte: Adaptado de (6).	18
Figura 2 - Representação das fases de desenvolvimento do cabelo. Fonte: Adaptado de (6).....	19
Figura 3 - Representação dos meios de incorporação, através da passagem pela corrente sanguínea (1), pelas glândulas sudoríparas e sebáceas (2) e pela contaminação externa (3). Fonte: Adaptado de (6).	20
Figura 4 - Representação estrutural do tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC).....	27
Figura 5 - Biotransformação da cocaína. Fonte: (47).	30
Figura 7 - Representação estrutural da anfetamina, metanfetamina, 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), metilenodioximetanfetamina (MDMA), mazindol, dietilpropiona e femproporex.....	31
Figura 8 – Representação do esqueleto químico básico da β -fenetilamina e seus derivados.....	31
Figura 9 - Representação estrutural da morfina.	35
Figura 10 - Representação estrutural da codeína.	36
Figura 11 - Representação estrutural da heroína (A) e seu principal metabólito, 6-acetilmorfina (B).	36
Figura 12 - Fotografia de amostras de cabelo pulverizada em condições diferentes. A: Tesoura; B: 5 ciclos de 40 s de agitação, com intervalo de 120 s; C: 10 ciclos de 25 s de agitação, com e intervalos de 60 s.	49
Figura 13 - Avaliação da influência do tempo de extração sobre a área relativa de THC, cocaína e benzoilecgonina. Condição do teste: 20 mg amostras reais positivas para THC e cocaína, submetidas a incubação com 380 μ L de metanol, a 45 $^{\circ}$ C no termobloco sob agitação mecânica (750 rpm) e analisadas por até doze horas (média da análise de duas réplicas).....	50
Figura 14 - Avaliação da influência do tipo de agitação sobre a extração de THC, cocaína e seus produtos de biotransformação. Condição do teste: incubação em termobloco com agitador mecânico (750 rpm) e banho ultrassônico (33 kHz), durante duas horas à 45 $^{\circ}$ C ($n = 4$) em amostras reais positivas para THC, COC e seus metabólitos (benzoilecgonina e cocaetileno).....	51

Figura 15 - Cromatograma de íons extraídos de amostra de cabelo negativo (de indivíduo não usuário de SPA) adicionado de padrões na concentração do limite de quantificação e submetido ao método desenvolvido. Condições analíticas, vide item 3.	52
Figura 16 - Cromatograma obtido do resultado positivo para cocaína e seus metabólitos (AEME, cocaetileno e benzoilecgonina) do segmento 40 D.	64
Figura 17 - Cromatograma obtido do resultado positivo para cocaína e seus metabólitos (AEME, cocaetileno e benzoilecgonina) do segmento 13 D.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações finais (em ng/mg) dos analitos nos calibradores (Cal 1 a 6) e dos controles baixo (CQB) e alto (CQA) no cabelo.	39
Tabela 2 - Condições otimizadas das transições para análise de 15 substâncias (e 8 padrões internos, PI) em amostras de cabelo usando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS).....	43
Tabela 3 - Variação aceitável em função da intensidade relativa dos íons (quantificador e qualificador) para cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. Fonte: (55).....	45
Tabela 4 - Recomendação de valores de corte da Sociedade Europeia de Testagem de Drogas no Ambiente de Trabalho (<i>European Workplace Drug Testing Society - EWDTS</i>) na análise de confirmação para testagem em cabelo.	46
Tabela 5 - Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ).	51
Tabela 6 - Resultados referentes à linearidade do método, apresentação dos fatores de ponderação e a distribuição estrutural de cada analito.	53
Tabela 7 - Resultados da validação do método (imprecisão intra e inter-dia, inexatidão e efeito matriz), avaliados em dois níveis de concentração*.....	55
Tabela 8 - Representação do comparativo entre os meios utilizados na tentativa de suicídio e o gênero.....	56
Tabela 9 – Resultados das amostras de cabelo dos pacientes investigados que apresentaram resultado positivo para cocaína quando analisadas com o método proposto.	58
Tabela 10 - Interpretação dos resultados de amostras positivos para cocaína utilizando a razão metabólito/analito original.....	61
Tabela 11 - Resultados das amostras de cabelo dos pacientes investigados que apresentaram resultado positivo para THC, codeína, MDMA ou morfina quando analisadas com o método proposto.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Δ^9 -THC - Δ^9 -Tetrahydrocannabinol

2AG - 2-araquidonoilglicerol

6-MAM - 6-acetilmorfina

AEME - Éster metilanidroecgonina

ANOVA – Análise de Variância (do inglês, *analysis of variance*)

BZE - Benzoilecgonina

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CIATox - Centro de Informação e Assistência Toxicológica

CID - Classificação Internacional de Doenças da Organização Mundial da Saúde

CG-DIC - Cromatografia gasosa com detecção por ionização de chamas

CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

COC - Cocaína

COE - Cocaetileno

DMA - 2,5-dimetoxianfetamina

DOB - 4-bromo-2,5-dimetoxianfetamina

DOET - 2,5-dimetóxi-4- etilanfetamina

DOM - 2,5-dimetóxi-4-metilanfetamina

DPR - Desvio padrão relativo

EAE - Anandamida ou N-araquidonoil etanolamina

EME - Éster metilecgonina

ESI - ionização por *electrospray* (do inglês, *electrospray ionization*)

EWDTs - Sociedade Europeia de Testagem de Drogas no Ambiente de Trabalho (do inglês, *European Workplace Drug Testing Society*)

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz

HIV - Vírus da imunodeficiência humana (do inglês *Human Immunodeficiency Virus*)

LC-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (do inglês, *liquid chromatography tandem mass spectrometry*)

LD - Limite de detecção

LQ - Limite de quantificação

MAO – Monoamina oxidase

MDA - 3,4-metilenodioxianfetamina

MDEA - 3,4-metilenodioxietilamfetamina

MDMA – 3,4-metilenodioximetamfetamina

MMDA - 3-metóxi-4,5-metilenodioxianfetamina

MRM - Monitorização de reações múltiplas

NCOC - Norcocaína

PI - Padrão Interno

PMA - Parametoxianfetamina

PMMA - Parametoximetamfetamina

SBTOx – Sociedade Brasileira de Toxicologia

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SNC - Sistema nervoso central

SOHT - Sociedade de Testagem de Cabelo (do inglês, *Society of Hair Testing* – SOHT)

SPA - Substâncias psicoativas

SWGTOX - Grupo de Trabalho Científico para Toxicologia Forense (do inglês, *Scientific Working Group for Forensic Toxicology*)

THC - Δ^9 -tetrahydrocannabinol

THC-COOH – 11-nor-9-carboxi- Δ^9 - tetrahydrocannabinol

TMA - 3,4,5-trimetoxianfetamina

UNODC - Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (do inglês, *United Nations Office on Drugs and Crime*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. CABELO	18
<i>Fases de crescimento do cabelo</i>	19
<i>Meios de incorporação de substâncias exógenas no cabelo</i>	19
<i>Análise toxicológica em cabelo</i>	21
1.2. SUICÍDIO E O USO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS	23
<i>Suicídio</i>	23
<i>Substâncias psicoativas</i>	25
<i>Principais substâncias psicoativas consumidas no Brasil</i>	25
<i>Cannabis</i>	26
<i>Cocaína</i>	28
<i>Anfetaminas</i>	30
<i>Opioides</i>	33
1.2.1.1. <i>Morfina</i>	35
1.2.1.2. <i>Codeína</i>	35
1.2.1.3. <i>Heroína</i>	36
2. OBJETIVO	36
3. MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1. MATERIAL	37
<i>Padrões, produtos químicos e reagentes</i>	37
<i>Preparação das soluções padrão</i>	37
<i>Amostras</i>	39
3.2. MÉTODOS	40
<i>Desenvolvimento do método</i>	40
3.2.1.1. <i>Estudo de diferentes condições na pulverização cabelo</i>	40
3.2.1.2. <i>Estudo da influência do tempo de incubação</i>	41
3.2.1.3. <i>Estudo influência do tipo de agitação</i>	41
<i>Preparo de amostra</i>	41
3.3. INSTRUMENTAÇÃO	42
3.4. VALIDAÇÃO DO MÉTODO	44

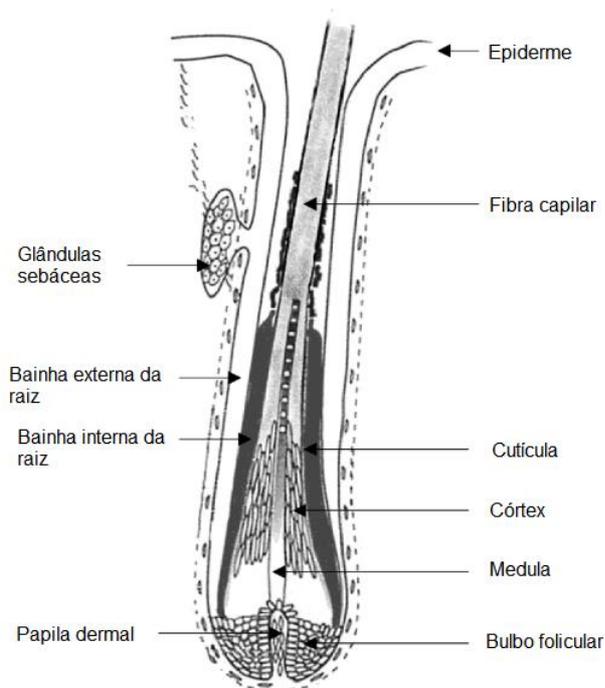
<i>Critérios de identificação</i>	45
<i>Limite de quantificação e detecção</i>	45
<i>Linearidade</i>	45
<i>Verificação do cut-off</i>	46
<i>Estudo de interferentes</i>	47
3.4.1.1. Seletividade.....	47
3.4.1.2. Especificidade.....	47
<i>Exatidão</i>	47
<i>Imprecisão</i>	47
<i>Efeito matriz</i>	48
<i>Carryover</i>	48
<i>Estabilidade</i>	49
4. RESULTADOS	49
4.1. DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO.....	49
<i>Estudo de diferentes condições na pulverização da amostra</i>	49
<i>Estudo da influência do tempo de extração</i>	50
<i>Estudo influência do tipo de agitação</i>	50
4.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO.....	51
4.3. APLICAÇÃO DO MÉTODO DESENVOLVIDO NA ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS.....	56
5. DISCUSSÃO	65
6. CONCLUSÃO	70
7. REFERÊNCIAS	71
8. ANEXO	78
ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP).....	78
ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AO PACIENTE.....	79
ANEXO 3 - QUESTIONÁRIO SÓCIO DEMOGRÁFICO.....	82
ANEXO 4 - ESCALA DE BECK DE INTENCIONALIDADE SUICIDA.....	104
ANEXO 5 - ÍNDICE DE BEM-ESTAR DA OMS.....	107
ANEXO 6 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA RESIDUAL DA LINEARIDADE, APÓS A ESCOLHA DO MODELO HETEROSCEDÁSTICO ($1/x^2$, $R^2 > 0,997$) E ELIMINAÇÃO DE OUTLIERS PELO TESTE DE GRUBBS.....	108

1. INTRODUÇÃO

1.1. Cabelo

O cabelo é uma matriz biológica complexa, quimicamente composta por proteínas (65 - 95 %, essencialmente queratina), água (15 - 35 %), lipídeos (1 - 9 %, sebo e secreção das glândulas sebáceas e sudoríparas) e minerais (0,25 - 0,95 %) (1-4), dividido em três principais camadas: cutícula (camada externa), córtex (composto por queratina e outras proteínas) e medula (camada interna do folículo) (5). O cabelo é composto por um fio queratinizado que cresce a partir de uma cavidade da pele chamada folículo, na qual se estende através das camadas da pele (derme e epiderme) até sua superfície cercado de músculos, glândulas sebáceas e sudoríparas, cobrindo grande parte da extensão do corpo humano (1,5). O cabelo tem como finalidade proteger a cabeça dos raios solares através da presença da melanina, a qual também dá coloração ao cabelo e é sintetizada pelos melanócitos localizados na papila dermal e depois transferidas por migração celular para o bulbo folicular (5). A estrutura capilar está representada na Figura 1.

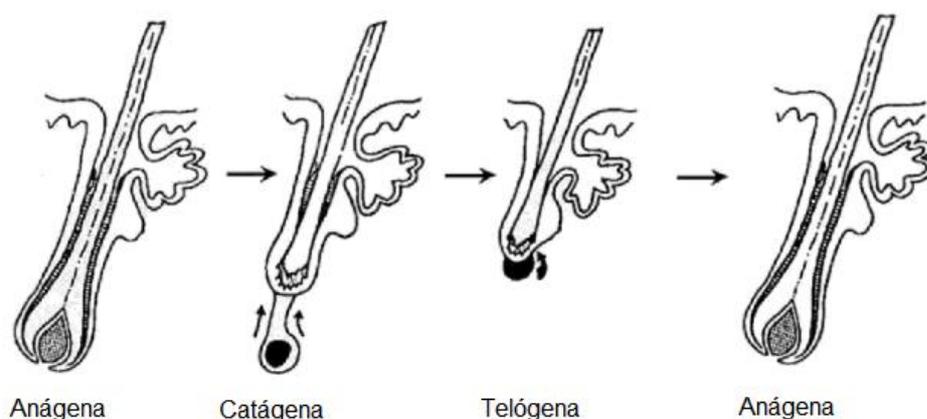
Figura 1 - Representação da estrutura capilar. Fonte: Adaptado de (6).



Fases de crescimento do cabelo

Cada fio cresce individualmente em três fases de desenvolvimento (Figura 2). O ciclo começa com a fase anágena considerada um período de desenvolvimento e crescimento com duração de 7 a 94 semanas, dependendo da região anatômica. Acredita-se que aproximadamente 85 % dos fios se encontram nesta fase. A fase catágena é um período de transição que dura apenas algumas semanas e abrange apenas 1 % dos fios. Nesta fase, o bulbo folicular se encontra inativo e a papila dermal se contrai conforme o folículo se aproxima da fase telógena, a última fase, considerada a fase de inatividade do fio. Logo após a fase telógena, um novo ciclo se inicia (1,3–5). A taxa de crescimento dos cabelos depende da duração de suas fases de desenvolvimento, do tipo de cabelo e da localização anatômica (1,4). O cabelo da cabeça é produzido por cerca de 4 à 8 anos com uma taxa de aproximadamente 0,6 à 1,4 cm por mês, e os pelos corporais demoram menos de 6 meses para serem produzidos, possuindo uma taxa de crescimento de 0,22 à 0,52 mm por mês (3,4).

Figura 2 - Representação das fases de desenvolvimento do cabelo. Fonte: Adaptado de (6).



Meios de incorporação de substâncias exógenas no cabelo

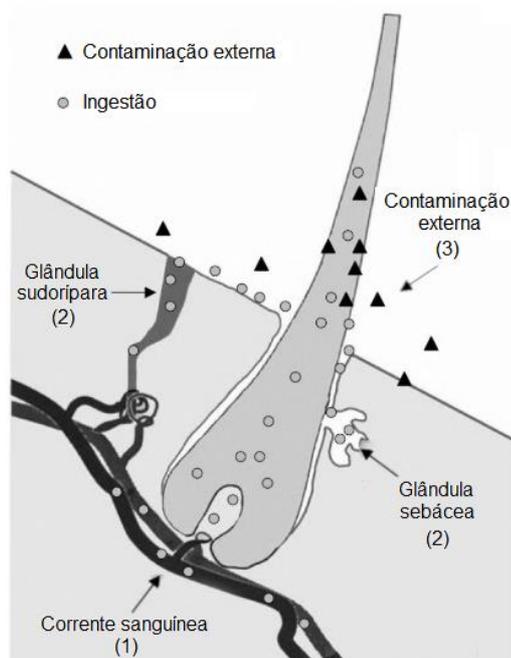
O mecanismo de incorporação das substâncias no cabelo não é muito bem elucidado na literatura (7). Entretanto, quando uma substância deposita-se no cabelo, não existe metabolismo e excreção para removê-la (1,3–5,8). Acredita-se que a incorporação aconteça na fase anágena de crescimento, onde há um aumento da atividade metabólica e uma rápida divisão celular (9).

Diferentes hipóteses têm surgido para tentar explicar o perfil das substâncias observadas no cabelo. A proposta mais simplificada envolve a difusão passiva das substâncias no sangue para o folículo capilar. Com a difusão passiva, é esperado que no momento da síntese do cabelo haja uma correlação entre a concentração das substâncias no cabelo e no sangue. Entretanto, isso não explica a diferença do perfil das substâncias e seus metabolitos encontrados nestas duas matrizes.

Outra hipótese sugere que a incorporação aconteça pela transferência das substâncias do corpo para o cabelo durante as fases do ciclo de crescimento capilar. Neste modelo, a incorporação pode ocorrer por difusão passiva ou ativa através da corrente sanguínea durante a síntese do cabelo, por difusão de secreções (sebácea e sudorípara) após a formação do cabelo e/ou contaminação externa após seu desenvolvimento (6,7,9). Os meios de incorporação estão representados na Figura 3.

Alguns fatores que podem influenciar a incorporação no cabelo estão ligados à substância, dentre eles: a propriedade físico-química, lipofilicidade, pKa, estrutura, tamanho, capacidade de ligação a proteínas e afinidade com a melanina (9).

Figura 3 - Representação dos meios de incorporação de substâncias no cabelo, através da passagem pela corrente sanguínea (1), pelas glândulas sudoríparas e sebáceas (2) e pela contaminação externa (3). Fonte: Adaptado de (6).



A incorporação pela corrente sanguínea ocorre através da deposição das substâncias e seus produtos de biotransformação livres no cabelo por meio da difusão passiva das artérias capilares para as células da base do folículo capilar. Isso aconteceria devido à vasta irrigação do folículo por uma densa rede de capilares, conseqüente de uma rápida divisão celular na formação capilar. A taxa de difusão das substâncias está relacionada à solubilidade lipídica da molécula e pode ser afetada pelo gradiente de pH entre o plasma e a célula (9,10).

Outra teoria para incorporação pela corrente sanguínea, estaria na passagem por difusão das substâncias (com propriedade de base fraca) da corrente sanguínea para dentro dos queratinócitos e melanócitos. Essa passagem, favorecida pelo gradiente de pH (plasma – pH 7,3, queratinócitos e melanócitos - pH 3,0 - 6,0), tornaria as moléculas, predominantemente, em suas formas ionizadas, dificultando sua difusão de volta para o sangue (9,10).

A incorporação pode ocorrer ainda através de secreções de glândulas pois, à medida que crescem, o folículo e o fio capilar são banhados por secreções produzidas por glândulas sudoríparas e sebáceas contendo em sua composição substâncias excretadas pelo corpo. O fato de essas substâncias entrarem em contato com cabelo desde a fase anágena, favorece a incorporação dessas substâncias no fio (9,10).

A contaminação externa do cabelo é possível por duas vias: exposição passiva ou direta. Em ambas, o indivíduo não fez uso da substância, mas esteve em um ambiente onde outros indivíduos o fizeram. A exposição direta acontece através do manuseamento de alguma substância (ou contato físico com uma superfície contaminada) seguido de contato com o cabelo. E na exposição de forma passiva, o usuário se encontra em um ambiente onde as substâncias são consumidas próximas à ele, por exemplo estar em um local onde outras pessoas fumam maconha (9).

Para redução de erros na interpretação de resultados, a monitorização de produtos de biotransformação e dos valores de corte são muito úteis, embora não os elimine totalmente (10,11).

Análise toxicológica em cabelo

A primeira análise toxicológica realizada em amostras de cabelo foi reportada por Goldblum, em 1954, que determinou concentrações de barbitúricos em

pelos de porquinho-da-índia (7). Em 1979, Baumgartner detectou opiáceos no cabelo de usuários de heroína, através de extração com metanol e uso de radioimunoensaio (6). Desde então, a análise nesta matriz auxilia vários campos da toxicologia, pois além de detectar xenobióticos (drogas de abuso, medicamentos, contaminação do meio ambiente, etc.), pode ser utilizada como uma matriz alternativa ou complementar para confirmação de exposição à substâncias nas áreas da ciência forense, medicina ocupacional, medicina do trânsito, toxicologia clínica e avaliação do consumo de drogas em centros de reabilitação (1,2,4,5,12,13).

Quando comparado a amostras biológicas mais utilizadas (urina e sangue), o cabelo possui várias vantagens, dentre elas: grande janela de detecção, fornecendo evidência de exposição crônica (semanas a meses); coleta fácil, não invasiva (sem necessidade de agulhas, traumas ou dor) e que pode ser supervisionada sem constrangimentos (diferentemente da urina); menor risco de adulteração; fácil armazenamento e transporte, sem necessidade de refrigeração, congelamento ou adição de preservantes, além de garantir a estabilidade das substâncias (1,2,4,5,8,14). Por essas razões, o cabelo é a matriz de escolha e a principal empregada para monitorar uso indevido de drogas, para investigações criminais (como crime facilitado por drogas e de proteção à criança) e para casos de morte relacionada com uso prévio de drogas (2).

Entretanto, o cabelo também possui desvantagens, sendo a principal delas a susceptibilidade dos analitos incorporados aos efeitos dos tratamentos cosméticos capilares como permanente, coloração, descoloração e alisamentos (8).

Para diferenciar a exposição involuntária (ou contaminação externa) do uso de drogas, é recomendado a adoção de valores de corte (em inglês, *cut offs*) como os propostos por entidades especializadas, como por exemplo a Sociedade Brasileira de Toxicologia (SBTOx), a Sociedade de Testagem em Cabelo (em inglês, *Society of Hair Testing* – SOHT), a Sociedade Europeia de Testagem de Drogas no Ambiente de Trabalho (em inglês, *European Workplace Drug Testing Society* - EWDTs), dentre outras (8,15). Recomenda-se que a interpretação dos resultados ocorra pela identificação dos seus respectivos metabólitos:

- Para confirmação do consumo de cocaína é recomendado a identificação de pelo menos dois de seus metabólitos (benzoilecgonina e/ou cocaetileno e/ou AEME);

- Para confirmação do consumo de heroína, 6- acetilmorfina e morfina devem ser identificados;
- Para confirmação do consumo de metanfetamina, a anfetamina deve ser identificada;
- Para confirmação do consumo de *ecstasy* (MDMA), o MDA deve ser identificado (15).

Em seguida, para complementar o resultado, frequentemente, é realizada a razão entre o produto de biotransformação e o analito original, para determinação do consumo de cocaína, a razão da benzoilecgonina/cocaína deve ser superior à 0,05. Para determinação do consumo de heroína, raramente detectada no cabelo, é sugerido uma razão de 6-MAM/morfina maior que 1,3 (1). Para determinação do consumo de metanfetamina e MDMA, a razão da anfetamina/metanfetamina e MDA/MDMA devem estar entre 0,004 - 1,16 e 0,01 - 1,10, respectivamente (16).

Na análise toxicológica em cabelo, a primeira parte do processo consiste na lavagem da amostra para descontaminação, na qual recomenda-se a combinação de detergentes em solução aquosa e/ou solventes orgânicos. Nesta etapa, os resíduos externos nas superfícies do cabelo (produtos capilares, suor, sebo e sujeira) e possíveis contaminações externas de drogas presentes no meio ambiente que se depositam no cabelo (incluindo a possibilidade da contaminação da amostra dentro do laboratório) são removidas para melhorar a recuperação da extração (1,3,14).

Para analisar as drogas no cabelo, técnicas analíticas sensíveis são necessárias devido às baixas concentrações na qual as substâncias são encontradas (frequentemente na ordem de picogramas por miligrama) e por dependerem, principalmente, da quantidade de substância consumida, do metabolismo do analito, da cor do cabelo, posição ao longo do cabelo (distância da raiz), porcentagem de cabelo na fase anágena e telógena, e polaridade da droga (15). As técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas são as principais ferramentas instrumentais utilizadas para a identificação e quantificação de substâncias no cabelo, por aliarem alta sensibilidade e especificidade (2,4).

1.2. Suicídio e o uso de substâncias psicoativas

Suicídio

O suicídio é um dos principais problemas de saúde pública mundial, considerada a segunda maior causa de morte entre indivíduos de 15 a 29 anos. A

cada ano, cerca de 800.000 pessoas morrem desta forma, e há indicações de que para cada suicídio consumado, mais de 20 pessoas estariam tentando cometê-lo (17). Geralmente, a prevalência da tentativa de suicídio é maior entre as mulheres comparada aos homens. Isso se dá pelo fato de que os métodos mais letais de suicídios são mais comuns entre o sexo masculino, gerando um aumento da taxa de mortalidade deste grupo (18).

A escolha do meio de suicídio varia dentre diferentes grupos demográficos e conforme a disponibilidade e acessibilidade do método. Por exemplo, em países com grande população rural, a intoxicação por ingestão de praguicidas é o método mais comum devido ao fácil acesso a estas substâncias, somando cerca de um quinto dos suicídios no mundo. Em grandes áreas urbanizadas, é mais comum se atirar de prédios como meio de suicídio (17,18).

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foram notificados 1.173.418 casos de tentativas de suicídio por violências interpessoais ou autoprovocadas no Brasil entre 2011 e 2016, com predominância em mulheres de 10 a 39 anos e centralizados na região Sudeste (19).

Outro estudo realizado no município de Campinas investigou a quantidade de pessoas que ao longo da vida possuíam ideação suicida, planejamento para cometê-lo e quantas consumaram o suicídio. Apurou-se então que, ao longo da vida, 17 % das pessoas pensaram em cometer suicídio, 5 % chegaram a elaborar um plano, e 3 % efetivamente tentaram o suicídio. Dos 3 % que tentaram suicídio, apenas 1 % foi atendido em um pronto-socorro logo após a tentativa (20).

Estes números são uma expressão da interação de fatores biológicos, psicológicos, sociais, ambientais e culturais que aumentam a vulnerabilidade do indivíduo ao comportamento suicida. Tais fatores de risco estão ligados à comunidade, como: guerras e desastres, tensões de aculturação, discriminação, sensação de isolamento, abuso, violência e relações conflituosas. Outros fatores, de reação à nível individual, são tentativas anteriores, transtornos mentais, uso abusivo de etanol, perdas, dor crônica e histórico familiar de suicídio (17).

O uso de substâncias psicoativas (SPA) (incluindo álcool, *cannabis*, heroína ou nicotina) é considerado um fator de risco e está ligado ao comportamento suicida. Isso ocorre uma vez que as SPA geram alterações a nível de sistema nervoso central e estas podem causar um aumento na impulsividade suicida bem como no número de tentativas de suicídio mais agressivas (21). O uso de SPA, crônico ou não,

se apresenta como um importante fator de risco frente ao número de tentativas de suicídio. Usuários crônicos ou dependentes de drogas de abuso apresentam maior frequência nas tentativas de suicídio e maior intensidade na ideação suicida em relação à pessoas que não fazem uso de substâncias (22–25).

Substâncias psicoativas

Em 2017, uma a cada 18 pessoas da população mundial entre 15 e 64 anos utilizaram alguma SPA pelo menos uma vez no último ano, o que equivale a aproximadamente 271 milhões de pessoas ou 5,5 % da população mundial (26). Os dados da Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (do inglês, *United Nations Office on Drugs and Crime* - UNODC) (2019) demonstram uma maior prevalência do uso de opioides na África, América do Norte, Ásia e Europa e do uso de cannabis na América do Norte, América do Sul e Ásia (26–28).

Segundo um estudo da organização da carga global de doença (do inglês, *Global Burden of Disease*), foram identificadas duas causas de morte por uso de SPA. A primeira causa está relacionada diretamente com transtornos relacionados ao uso da substância, caracterizado como “dependência de drogas” por atender aos critérios da Classificação Internacional de Doenças da Organização Mundial da Saúde (CID-10), na qual a dependência de álcool ou drogas ilícitas (como opióides, cocaína, anfetaminas e cannabis) estão inclusas (29).

A segunda causa de morte está relacionada indiretamente com o uso de SPA, por aumentar o risco prematuro de fatores associados com o uso dessas substâncias. Por exemplo, o usuário de álcool e drogas ilícitas tem um risco de morte prematura maior por doenças e lesões, incluindo suicídio, doença hepática, hepatite e HIV (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*). Em 2017, esta causa foi responsável por 11,8 milhões de mortes no mundo, representando uma a cada cinco mortes (29).

Principais substâncias psicoativas consumidas no Brasil

A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) realizou um estudo levantando informações sobre o consumo de drogas da população brasileira na faixa etária de 12 a 65 anos. O levantamento continha dados da utilização de medicamentos não prescritos ou de forma diferente da prescrita (incluindo benzodiazepínicos, estimulantes anfetamínicos, sedativos barbitúricos e esteroides anabolizantes),

substâncias psicoativas lícitas e ilícitas (incluindo maconha, haxixe ou skank, cocaína, crack e similares, solventes, ecstasy/MDMA, ayahuasca, LSD, cetamina e heroína) com prevalência do uso na vida, nos últimos 12 meses e nos últimos 30 dias (30).

Considerando a prevalência do uso na vida, os benzodiazepínicos (3,9 %) são a classe de medicamentos mais utilizada de forma não prescrita ou diferente da prescrita, seguida de opiáceos (2,9 %) e estimulantes anfetamínicos (1,4 %). Ponderando as estatísticas de consumo dos últimos 12 meses e nos últimos 30 dias, o uso dessa classe de fármacos foi reportado com mais frequência entre as mulheres (4,0 % e 1,5 %, respectivamente) (30).

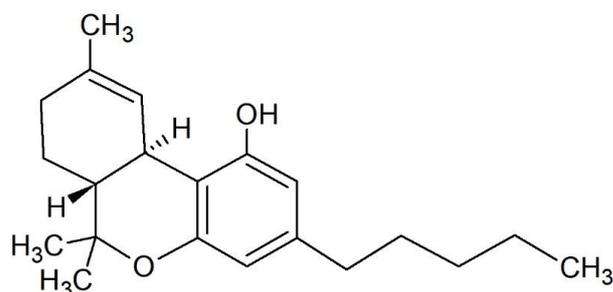
Os adultos mais jovens (25-34 anos) são considerados o grupo de indivíduos que mais consome substâncias ilícitas na vida, nos últimos 12 meses e nos últimos 30 dias. A maconha tem a maior prevalência no consumo em relação às outras substâncias estudadas (pelo menos cinco vezes maior), seguida da cocaína, na forma de pó e fumada, o crack (30). Estimou-se que aproximadamente 0,75 % da população brasileira de 15 a 64 anos, consumiu maconha nos últimos 12 meses, sendo 3 % deles, adultos e 4 % adolescentes (31).

Cannabis

A *Cannabis* é umas das plantas mais antigas (32–35) e a substância psicoativa ilícita mais utilizada no mundo, principalmente entre os jovens (26,36), com um número estimado de 188 milhões de usuários no ano de 2018, o que representa 3,8 % da população mundial entre 15 a 64 anos (27). É controlada sob a Convenção Única de Entorpecentes de 1961 e possui uma prevalência de uso mais alta na América do Norte (13,8 %), Oceania (10,9 %) e África Ocidental e Central (10,0 %) (27), embora seu consumo permaneceu estável em nível global por uma década (26).

O termo “*Cannabis*” é usado para a preparação psicoativa da planta pertencente à família *Cannabaceae* (12), tendo como as principais espécies a *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* e a *Cannabis ruderalis*. As espécies da planta são representadas por uma ou mais espécies e/ou subespécies, ou seja, variam de acordo com a existência de cepas distintas com diferentes morfologias e perfis químicos, e principalmente pela existência de variedades híbridas (32,38). O principal composto ativo responsável pelos efeitos psicoativos da planta é o tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) representado na Figura 4 logo abaixo (39).

Figura 4 - Representação estrutural do tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC).



O Δ^9 -THC é comumente consumido por duas vias: pulmonar (fumo) e oral (alimentos). Dentre elas, a via pulmonar tem absorção mais rápida, garantindo uma biodisponibilidade de 8 a 24 % em poucos minutos, mesmo que cerca de 30 % do Δ^9 -THC seja destruído na pirólise (decomposição térmica). A via oral possui absorção muito baixa, lenta e irregular, devido a degradação do Δ^9 -THC em meio ácido do estômago, apesar de ser bem absorvido no intestino (90-95 %) (40).

Depois da absorção, o Δ^9 -THC é rapidamente distribuído para os tecidos mais vascularizados (cérebro, fígado, pulmões e rins) e em seguida biotransformado pela CYP-450 em compostos ativos, como o 11-hidroxi-(OH)- Δ^9 -THC e 8-beta-hidroxi-(OH)- Δ^9 -THC. Logo depois, o 11-OH- Δ^9 -THC é oxidado em um composto polar e inativo, 11-nor-9-carboxi- Δ^9 -THC (ou THC-COOH) (40).

Em 1988, foi identificado os sítios específicos de ligação dos canabinoides no sistema nervoso, os receptores canabinoides (33,41–43), levando a um crescimento dos estudos relacionados à planta. Alguns anos depois, os primeiros canabinoides endógenos foram isolados (como anandamida (N-araquidonoil etanolamina, EAE) (33,35,42,44) e 2-araquidonoilglicerol (2AG)) (35,37,45) e foi criado o termo “sistema endocanabinoide”, designando o sistema composto por ligantes endógenos, receptores, síntese e degradação enzimática (35,44).

Até o momento, foram descobertos dois tipos de receptores endocanabinoides, o CB1 e CB2 (33,35,45,46). O receptor CB1 foi encontrado, principalmente, em várias partes do cérebro (córtex cerebral, cerebelo, gânglios da base, sistema límbico, hipotálamo, hipocampo) e o CB2 está presente exclusivamente

em tecidos periféricos (sistema imunológico, medula óssea, pulmão, pâncreas e músculo liso) (33,45).

A presença do sistema endocanabinoide no cérebro e nos tecidos periféricos sugere que a *Cannabis* produz efeitos de euforia, relaxamento, diminuição da ansiedade, sedação, alteração da percepção sensorial, perda da memória recente, déficits de atenção e concentração, perda de discriminação de tempo e espaço, coordenação motora diminuída e além de causar taquicardia, hiperemia das conjuntivas, hipersalivação e aumento do apetite (40).

Cocaína

A cocaína é o alcaloide mais importante presentes nas folhas de plantas do gênero *Erythroxylum* (*E. novogranatense* e *E. coca*). Possui propriedade de anestesia local, bloqueando os canais de sódio e produz efeitos estimulantes no SNC através do bloqueio da recaptação de catecolaminas (norepinefrina e, principalmente, dopamina) nas fendas sinápticas. O acúmulo destas na fenda sináptica resulta no estado de euforia característico do usuário da substância (47).

As vias de administração mais frequentes são: intranasal (aspiração), oral (deglutição), intravenosa (injetada) e respiratória (fumada). As três primeiras vias são consumidas na forma de cloridrato de cocaína, enquanto a última é consumida na forma de base livre (crack) obtido através de esterificação da cocaína.

Quando utilizada pela via respiratória possui uma biodisponibilidade de aproximadamente 70 %, produzindo efeitos mais rápidos e com maior intensidade dentre todas as vias, porém de baixa duração (segundos). Quando fumada, o indivíduo absorve não só a cocaína, mas também um produto de combustão da cocaína, o éster metilanidroecgonina.

Pela via intranasal, a cocaína possui uma biodisponibilidade de cerca de 26 %, proporcionando a absorção de baixa velocidade através das membranas nasoro-faríngeas e garantindo efeitos prolongados devido às propriedades vasoconstritoras da substância. Na via oral há um retardo da absorção em relação a via respiratória devido à ionização da cocaína no meio ácido do estômago e a demora em atingir pH alcalino do intestino, onde a velocidade de absorção é maior pela prevalência da forma não-ionizada (47).

Após absorvida, a cocaína é rapidamente biotransformada em éster metilecgonina (EME) resultado da hidrólise do grupo benzoato da cocaína através da ação de colinesterases plasmáticas (pseudocolinesterase) e da ação hepática. É também rapidamente biotransformada em benzoilecgonina (BZE) por meio da hidrólise espontânea ou por reação catalisada pelas carboxilesterases (47).

Outra via de biotransformação é mediada pelo sistema citocromo P450. Nela, a cocaína é N-desmetilada diretamente ou oxidada pelo sistema de monoxigenases FAD-dependente, resultando em um metabólito ativo denominado norcocaína (NCOC). A NCOC é então biotransformada através de enzimas em N-hidroxinorcocaína. Quando a cocaína é administrada pela via pulmonar outro metabólito é formado pela degradação térmica à éster metilanidroecgonina (AEME) e é considerado um biomarcador para esta forma de uso.

O etanol é uma SPA comumente utilizada concomitantemente à cocaína, resultando em um importante metabólito produto de transesterificação mais apolar e ativo que apresenta efeitos mais duradouros da cocaína, o cocaetilenol (COE). O AEME é transformado em anidroecgonina por hidrólise enzimática e não enzimática seguida de transesterificação na presença de etanol, se transformando em éster etilanidroecgonina (47). A biotransformação da cocaína está esquematizada na Figura 5 abaixo.

metilendioxietilamfetamina (MDEA), 3,4-metilendioxianfetamina (MDA) e outros), dietilpropiona, efedrina e femproporex, apresentados na Figura 6. Os anfetamínicos apresentam o esqueleto químico básico da β -fenetilamina (Figura 7). O mazindol é classificado como anorexígeno e erroneamente classificado como medicamento anfetamínico (47).

Figura 6 - Representação estrutural da anfetamina, metanfetamina, 3,4-metilendioxianfetamina (MDA), metilendioximetanfetamina (MDMA), mazindol, dietilpropiona e femproporex.

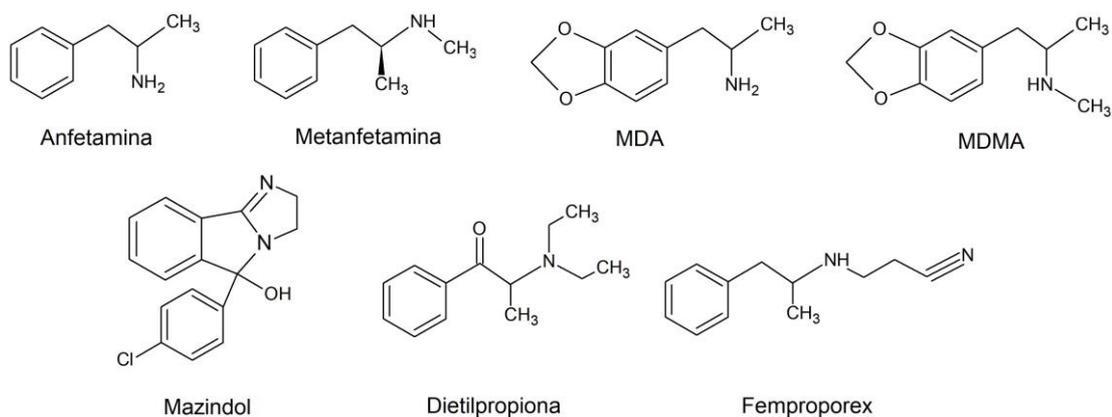
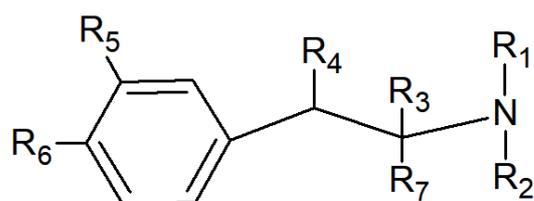


Figura 7 – Representação do esqueleto químico básico da β -fenetilamina e seus derivados.



Em 2017, estimou-se que 0,6 % da população mundial entre 15 e 64 anos fez uso de anfetaminas (aproximadamente 28,9 milhões de pessoas) com maior prevalência na América do Norte (2,1 %) e na Oceania (1,3 %). Seu uso varia conforme a região, mas é predominantemente utilizado na forma de metanfetamina na América do Norte, metanfetamina cristalina na Ásia e Oceania e na forma de anfetamina na Europa (27,28).

O *ecstasy* é o termo utilizado para descrever comprimidos compostos por MDMA e/ou algum de seus análogos (incluindo MDA, MDEA, PMA ou PMMA), seu consumo está associado ao público jovem, principalmente, em ambientes noturnos recreativos. Dados de 2017 apontam que cerca de 21,3 milhões de pessoas em todo o mundo entre 15 a 64 anos (aproximadamente 0,4 % da população mundial) fizeram uso de *ecstasy* aquele ano, predominantemente na Oceania, Europa Ocidental e Central e América do Norte (27,28).

As principais anfetaminas usadas na América do Sul e Central são produtos farmacêuticos utilizados de forma abusiva. Em 2017, a prevalência geral destes usuários permaneceu baixa entre indivíduos de 15 a 64 anos, com aproximadamente 0,2 % da população mundial (28).

Os anfetamínicos agem nos receptores adrenérgicos acoplados à proteína G como aminas simpatomiméticas de acordo com suas diferenças estruturais, conferindo potências variáveis. Produzem principalmente ação estimulante, aumentando a capacidade da comunicação, empatia e auto-conhecimento e em alguns casos, ação alucinógena. São substâncias com múltiplos efeitos biológicos e que possuem estruturas simples facilitando modificação estrutural a fim de ampliar alguns efeitos como: ampliação do estado de euforia e percepção do aumento da capacidade física e mental devido à estimulação do sistema nervoso central (SNC). Entretanto, estas modificações também podem causar aumento da frequência cardíaca, aumento da demanda de oxigênio pelo miocárdio e aumento da pressão arterial, podendo causar hipóxia e consequente necrose de células do coração (47).

A β -fenetilamina é importante devido às suas propriedades farmacológicas e bioquímicas. Para determinar se as substâncias terão ação direta ou indireta nos receptores, substituições nas posições m e p do anel benzênico e no carbono β da cadeia lateral são necessários (47).

Os anfetamínicos de ação indireta são substâncias que possuem uma ou nenhuma substituição no esqueleto químico básico da β -fenetilamina (Figura 10) e não atuam diretamente sobre os receptores adrenérgicos. Entretanto, são capazes de liberar a noradrenalina de vesículas nos neurônios pré-sinápticos adrenérgicos produzindo efeitos simpáticos, bem como inibir da recaptação da noradrenalina e dopamina e de inibir da enzima responsável pela oxidação da noradrenalina e serotonina, a monoamina oxidase (MAO) (47).

Os anfetamínicos de ação direta são substâncias, normalmente, possuidoras do grupo metóxi, dimetóxi e trimetóxi na estrutura básica da β -fenetilamina e com substituições em pelo menos duas posições (R₃, R₅ ou R₆) na tentativa de diminuir os efeitos indesejáveis. Os grupos metóxi, dimetóxi e trimetóxi quando substituídos na posição R₅ ou R₆ do anel aromático atribui propriedades alucinógenas aos compostos (p. ex. MDMA, MDA, 3-metóxi-4,5-metilenodioxianfetamina (MMDA), 2,5-dimetoxianfetamina (DMA), 4-metoxianfetamina (PMA), 4-bromo-2,5-dimetoxianfetamina (DOB), 2,5-dimetóxi-4-etilanfetamina (DOET) e 2,5-dimetóxi-4-metilanfetamina (DOM) e 3,4,5-trimetoxianfetamina (TMA) e por este motivo, não exercem a capacidade de agir indiretamente (liberação e inibição da recaptção de noradrenalina na fenda sináptica), porém possuem interação direta com o receptor adrenérgico (47).

Em geral, os anfetamínicos são absorvidos pelo trato gastrintestinal e biotransformados no fígado, principalmente. Como consequência da existência de estruturas diferentes de anfetamínicos, apresentam diversas vias de biotransformação, as principais são: hidroxilação aromática, N-desalquilação, β -hidroxilação, desaminação oxidativa e entre outros (47).

Opioides

O termo “opioide” refere-se aos produtos encontrados no ópio, resina provinda da papoula do ópio, *Papaver somniferum* e *P. album*. Os opioides incluem tanto os alcaloides ou opiáceos naturais (p. ex. morfina, codeína e tebaína), como também seus derivados semissintéticos (p. ex. heroína, hidrocodona, oxycodona e buprenorfina) e sintéticos (p. ex. fentanil, metadona), responsáveis pela ação analgésica. Alguns destes são indicados para uso médico no tratamento de dor, principalmente para alívio da dor no trauma, cirurgia e câncer (48,49).

Essa classe representa uma grande preocupação em diversos países por serem os maiores causadores de danos à saúde associados ao seu uso. Em 2017, seu uso representou cerca de 66 % das mortes relacionadas ao uso de drogas envolvia algum opioide. Em 2017, aproximadamente 53,4 milhões de pessoas no mundo utilizaram opioides pelo menos uma vez, número 56 % maior do que foi estimado para este ano e que corresponde a aproximadamente 1,1 % da população

mundial entre indivíduos de 15 a 64 anos. Dentre essas pessoas, 29,2 milhões usaram opiáceos usaram opiáceos (heroína e ópio), correspondendo a 0,6 % (26,27).

A América do Norte possui a maior prevalência anual, com cerca de 4 % da população (entre 15 e 64 anos) usuária de opioides (26), representando um quarto dos usuários dessa SPA no mundo. A média do uso de opiáceos na América do Norte (0,7 %) está acima da média do uso mundial (0,6 %). Nessa região, os opioides (principalmente hidrocodona, oxicodona, codeína e tramadol) e os opiáceos (principalmente a heroína) são utilizadas para fins não médicos. As mortes por overdose ligadas ao seu uso ainda continuam altas e crescentes, principalmente nos Estados Unidos e Canadá, com aumento de 10 % e 33 % entre 2016 e 2017, respectivamente. As mortes ligadas ao uso de opioides estão relacionadas principalmente com overdoses acidentais (93 %) e suicídios (5 %) (27).

Na Europa, estima-se que 0,7 % da população fez uso de opioides, principalmente heroína, no ano de 2017. Dados recentes demonstraram um crescimento no número de mortes (principalmente por overdose) associados ao uso de heroína. Em 2017, a Irlanda do Norte e o Reino Unido da Grã-Bretanha representaram um terço de todas as mortes por overdose na Europa (27).

Em 2016 na Austrália, o uso de opioides (principalmente morfina, codeína, oxicodona e heroína), causou a morte de muitas pessoas. A Austrália e a Nova Zelândia estão acima da média mundial, correspondendo a 3,3 % da população adulta que apresenta uso abusivo de opioides (27).

O efeito analgésico dos opioides se dá por meio da ação de peptídeos endógenos com propriedades farmacológicas em receptores presentes no sistema nervoso central (SNC) e na medula espinal envolvidas na transmissão e modulação da dor. Após a descoberta dos principais receptores opioides (MOP – receptor μ , DOP – receptor δ e KOP – receptor κ), diversas proteínas precursoras dos principais peptídeos endógenos (endorfina, encefalinas, dinorfinas) foram encontradas distribuídas pelo SNC. São alguns exemplos: a pré-promelanocortina, proteína precursora da endorfina, a pré-proencefalina, precursora da encefalina e a pré-prodinorfina, precursora das dinorfinas (50).

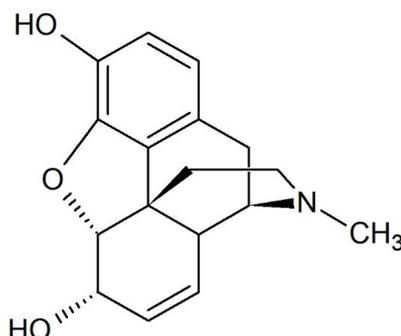
Os opioides podem ser classificados como agonistas totais ou parciais de ação analgésica. Agem através de receptores acoplados a proteínas G do tipo inibitório gerando uma sequência de ações: redução da transmissão dos canais de cálcio voltagem dependentes nas terminações nervosas pré-sinápticas, seguida da

estimulação do efluxo de potássio e, conseqüente, hiperpolarização. A maioria dos opioides disponíveis atuam nos receptores de opioides μ , que geram efeitos como analgesia, sedação, euforia e depressão respiratória (50).

1.2.1.1. *Morfina*

A morfina (Figura 8) é o principal constituinte do ópio e é classificado como agonista total do receptor μ . É utilizado como analgésico potente com boas propriedades sedativas e ansiolíticas, podendo até causar disforia, alucinação, euforia, depressão respiratória e supressão da tosse. Apresenta boa absorção pelas mucosas e quando aplicada endovenosamente. Setenta por cento da morfina absorvida é metabolizada em morfina-3-glucuronídeo, principalmente pelo fígado através de enzimas. Apenas 10 %, se biotransforma em morfina-6 glucuronídeo, sendo este metabólito de 13 a 200 vezes mais potente que a morfina (49,50).

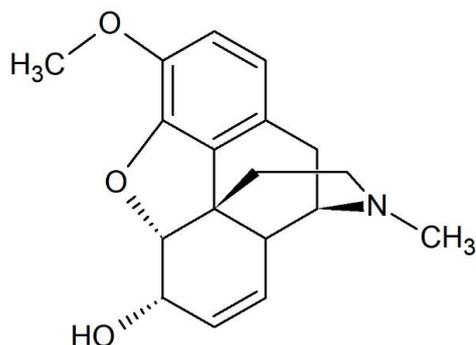
Figura 8 - Representação estrutural da morfina.



1.2.1.2. *Codeína*

A codeína (Figura 9) é utilizada a mais de 150 anos no tratamento de tosse e dores (49), podendo ser classificada como agonista parcial nos receptores μ . Cerca de 10 % da dose é metabolizado em morfina. É um analgésico que causa poucos efeitos de euforia, de sedação e possui menor propensão de causar depressão respiratória quando comparado com a morfina (50).

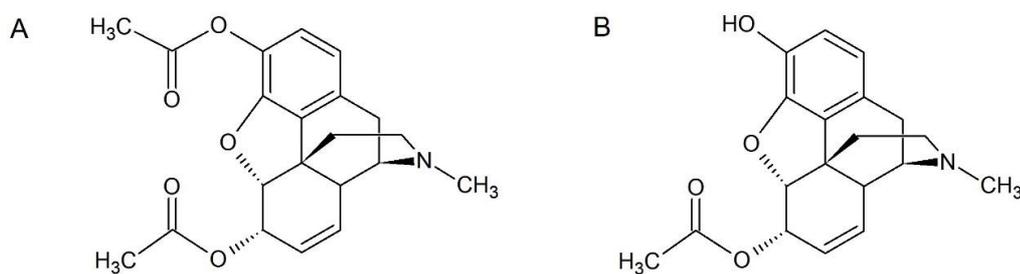
Figura 9 - Representação estrutural da codeína.



1.2.1.3. *Heroína*

A heroína (diamorfina, diacetilmorfina) é um análogo diacetilado da morfina. Esta substância é biotransformada por esterases presentes no fígado, plasma e no sistema nervoso central em compostos ativos (6-acetilmorfina e morfina - representados na Figura 10). Devido sua alta lipossolubilidade, é bem absorvido por todas as vias (nasal, retal, pulmonar e mucosas), e passa com facilidade pela barreira hematoencefálica, onde é convertido em morfina. Seu início de ação é mais rápido se comparado com a morfina, sendo até duas vezes mais potente. Compartilha efeitos semelhantes aos opioides comuns, entretanto tem uma tendência maior de causar euforia, dependência e até edema pulmonar (49,50).

Figura 10 - Representação estrutural da heroína (A) e seu principal metabólito, 6-acetilmorfina (B).



2. OBJETIVO

O objetivo geral deste trabalho foi o desenvolvimento e validação de método analítico para detectar e quantificar substâncias psicoativas em amostras de cabelo, aplicando o método desenvolvido e validado na análise de amostras coletadas de pacientes que tentaram suicídio e receberam atendimento de urgência no Hospital de Clínicas da UNICAMP.

A partir do objetivo geral, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Desenvolver e validar um método analítico baseado em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (em inglês, *liquid chromatography tandem mass spectrometry*, LC-MS/MS) para análise de morfina, codeína, 6-acetilmorfina, anfetamina, metanfetamina, femproporex, dietilpropiona, mazindol, 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), benzoilecgonina, cocaína, cocaetileno, éster metilanidroecgonina (AEME) e delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) em amostras de cabelo;
- Analisar amostras de cabelo coletadas de pacientes que foram atendidos no Hospital de Clínicas da UNICAMP após tentativa de suicídio.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Padrões, produtos químicos e reagentes

Material certificado de referência de morfina, codeína, 6-acetilmorfina, anfetamina, metanfetamina, femproporex, dietilpropiona, mazindol, 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), benzoilecgonina, cocaína, cocaetileno, éster metilanidroecgonina (AEME) e tetrahydrocannabinol (THC), morfina-d3, anfetamina-d5, benzoilecgonina-d8, cocaina-d3, THC-d3, metanfetamina-d5, MDMA-d5 e codeine-d3 foram adquiridos da Cerilliant (Round Rock, Texas, USA). Metanol, diclorometano, formiato de amônio e ácido fórmico foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). A água ultrapura deionizada foi purificada pelo sistema Milli-Q da Millipore (Billerica, Massachusetts, USA). Todos os solventes empregados no procedimento de extração eram grau HPLC.

Preparação das soluções padrão

As soluções estoque das substâncias foram preparadas pela diluição do material certificado de referência em metanol. A partir das soluções estoque, foram preparados soluções calibradoras (soluções metanólicas de trabalho) à 100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 ng/mL para metanfetamina, MDMA, morfina, anfetamina, 6-acetilmorfina, MDA, femproporex, dietilpropiona, codeína; 25, 100, 200, 400, 500,

1.000 ng/mL para THC, AEME, benzoilecgonina e cocaetileno; e 250, 1.000, 2.000, 3.000, 5.000, 10.000 ng/mL para cocaína e mazindol.

A partir das soluções estoque, as soluções de controle de qualidade no nível baixo (CQB) foram preparadas em metanol nas concentrações 200 ng/mL para metanfetamina, MDMA morfina, anfetamina, 6-acetilmorfina, MDA, femproporex, dietilpropiona, codeína; 50 ng/mL para THC, AEME, benzoilecgonina e cocaetileno e 500 ng/mL para cocaína e mazindol. As soluções de controle de qualidade no nível alto (CQA) foram preparadas nas concentrações 3.000 ng/mL metanfetamina, MDMA morfina, anfetamina, 6-acetilmorfina, MDA, femproporex, dietilpropiona, codeína; 750 ng/mL THC, AEME, benzoilecgonina e cocaetileno; e 7.500 ng/mL cocaína e mazindol, sempre utilizando metanol como diluente.

Com o intuito de amenizar as variações analíticas (instrumentais, injeção e pipetagem) foi utilizado o método de padronização interna. Este método consiste na preparação de soluções padronizadas de substâncias conhecidas denominadas padrão interno. Para a escolha do padrão interno deve-se considerar a similaridade estrutural, ter concentração e tempo de retenção próximos a substâncias a ser quantificada. Após análise das soluções, foi construído um gráfico correlacionando a razão entre áreas (área da substância a ser quantificada e área do padrão interno) e a concentração da substância (51,52). Neste presente trabalho, os padrões internos foram feitos a partir de diluições das soluções estoque de anfetamina-d5 (para quantificação da anfetamina), metanfetamina-d5 (para quantificação da mazindol, metanfetamina, femproporex e dietilpropiona), morfina-d3 (para quantificação da morfina, AEME e 6-acetilmorfina), codeína-d3 (para quantificação da codeína), benzoilecgonina-d8 (para quantificação da benzoilecgonina), cocaína-d3 (para quantificação da cocaína e cocaetileno), MDMA-d5 (para quantificação da MDMA, MDA) e THC-d3 (para quantificação do THC), produzindo solução única de trabalho de padrão interno (PI) na concentração de 500 ng/mL de cada analito, em metanol. Todas as soluções foram armazenadas em frasco âmbar a -20 °C.

A partir de 20 mg de amostras de cabelo (coletadas de indivíduos que não fizeram uso das SPA investigadas neste estudo) foram adicionadas soluções calibradoras (cal) e controles de qualidade para atingir as concentrações finais em matriz que estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentrações finais (em ng/mg) dos analitos nos calibradores (Cal 1 a 6) e dos controles baixo (CQB) e alto (CQA) no cabelo.

ng/mg Analito	Cal 1	Cal 2	Cal 3	Cal 4	Cal 5	Cal 6	CQB	CQA
Metanfetamina	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
MDMA	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
MDA	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
Anfetamina	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
Fenproporex	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
Dietilpropiona	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
6-Acetil morfina	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
Morfina	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
Codeína	0,100	0,400	0,800	1,600	2,000	4,000	0,200	3,000
Mazindol	0,250	1,000	2,000	4,000	5,000	10,000	0,500	7,500
Cocaína	0,250	1,000	2,000	4,000	5,000	10,000	0,500	7,500
Cocaetileno	0,025	0,100	0,200	0,400	0,500	1,000	0,050	0,750
Benzoilecgonina	0,025	0,100	0,200	0,400	0,500	1,000	0,050	0,750
AEME	0,025	0,100	0,200	0,400	0,500	1,000	0,050	0,750
THC	0,025	0,100	0,200	0,400	0,500	1,000	0,050	0,750

Amostras

As amostras de cabelo utilizadas para realização dos testes de otimização e desenvolvimento dos métodos foram recebidas de voluntários que não fizeram uso de nenhuma das SPA deste trabalho.

Foram analisadas amostras de cabelo coletadas de indivíduos maiores de 18 anos que tentaram suicídio e foram atendidos na unidade de emergência referenciada do Hospital de Clínicas da UNICAMP no período de um ano (2017-2018). Este projeto é parte do estudo “*Suicídio na Emergência: estudo de relações entre uso de substâncias psicoativas e tentativas de suicídio em unidade de emergência referenciada da cidade de Campinas - SP*”, coordenado pela Profa. Dra. Karina Diniz Oliveira, Departamento de Psicologia Médica e Psiquiatria, Faculdade de Ciências

Médicas, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa UNICAMP (CAAE nº 58187816.6.0000.5404) (Anexo 1).

Assim que os pacientes com clínica de intoxicação exógena ou traumas foram atendidos no Hospital de Clínicas da UNICAMP, também foram acionadas equipes do Centro de Informação e Assistência Toxicológica (CIATox) e da psiquiatria. Os fluídos biológicos (urina e sangue) foram encaminhadas ao CIATox e submetidos à exame toxicológico de triagem por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) usando procedimentos publicados (53,54) e a concentração de etanol sanguíneo foi determinada por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chamas (CG-DIC). A tentativa de suicídio é confirmada apenas após avaliação psiquiátrica e aplicação do questionário contendo dados sociodemográfico, além de informações sobre a classificação do risco e intensidade de suicídio (Anexo 3-5). Somente após o preenchimento do questionário e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2) as amostras de cabelo eram coletadas. Essas amostras eram coletadas da região do vértice posterior da cabeça, o mais próximo possível do couro cabeludo, uma vez que é a região com menor variação na taxa de crescimento (1,15).

No total, foram coletadas 160 amostras de sangue e urina de pacientes que aceitaram participar do projeto. Destes, 109 pacientes aceitaram a realização da coleta de cabelo. Após a coleta, cada amostra foi seccionada em até cinco segmentos de 1,5 centímetros, totalizando 404 segmentos.

3.2. Métodos

Desenvolvimento do método

3.2.1.1. *Estudo de diferentes condições na pulverização do cabelo*

A fim de aumentar a homogeneidade e a superfície de contato com o solvente extrator de forma mais branda, foram realizados testes em diferentes condições de pulverização utilizando 6 esferas de aço (diâmetro = 2,8 mm) em cada tubo de plástico cônico e o homogeneizador mecânico *BeadBlaster™* 24 Microtubo. As amostras “b” e “c” foram avaliadas e comparadas com a amostra “a”, nas seguintes condições:

- a) Amostra cortada com a tesoura

- b) Amostra pulverizada nas seguintes condições: 5 Ciclos de 40 segundos e intervalo de 120 segundos
- c) Amostra pulverizada nas seguintes condições: 10 Ciclos de 25 segundos e intervalo de 60 segundos.

3.2.1.2. *Estudo da influência do tempo de incubação*

O teste foi realizado em amostras reais, em duplicata (positivas para tetrahydrocannabinol – THC; cocaína – COC; benzoilecgonina – BZE e cocaetileno – COE). As amostras foram submetidas à incubação a 45 °C no termobloco com agitação mecânica (*Multi-Therm Heating & Cooling Shaker*[™] - Benchmark Scientific, Sayreville, EUA) e analisadas a cada uma hora durante doze horas. Os dados foram avaliados com uma análise estatística de variância *one-way* (ANOVA) de significância na variabilidade $p < 0,05$ e foi aplicado o teste de Tukey para comparações múltiplas ($p < 0,05$), representado em gráfico de dispersão (Figura 11). As análises de variação foram realizadas utilizando o programa de software GraphPad Prism 5 (GraphPad Scientific, San Diego, EUA).

3.2.1.3. *Estudo da influência do tipo de agitação*

O teste foi realizado em quadruplicata de amostras reais positivas para THC, COC e seus metabólitos (benzoilecgonina e cocaetileno). Dois tipos de agitação foram comparados no tempo de duas horas a 45 °C: o termobloco com agitação mecânica e o banho ultrassônico.

Preparo de amostra

As amostras foram submetidas duas vezes a descontaminação com solvente orgânico (diclorometano e metanol, 1 mL com agitação por 3 minutos seguida do descarte de cada solvente) e os solventes evaporados sob fluxo de nitrogênio a 40 °C utilizando um sistema de evaporação TurboVap (Biotage, Uppsala, Suécia). Em seguida, 20 mg da amostra foi pesada em tubo de plástico cônico contendo 6 esferas de aço (diâmetro = 2,8 mm) e foi pulverizada mecanicamente usando homogeneizador *BeadBlaster*[™] 24 Microtubo (Benchmark Scientific, Sayreville, EUA) nas seguintes condições: 5 ciclos de 40 segundos com 7 m/s de velocidade e intervalo de 120

segundos. Então, foram adicionados 380 μL do metanol e 20 μL da solução PI. As amostras foram submetidas a agitação por 10 segundos e centrifugação à 13.000 rpm por 2 minutos com o objetivo de levar toda a amostra de cabelo para o fundo do tubo. Após 2 horas de incubação a 45 °C em banho ultrassônico, a mistura foi centrifugada à 13.000 rpm por 5 minutos e 50 μL do sobrenadante foi transferido para uma microplaca de 96 poços, previamente preenchida com 150 μL de uma solução aquosa de ácido fórmico 0,1 % (v/v) e formiato de amônio 2 mmol/L. E então, 1 μL foi injetado no sistema LC-MS/MS.

3.3. Instrumentação

A análise por LC-MS/MS foi realizada em cromatógrafo líquido Nexera X2 acoplado a espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo modelo LCMS8060 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna com fase estacionária bifenil, modelo Raptor (100 mm x 2,1 mm x 2,7 μm ; Restek, Pensilvânia, EUA), mantida a 40 °C. A fase móvel foi composta por água ultrapura (A) e metanol (B), ambas contendo ácido fórmico (0,1 %, v/v) e formiato de amônio (2 mmol/L). O gradiente de eluição foi estabelecido como a seguir: 10 % B por 0,5 min seguido por aumento linear até 100 % B em 4,0 min, mantido nesta proporção por 2 min e retornando para a condição inicial em 0,1 min (tempo de reequilíbrio de 1,4 min), com um tempo de corrida total de 7,5 min. A vazão da fase móvel foi de 0,4 mL/min e injeção de 1 μL no sistema LC-MS/MS.

O espectrômetro de massas foi equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI) operando em modo de ionização positivo. Os parâmetros da fonte foram: vazão do gás de nebulização (N_2) a 3 L/min; vazão do gás de aquecimento (N_2) a 10 L/min; temperatura da interface a 300 °C; temperatura da linha de dessolvatação a 250 °C; temperatura de dessolvatação a 526 °C; temperatura do bloco de calor a 400 °C; vazão do gás de secagem (N_2) a 10 L/min; e a pressão do gás (Ar) de colisão induzido por dissociação a 250 kPa. As análises foram feitas em modo de monitorização de reações múltiplas (MRM), na qual duas transições MRM foram escolhidas, uma para quantificação e a outra para qualificação. A Tabela 2 apresenta as condições otimizadas do método, contendo as transições de MRM (transições

utilizadas para quantificação foram sublinhadas). Os dados foram adquiridos e processados pelo *Labsolution 5.97 software* (Shimadzu, Kyoto, Japão).

Tabela 2 - Condições otimizadas das transições para análise de 15 substâncias (e 8 padrões internos, PI) em amostras de cabelo usando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS).

Analito	Tempo de retenção (min)	Transições MRM (<i>m/z</i>)	Tempo leitura (msec)	Q1 Pre Bias (V)	CE* (V)	Q3 Pre Bias (V)
Morfina-d3 (PI)	2,072	289,2→152,0	10	-21	-55	-28
		289,2→201,2	10	-21	-26	-28
Morfina	2,076	<u>286,2→152,2</u>	10	-20	-55	-30
		286,2→201,2	10	-20	-25	-12
AEME	2,126	182,1→91,1	20	-13	-26	-10
		182,1→118,1	20	-21	-21	-13
Anfetamina-d5 (PI)	2,459	141,1→96,1	10	-17	-21	-16
		141,1→124,2	10	-16	-14	-24
Anfetamina	2,479	<u>136,1→91,1</u>	10	-15	-17	-10
		136,1→119,1	10	-28	-14	-12
Metanfetamina-d5 (PI)	2,687	155,0→92,0	10	-30	-23	-16
		155,0→121,0	10	-11	-14	-21
Codeína-d3 (PI)	2,689	303,0→215,3	10	-29	-27	-21
		303,0→225,1	10	-16	-29	-23
Codeína	2,698	<u>300,0→165,1</u>	10	-21	-44	-30
		300,0→215,1	10	-11	-25	-12
Metanfetamina	2,699	<u>150,1→91,1</u>	10	-10	-19	-18
		150,1→119,1	10	-10	-10	-24
Femproporex	2,704	<u>189,2→91,0</u>	10	-22	-22	-10
		189,2→118,9	10	-20	-12	-30
MDA	2,719	<u>180,0→105,1</u>	10	-14	-21	-21
		180,0→135,0	10	-14	-21	-12
6-Acetil morfina	2,730	<u>328,2→211,0</u>	20	-20	-28	-25
		328,2→165,2	20	-21	-52	-20
MDMA-d5 (PI)	2,871	199,2→165,1	10	-20	-15	-20
		199,2→107,1	10	-20	-25	-20
MDMA	2,881	<u>194,0→163,0</u>	10	-14	-14	-10

		194,0→105,0	10	-14	-25	-18
Dietilpropiona	3,958	<u>206,2→105,0</u>	10	-20	-20	-20
		206,2→100,1	10	-20	-20	-20
Benzoilecgonina-d8 (PI)	3,252	298,2→171,1	10	-20	-19	-19
		298,2→110,2	10	-20	-30	-19
Benzoilecgonina	3,269	<u>290,2→168,1</u>	10	-20	-19	-19
		290,2→105,2	10	-20	-28	-21
Cocaína-d3 (PI)	3,403	307,4→185,1	10	-24	-20	-30
		307,4→85,2	10	-24	-30	-30
Cocaína	3,407	<u>304,0→182,0</u>	10	-20	-18	-18
		304,0→82,0	10	-20	-31	-14
Mazindol	3,539	<u>285,0→44,0</u>	10	-15	-24	-18
		287,0→44,0	10	-15	-24	-18
Cocaetileno	3,584	<u>318,0→82,0</u>	10	-21	-33	-14
		318,0→196,0	10	-21	-21	-19
THC-d3 (PI)	4,869	318,1→123,1	10	-29	-32	-20
		318,1→262,2	10	-16	-22	-27
THC	4,876	<u>315,0→193,3</u>	250	-16	-23	-19
		315,0→123,1	250	-16	-34	-12

*CE: energia de colisão. As transições de monitorização de reações múltiplas sublinhadas foram usadas para quantificação das substâncias.

3.4. Validação do método

O método por LC-MS/MS foi validado de acordo com os parâmetros e recomendações da Sociedade Europeia de Testagem de Drogas no Ambiente de Trabalho (do inglês, *European Workplace Drug Testing Society - EWDTS*) (15). Os parâmetros avaliados foram: sensibilidade, linearidade, verificação do valor de corte (*cutt-off*), estudo de interferentes (especificidade, efeito matriz e seletividade) exatidão, imprecisão, contaminação cruzada no injetor (*carryover*), limite de detecção, limite de quantificação e estabilidade. Também foram utilizadas as recomendações do Grupo de Trabalho Científico para Toxicologia Forense (do inglês, *Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX)*) quando detalhes sobre parâmetros para realização da validação não eram especificados pela EWDTS.

Crêterios de identifica o

Para a identifica o dos analitos, os critérios de positividade adotados foram: (i) a presença de pico cromatográfico simétrico com tempo de reten o condizente com o observado nos calibradores (varia o aceitável de $\pm 2\%$); (ii) rela o sinal/ruído maior do que 3 para ambos MRM e (iii) razão entre os MRM de quantifica o e qualificador condizente com o observado nos calibradores, com faixa de varia o aceitável de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 - Varia o aceitável em fun o da intensidade relativa dos íons (quantificador e qualificador) para cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. Fonte: (55).

Intensidade relativa ao ion quantificador	Varia�o aceitável (%)
> 50 %	20 %
20 - 50 %	25 %
10 - 20 %	30 %
$\leq 10\%$	50 %

Limite de quantifica o e detec o

Para determinar a concentra o do limite de quantifica o, foi considerado um número inferior ao valor de *cut-offs* recomendado pelo EWDTs. Foram avaliados ao longo de cinco dias em triplicata através do limite inferior de quantifica o da curva analítica.

Os valores de limite de detec o foram determinados utilizando a concentra o mais baixa dos analitos, sendo os mesmos diferentes de zero e avaliado durante três dias em triplicata, segundo o SWGTOX.

Linearidade

A linearidade foi avaliada a partir de cinco replicatas de seis concentra es variando de 100 a 4.000 pg/mg para metanfetamina, MDMA, morfina, anfetamina, femproporex, dietilpropiona, codeína, 6-acetilmorfina e MDA; de 25 a 1.000 pg/mg para benzoilecgonina, cocaetileno e THC; e de 250 a 10.000 pg/mg para cocaína e mazindol. A curva de analítica foi construída relacionando a razão entre as áreas obtidas ( rea do padrão interno e a área da substância) com suas respectivas

concentrações previamente conhecidas. A heterocedasticidade foi verificada empregando o Teste-F ($\alpha = 0,05$) e em seguida, modelos de calibração foram testados em vários fatores de ponderação e avaliados utilizando a porcentagem da somatória do erro percentual relativo ($\Sigma \% ER$) e o coeficiente de determinação (r^2). Após a detecção e eliminação dos outliers realizado através do teste de Grubbs ($\alpha = 0,05$), o modelo matemático escolhido foi visualmente elucidado em gráfico residual.

Verificação do cut-off

Os *cut-offs*, são valores de corte recomendados pelo guia da EWDTS (Tabela 4), que foram avaliados e determinados como o controle baixo neste método.

Tabela 4 - Recomendação de valores de corte da Sociedade Europeia de Testagem de Drogas no Ambiente de Trabalho (*European Workplace Drug Testing Society - EWDTS*) na análise de confirmação para testagem em cabelo.

Analito	Análise de confirmação (ng/mg)
Anfetaminas	0,20
Metanfetaminas	0,20
MDMA	0,20
MDEA	0,20
MDA	0,20
Cocaina	0,50
Benzoilecgonina	0,05
Cocaetileno	0,05
AEME	0,05
THC	0,05
Morfina	0,20
Codeína	0,20
6-Acetilmorfina	0,20

Estudo de interferentes

3.4.1.1. *Seletividade*

Para isso, foram avaliadas seis amostras de fontes diferentes sem os analitos de interesse (“em branco”), além de duas amostras “em branco” nas quais somente o padrão interno foi adicionado (negativo), como é recomendado no EWDTs.

3.4.1.2. *Especificidade*

Para garantir a ausência de interferentes de outros analitos, uma duplicata de amostras “em branco” foi avaliada, na qual medicamentos usualmente utilizados foram adicionados e alguns de seus metabólitos, dentre eles: desmetilvenlafaxina, bupropiona, venlafaxina, amitriptilina, clomipramina, fluoxetina, nortriptilina, mirtazapina, escitalopram, nafazolina, salbutamol, ranitidina, domperidona, metoclorpramida, ondasterona, paracetamol, meloxicam, prednisolona, celecoxibe, prednisona, betametasona, dexametasona, furosemida, hidroclorotiazida, fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, ácido valpróico, haloperidol, risperidona, quetiapina, hidroxizine, prometazina, loratadina, desloratadina, propranolol, captopril, diltiazem, atenolol, atorvastatina e glibenclamida à 10 ng/mg.

Exatidão

Segundo o EWDTs, é recomendada a avaliação de dois controles de qualidade internos: controle alto e baixo. Os controles (alto e baixo) foram avaliados em triplicata, segundo SWGTOX, exigindo que esta variação seja menor do que $\pm 20\%$ da concentração estabelecida, como recomendado pelo EWDTs. O valor calculado é expresso em porcentagem de desvio do valor real, como na fórmula a seguir:

$$\text{Inexatidão (\%)} = \left(100 \times \frac{\text{Média da Conc. Teórica}}{\text{Média da Conc. Real}} \right) - 100$$

Imprecisão

Seguindo as recomendações do SWGTOX, as imprecisões intra-ensaio e inter-ensaio foram avaliadas com uma triplicata das concentrações dos controles (alto e baixo) durante cinco dias ($n_{\text{inter}} = 15$). Os controles são avaliados com uma análise estatística de variância *one-way* (ANOVA) realizado em cada concentração dos

controles para avaliar significância na variabilidade ($p < 0,05$) e devem ter até $\pm 20\%$ de variação do DPR, como recomendado pelo EWDTs. As fórmulas para calcular imprecisão intra-ensaio e inter-ensaio estão expressas abaixo.

$$\text{Imprecisão intra – ensaio (\%)} = \left(\frac{\text{Desvio padrão de um único dia}}{\text{Média calculado de um único dia}} \right) \times 100$$

$$\text{Imprecisão inter – ensaio (\%)} = \left(\frac{\text{Desvio padrão da média geral para cada controle}}{\text{Média geral para cada controle}} \right) \times 100$$

Efeito matriz

O efeito matriz foi avaliado pela adição das concentrações do controle alto e baixo (item 'Preparação das soluções padrão' no item 3.1) em dois grupos de amostras - com matriz (A) e sem a matriz (B). No grupo A, seis amostras “em branco” foram fortificadas com soluções de cada concentração dos controles e com os padrões internos. No grupo B, o solvente extrator foi fortificado com soluções padrão para cada concentração do controle e o padrão interno em suas amostras “em branco”. O efeito matriz é obtido com média das concentrações dos dois grupos (A e B), subtraído de 100 e expresso em porcentagem, como na fórmula abaixo:

$$EM(\%) = \left(100 \times \frac{\text{Média do Grupo A}}{\text{Média do Grupo B}} \right) - 100$$

Um resultado negativo indica que os componentes da matriz causam interferência gerando supressão do sinal do analito e um resultado positivo geram uma ampliação do sinal do analito.

Carryover

Após a injeção no equipamento de uma amostra “em branco” fortificada (com todos os analitos) na concentração mais alta da curva de calibração, uma amostra “em branco” foi extraída e injetada. Se nenhum pico analítico atender aos critérios de limite de detecção, o parâmetro *carryover* foi considerado ausente.

Estabilidade

Após a extração e análise dos controles alto e baixo, os mesmos foram armazenados no *autosampler* à 10 °C por 24 horas. Após este período, os controles (alto e baixo) foram reinjetados empregando a curva de calibração do dia vigente. Os analitos foram considerados estáveis caso a concentração estivesse dentro de $\pm 20\%$ da concentração inicial.

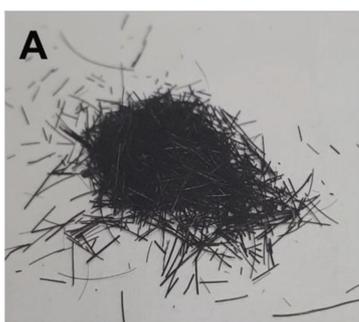
4. RESULTADOS

4.1. Desenvolvimento do método

Estudo de diferentes condições na pulverização da amostra

A Figura 11 mostra o resultado da pulverização de amostra de cabelo realizada em diferentes condições. Foi comparado o uso de tesoura frente ao uso de homogeneizador automatizado (*BeadBlaster™*), utilizando seis esferas de aço (diâmetro = 2,8 mm) por microtubo com velocidade de 7,0 rpm em diferentes ciclos de tempo. Apesar do maior grau de pulverização, não foi escolhida as condições descritas na Figura 11 C, pois o atrito provocado na agitação resultava no aumento da temperatura no tubo, o que poderia resultar na degradação de analitos termolábeis, como os derivados anfetamínicos. Por este motivo, foi escolhido as condições da Figura 11 B.

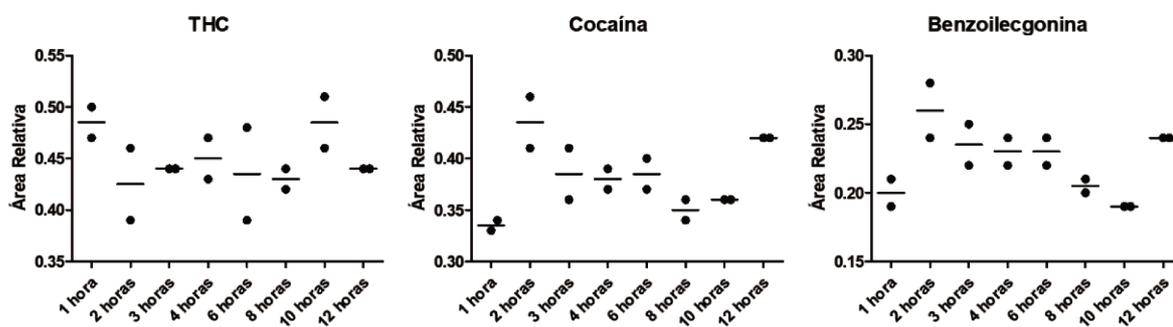
Figura 11 - Fotografia de amostras de cabelo pulverizada em condições diferentes utilizando 6 esferas de aço (diâmetro = 2,8 mm) em cada tubo de plástico cônico e o homogeneizador mecânico *BeadBlaster™* 24 Microtubo. A: amostra cortada com a tesoura; B: amostra pulverizada nas seguintes condições: 5 Ciclos de 40 segundos e intervalo de 120 segundos; e C: amostra pulverizada nas seguintes condições: 10 Ciclos de 25 segundos e intervalo de 60 segundos.



Estudo da influência do tempo de extração

Não houve aumento significativo na área relativa quando amostras de cabelo positivas para THC foram extraídas em diferentes tempos de incubação (1-12 h). Porém, quando amostras de cabelo positivas para cocaína foram submetidas ao mesmo teste, observou-se aumento significativo de 30% na área relativa nas amostras positivas para cocaína e benzoilecgonina no tempo de duas horas de incubação da extração, comparando com a primeira hora, o que justifica sua escolha para continuação do estudo. Os resultados deste experimento são apresentados na Figura 12.

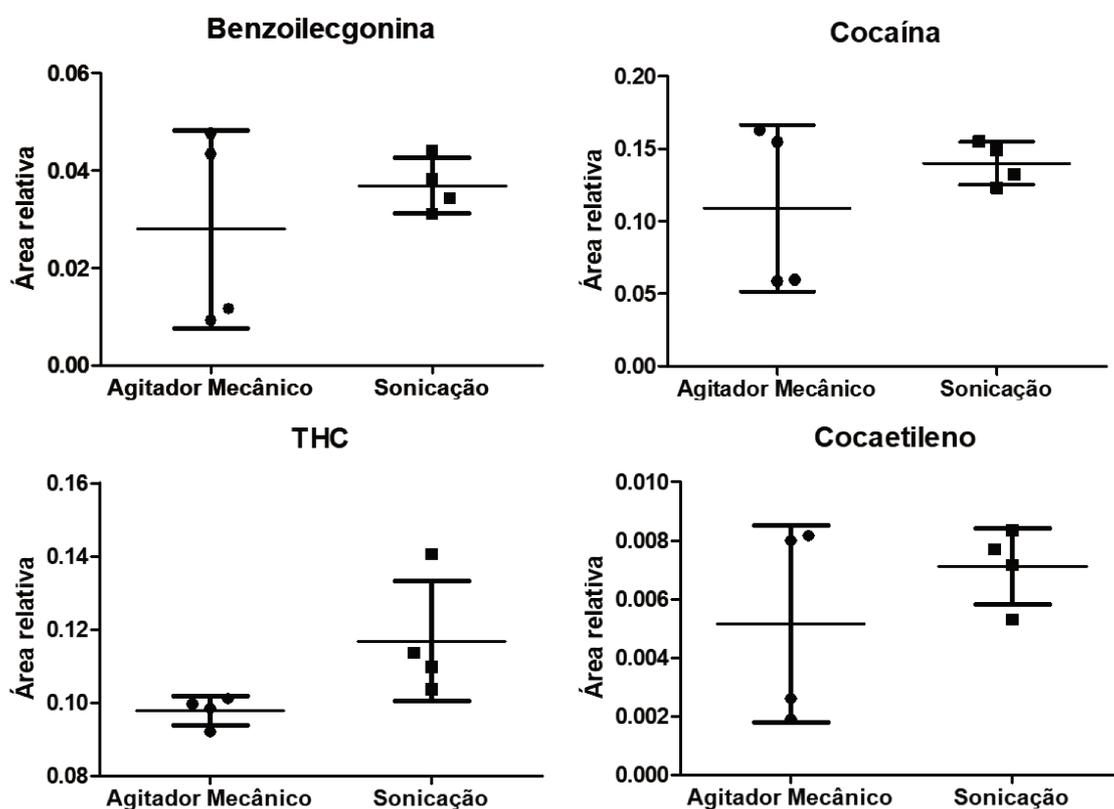
Figura 12 - Avaliação da influência do tempo de extração sobre a área relativa de THC, cocaína e benzoilecgonina. Condição do teste: 20 mg amostras reais positivas para THC e cocaína, submetidas a incubação com 380 μ L de metanol, a 45 °C no termobloco sob agitação mecânica (750 rpm) e analisadas por até doze horas (média da análise de duas réplicas).



Estudo influência do tipo de agitação

Quando amostras positivas para THC e cocaína foram submetidas a diferentes tipos de agitação durante a etapa de extração, observou-se que a agitação em banho ultrassônico (33 kHz) apresentou aumento na média das áreas relativas de 38 % de COE, 32 % de BZE, 28 % de COC e 20 % de THC, quando comparado à incubação do termobloco com agitação mecânica. Além disso, foi observado que a agitação em banho ultrassônico melhorou repetibilidade entre as réplicas analisadas (medido pelo desvio padrão das replicatas). A representação gráfica deste encontra-se na Figura 13.

Figura 13 - Avaliação da influência do tipo de agitação sobre a extração de THC, cocaína e seus produtos de biotransformação. Condição do teste: incubação em termobloco com agitador mecânico (750 rpm) e banho ultrassônico (33 kHz), durante duas horas à 45 °C ($n = 4$) em amostras reais positivas para THC, COC e seus metabólitos (benzoilecgonina e cocaetileno).



4.2. Validação do método

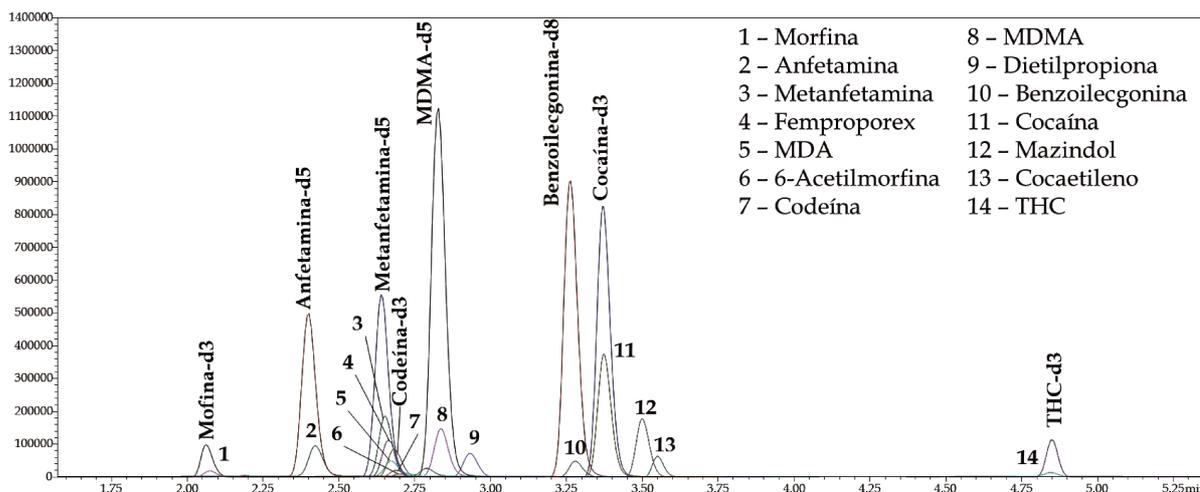
Os limites de detecção (LD) e inferior de quantificação (LQ) dos analitos estão apresentados na Tabela 5 e o cromatograma obtido da fortificação de amostras “em branco” no limite de quantificação, ou seja, de amostras que não possuem os analitos de interesse, consta na Figura 14. Das substâncias investigadas, apenas a AEME não atingiu valores aceitáveis de imprecisão e inexatidão, sendo investigada apenas de forma qualitativa com o limite de detecção de 2,5 pg/mg.

Tabela 5 - Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ).

Analito	LD (ng/mg)	LQ (ng/mg)
---------	------------	------------

Morfina	0,0100	0,1000
Anfetamina	0,0100	0,1000
Codeína	0,0250	0,1000
Metanfetamina	0,0100	0,1000
Femproporex	0,0100	0,1000
MDA	0,0500	0,1000
6-Acetilmorfina	0,0500	0,1000
MDMA	0,0100	0,1000
Dietilpropiona	0,0100	0,1000
Benzoilecgonina	0,0025	0,0250
Cocaína	0,0250	0,2500
Mazindol	0,0250	0,2500
AEME	0,0025	-
Cocaetileno	0,0025	0,0250
THC	0,0250	0,0250

Figura 14 - Cromatograma de íons extraídos de amostra de cabelo negativo (de indivíduo não usuário de SPA) adicionado de padrões na concentração do limite de quantificação e submetido ao método desenvolvido. Condições analíticas, vide item 3.



No estudo de linearidade, foram analisadas cinco replicatas de cada nível de concentração estudado, em intervalos de 100 a 4.000 pg/mg para metanfetamina, MDMA, morfina, anfetamina, 6-acetil morfina, MDA, femproporex, dietilpropiona, codeína; 25 a 1.000 pg/mg para THC, AEME, benzoilecgonina e cocaetileno; e 250 a 10.000 pg/mg para cocaína e mazindol.

A linearidade foi verificada utilizando o Teste-F ($\alpha = 0,05$). Após verificação, constatou-se que todos os analitos possuem variação não-constante entre os limites (inferior e superior), ou seja, possuem distribuição com estrutura heteroscedástica. Os fatores de ponderação e a distribuição estrutural dos respectivos analitos estão apresentadas na Tabela 6. O teste de Grubbs foi aplicado nos resultados reportados para detecção e eliminação dos *outliers* ($\alpha = 0,05$). Com base nesses resultados, foram excluídos do estudo: uma replicata de cocaína, uma de dietilpropiona, uma de morfina, uma de mazindol e uma de THC. Em seguida, o método se mostrou linear pela curva de analítica ($1/x^2$, $r^2 > 0,997$) para todos os analitos e foi visualmente elucidada em gráfico residual apresentados no Anexo 6.

Tabela 6 - Resultados referentes à linearidade do método, apresentação dos fatores de ponderação e a distribuição estrutural de cada analito.

Substância	Fator de ponderação	Distribuição Estrutural	r^2
Mazindol	$1/x^2$	Heteroscedástico	1,000
Metanfetamina	$1/x^2$	Heteroscedástico	0,999
MDMA	$1/x$	Heteroscedástico	0,999

MDA	1/x	Heteroscedástico	0,998
Femproporex	1/x	Heteroscedástico	0,998
Dietilpropiona	1/x ²	Heteroscedástico	0,997
Codeína	1/x ²	Heteroscedástico	0,999
Cocaetileno	1/x	Heteroscedástico	0,999
Benzoilecgonina	1/x ²	Heteroscedástico	0,999
Anfetamina	1/x ²	Heteroscedástico	0,999
6-Acetil morfina	1/x ²	Heteroscedástico	0,999
Cocaína	1/x ²	Heteroscedástico	1,000
Morfina	1/x	Heteroscedástico	0,999
THC	1/x ²	Heteroscedástico	0,997

No estudo de possíveis interferentes, não foi observada presença de interferentes da matriz (seletividade), quando seis amostras de fontes diferentes sem os analitos de interesse (“em branco”), além de duas amostras “em branco” nas quais somente o padrão interno foi adicionado (negativo), foram analisadas. Também não foi observado interferência de compostos exógenos (especificidade) quando uma duplicata de amostras “em branco” foi analisada na presença de 41 substâncias (desmetilvenlafaxina, bupropiona, venlafaxina, amitriptilina, clomipramina, fluoxetina, nortriptilina, mirtazapina, escitalopram nafazolina, salbutamol, ranitidina, domperidona, metoclorpramida, ondansetrona, paracetamol, meloxicam, prednisolona, celecoxibe, prednisona, betametasona, dexametasona, furosemida, hidroclorotiazida, fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, ácido valpróico, haloperidol, risperidona, quetiapina, hidroxizina, prometazina, loratadina, desloratadina, propranolol, captopril, diltiazem, atenolol, atorvastatina e glibenclamida) na concentração de 10 ng/mg.

Os dados do teste de exatidão das análises nos dois níveis de concentração investigados para cada analito são apresentados na Tabela 7. Foram obtidos resultados melhores do que -7,5 % de desvio do valor real, sendo seu limite aceitável de até ± 20 %. Já os valores de imprecisão intra e inter-dia para os dois níveis de concentrações estudados foram analisadas e avaliadas com uma análise de variância *one-way* (ANOVA) de significância na variabilidade $p < 0,05$, e os resultados expressados como desvio padrão relativo (DPR), sendo sempre inferiores a 17,5 %, sendo seu limite aceitável de até ± 20 %.

Durante o estudo de efeito matriz, foi observado supressão de sinal (representado por valores negativos) para maioria dos analitos, com resultados sempre melhores do que 16,7 % de efeito matriz absoluto. Os resultados completos de imprecisão, exatidão e efeito matriz são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados da validação do método (imprecisão intra e inter-dia, inexatidão e efeito matriz), avaliados em dois níveis de concentração*.

Analitos	Imprecisão intra-dia (%DPR)		Imprecisão inter-dia (%DPR)		Inexatidão (%)		Efeito matriz (%)		Estabilidade autosampler 24 horas	
	CQB	CQA	CQB	CQA	CQB	CQA	CQB	CQA	CQB	CQA
	Morfina	10,85	7,28	9,35	6,94	-5,60	1,31	-6,52	-6,52	0,62
Anfetamina	8,77	4,41	7,37	3,95	-5,00	0,82	-7,04	-1,08	-8,49	-1,45
Codeína	6,17	9,33	6,00	7,91	-3,90	0,17	-4,64	-5,19	-11,17	-9,59
Metanfetamina	10,38	4,90	8,66	4,34	-6,00	-0,10	-4,43	-4,46	-11,41	-8,54
Femproporex	10,52	2,76	8,82	3,03	-3,13	0,87	-8,49	-4,25	-6,55	-2,98
MDA	17,49	2,69	14,96	2,94	-3,40	-1,90	7,19	-3,92	0,48	0,86
6-Acetil morfina	12,24	2,21	10,68	3,05	-4,60	-1,73	2,54	-3,67	-6,10	-8,98
MDMA	9,11	2,85	7,90	2,93	-5,57	-0,63	-2,23	-6,21	-3,68	-2,91
Dietilpropiona	16,18	7,72	13,53	6,80	-7,47	-2,06	-8,68	-10,24	-6,59	-3,19
Benzoilecgonina	12,03	3,65	10,03	3,76	-2,93	0,22	-12,09	-5,51	-6,70	-1,13
Cocaína	13,07	3,00	11,01	3,91	-3,40	-1,09	-12,86	-9,11	-17,05	-13,50
Mazindol	17,03	4,57	14,11	4,56	-3,57	1,06	-16,70	-13,85	-10,98	-9,01
Cocaetileno	7,69	2,58	7,00	3,61	-2,40	-0,98	-11,63	-6,99	-14,85	-8,85
THC	12,72	1,48	11,01	3,62	-2,00	-1,18	-15,77	-13,56	-7,73	4,32

*CQB: controle baixo (0,2 ng/mg para metanfetamina, MDMA, morfina, anfetamina, 6-acetil morfina, MDA, femproporex, dietilpropiona, codeína; 0,05 ng/mg para THC, benzoilecgonina e cocaetileno e 0,5 ng/mg para cocaína e mazindol); CQA: controle alto (3 ng/mg metanfetamina, MDMA, morfina, anfetamina, 6-acetil morfina, MDA, femproporex, dietilpropiona, codeína; 0,75 ng/mg THC, benzoilecgonina e cocaetileno; e 7,5 ng/mg cocaína e mazindol).

Nenhum *carryover* foi observado quando a amostra branca foi analisada na sequência do limite superior de quantificação da curva de calibração dos analitos. Os analitos se mostraram estáveis nas condições propostas no teste de estabilidade.

4.3. Aplicação do método desenvolvido na análise de amostras reais

O grupo de pacientes estudados apresentou predominância do sexo feminino (66,9 %) em relação ao masculino (33,1 %). O meio mais comum de tentativa de suicídio foi a ingestão de medicamentos (48,8 %), meio mais comum no sexo feminino (82,0 %) do que no sexo masculino (18,0 %). Comportamentos auto lesivos compreendem o segundo método mais comum (11,3 %) praticado com a mesma frequência entre os sexos. O perfil detalhado do grupo estudado é apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 - Representação do comparativo entre os meios utilizados na tentativa de suicídio e o gênero.

Meios utilizados	Feminino	Masculino	Total
	N (%)	N (%)	N (%)
Afogamento	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Colisão Automobilística	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Comportamentos auto lesivos	9 (5,6)	9 (5,6)	18 (11,3)
Enforcamento	2 (1,3)	9 (5,6)	11 (6,9)
Gás de Cozinha	1 (0,6)	0 (0,0)	1 (0,6)
Ingestão alcoólica	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Ingestão alcoólica e intoxicação por praguicidas	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Ingestão de solventes	0 (0,0)	2 (1,3)	2 (1,3)
Ingestão medicamentosa	64 (40,0)	14 (8,8)	78 (48,8)
Ingestão medicamentosa e alcoólica	1 (0,6)	2 (1,3)	3 (1,9)
Ingestão medicamentosa e comportamento autolesivo	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Ingestão medicamentosa e intoxicação por praguicida	1 (0,6)	0 (0,0)	1 (0,6)
Intoxicação (sem informação)	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Intoxicação por praguicida	6 (3,8)	3 (1,9)	9 (5,6)
Intoxicação por praguicida e afogamento	1 (0,6)	0 (0,0)	1 (0,6)

Intoxicação por praguicida e uso de drogas	1 (0,6)	0 (0,0)	1 (0,6)
Intoxicação por praguicidas e enforcamento	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Jogar-se de altura	3 (1,9)	2 (1,3)	5 (3,1)
Uso de drogas	2 (1,3)	0 (0,0)	2 (1,3)
Uso de drogas, intoxicação de praguicidas, ingestão medicamentosa	0 (0,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Sem informação	16 (10,0)	4 (2,5)	20 (12,5)
Total	107 (66,9)	53 (33,1)	160 (100,0)

Dos 160 pacientes, apenas 109 autorizaram a coleta de amostras de cabelo. Para avaliar o uso crônico de SPA, cada uma seccionada em até cinco segmentos de 1,5 centímetros, representando uma exposição de aproximadamente 5 meses (6,0-7,5 cm distante da raiz), 4 meses (4,5-6,0 cm distante da raiz), 3 meses (3,0-4,5 cm distante da raiz), 2 meses (1,5-3,0 cm distante da raiz) e 1 mês (0-1,5 cm distante da raiz), sendo no total analisados 404 segmentos.

Do total de amostras analisadas, 30,3 % apresentaram resultado positivo para pelo menos uma SPA ($n = 33$), sendo elas a cocaína (90,9 %), codeína (12,1 %), morfina (3,0 %), MDMA (3,0 %) e THC (3,0 %).

Quando observado o percentual entre os sexos dos pacientes que tiveram amostras positivas para cocaína, apurou-se que foi mais frequente entre o sexo feminino (62,1 %) do que no sexo masculino (37,9 %). Para codeína, o percentual entre os sexos foi equivalente (50 % para cada sexo). A amostra que apresentou resultado positivo para THC era do sexo feminino, e de MDMA e morfina ambas do sexo masculino.

Na análise segmentar, do número total de segmentos ($n = 404$), 21,3 % foram positivos, sendo a cocaína a SPA mais encontrada (89,5 % dos segmentos, $n = 77$, Tabela 9) dentre elas, seguida pela codeína com 7,0 % dos segmentos positivos ($n = 6$), THC, MDMA e morfina com apenas um segmento foi positivo em cada caso (1,2 % cada), apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultados das amostras de cabelo dos pacientes investigados que apresentaram resultado positivo para cocaína quando analisadas com o método proposto.

Amostra	Segmento		Concentração em ng/mg		
	A (proximal) - E (distal)	COC*	BZE**	COE***	AEME - Qualitativo
2	A	0,77	0,17	0,08	< LD
5	A	0,44	0,27	< LD	< LD
	B	0,81	0,49	< LD	< LD
	C	0,50	0,43	0,04	< LD
	D	0,55	0,52	0,04	< LD
	E	0,58	0,46	0,04	< LD
7	A	39,60	23,30	0,08	< LD
	B	1,90	0,50	0,07	< LD
	C	44,00	35,90	0,10	< LD
	D	55,50	36,20	0,14	< LD
	E	55,40	43,90	0,15	< LD
11	A	26,06	7,94	0,12	< LD
	A	6,25	2,69	0,05	< LD
	B	9,10	3,89	0,04	< LD
13	C	23,68	10,03	0,08	< LD
	D	14,43	6,23	0,04	< LD
	E	11,48	4,74	0,04	< LD
15	A	2,02	2,24	0,01	< LD
	B	2,26	2,19	0,02	< LD
22	A	0,61	0,29	< LD	< LD
29	A	0,65	0,61	< LD	Detectado
	B	0,55	0,81	< LD	Detectado
	C	0,80	1,29	< LD	Detectado
	D	0,72	1,37	< LD	Detectado
	E	1,42	1,72	< LD	Detectado
33	A	20,93	6,15	0,41	Detectado
34	A	5,98	2,48	0,05	Detectado

	B	4,21	2,10	0,03	Detectado
	C	7,22	2,22	0,05	Detectado
35	A	9,51	5,57	< LD	Detectado
36	A	1,58	2,52	< LD	Detectado
	C	0,55	0,17	< LD	Detectado
37	D	1,27	0,34	< LD	Detectado
	E	3,41	0,90	< LD	Detectado
	A	4,09	2,43	0,22	Detectado
38	B	2,28	1,56	0,04	Detectado
	C	3,77	2,60	0,03	Detectado
	D	26,27	11,17	0,10	Detectado
39	A	8,41	5,49	0,03	Detectado
	B	8,10	4,77	0,05	Detectado
	A	16,13	5,92	0,40	Detectado
40	B	12,77	4,52	0,33	Detectado
	C	12,27	4,59	0,27	Detectado
	D	15,72	6,17	0,34	Detectado
	E	32,30	10,45	0,71	Detectado
	A	1,41	0,39	0,16	Detectado
	B	1,76	0,83	0,24	Detectado
41	C	2,16	0,94	0,30	Detectado
	D	4,03	1,57	0,35	Detectado
	E	15,91	5,10	0,71	Detectado
	A	9,15	5,08	< LD	Detectado
42	B	5,89	4,55	< LD	Detectado
	C	4,10	3,04	< LD	Detectado
	D	5,54	3,92	< LD	Detectado
	E	4,86	4,19	< LD	Detectado
43	A	4,18	4,31	< LD	Detectado
48	A	3,82	1,55	0,74	Detectado
	B	5,19	2,25	0,85	Detectado
50	E	0,30	0,28	< LD	Detectado
51	A	0,26	0,06	< LD	Detectado

64	E	0,29	0,13	< LD	Detectado
71	E	0,34	0,15	< LD	< LD
80	A	2,19	2,68	< LD	Detectado
	B	1,74	2,35	< LD	Detectado
	C	1,54	2,05	< LD	Detectado
	D	2,54	3,30	< LD	Detectado
	E	4,53	3,97	< LD	Detectado
85	D	0,30	0,08	< LD	Detectado
	E	0,41	0,10	< LD	Detectado
86	E	0,25	0,14	< LD	Detectado
87	A	0,49	0,42	< LD	Detectado
	B	0,27	0,30	< LD	Detectado
	C	0,53	0,60	< LD	Detectado
	D	1,20	1,57	< LD	Detectado
	E	1,49	1,39	< LD	Detectado
98	E	0,28	0,13	< LD	Detectado
101	A	2,11	0,82	0,67	Detectado

*COC: cocaína. **BZE: benzoilecgonina. ***COE: cocaetileno.

Em uma análise qualitativa, foi possível detectar a presença de éster metilanidroecgonina (AEME) em 79 segmentos de 21 amostras, sendo que a mesma quantidade foi observada junto da presença de benzoilecgonina. Em 56 segmentos, totalizando 16 amostras (ou 70,9 % dos segmentos) observou-se a presença do AEME juntamente com a cocaína. Em 23 segmentos (ou 8 amostras) foi observada presença concomitante do AEME e cocaetileno.

Como já dito anteriormente, a diferenciação entre o uso de drogas e contaminação externa é um dos desafios para análise de cabelo. Nesta etapa é recomendado que na interpretação dos resultados os metabólitos dos respectivos analitos sejam identificados considerando a razão entre o metabólito e o analito original. Desta forma, na tabela abaixo (Tabela 10) estão as razões encontradas das amostras positivas para cocaína.

Tabela 10 - Interpretação dos resultados de amostras positivos para cocaína utilizando a razão metabólito/analito original.

Amostra	Segmento	Confirmação de cocaína
	A (proximal) - E (distal)	(BZE/COC > 0,05)
2	A	0,22
5	A	0,60
	B	0,61
	C	0,86
	D	0,94
	E	0,79
7	A	0,59
	B	0,26
	C	0,82
	D	0,65
	E	0,79
11	A	0,30
13	A	0,43
	B	0,43
	C	0,42
	D	0,43
	E	0,41
15	A	1,11
	B	0,97
22	A	0,48
29	A	0,93
	B	1,46
	C	1,61
	D	1,91
	E	1,21
33	A	0,29
34	A	0,41
	B	0,50

	C	0,31
35	A	0,59
36	A	1,60
	C	0,31
37	D	0,27
	E	0,26
	A	0,59
38	B	0,69
	C	0,69
	D	0,43
39	A	0,65
	B	0,59
	A	0,37
	B	0,35
40	C	0,37
	D	0,39
	E	0,32
	A	0,28
41	B	0,47
	C	0,43
	D	0,39
	E	0,32
	A	0,56
	B	0,77
42	C	0,74
	D	0,71
	E	0,86
43	A	1,03
	A	0,41
48	B	0,43
50	E	0,93
51	A	0,22
64	E	0,43

71	E	0,44
80	A	1,22
	B	1,35
	C	1,34
	D	1,30
	E	0,88
85	D	0,26
	E	0,25
86	E	0,56
87	A	0,87
	B	1,11
	C	1,13
	D	1,31
	E	0,93
98	E	0,49
101	A	0,39

Das amostras positivas para cocaína ($n = 30$), 76,7 % indicaram exposição recente à substância (aproximadamente 1 mês) quando o segmento proximal foi considerado. Dos segmentos positivos para cocaína, 29,9 % tiveram a presença da cocaína e todos seus metabólitos (AEME, benzoilecgonina e cocaetileno ($n = 23$)). Um dos segmentos positivos para cocaína e seus metabólitos está representado na Figura 15. Esse mesmo comportamento foi observado quando as amostras positivas para codeína ($n = 4$) e morfina ($n = 1$) foram analisadas, sendo 75 % e 100 % respectivamente. Para THC (Figura 16) e MDMA, a análise segmentar foi positiva para segmentos menos recentes indicando uso há 4 e 3 meses, respectivamente (Tabela 11). No entanto, para determinação do consumo de MDMA, seu metabólito (MDA) não foi detectado, não sendo possível a confirmar da positividade desta amostra.

Figura 15 - Cromatograma obtido do resultado positivo para cocaína e seus metabólitos (AEME, cocaetileno e benzoilecgonina) do segmento 40 D.

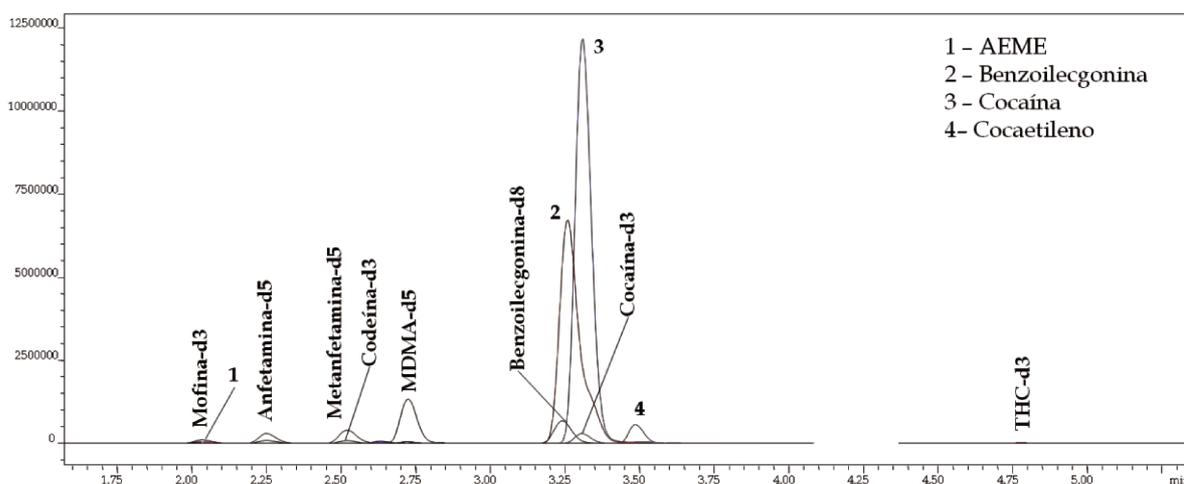


Figura 16 - Cromatograma obtido do resultado positivo para Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) do segmento 13 D.

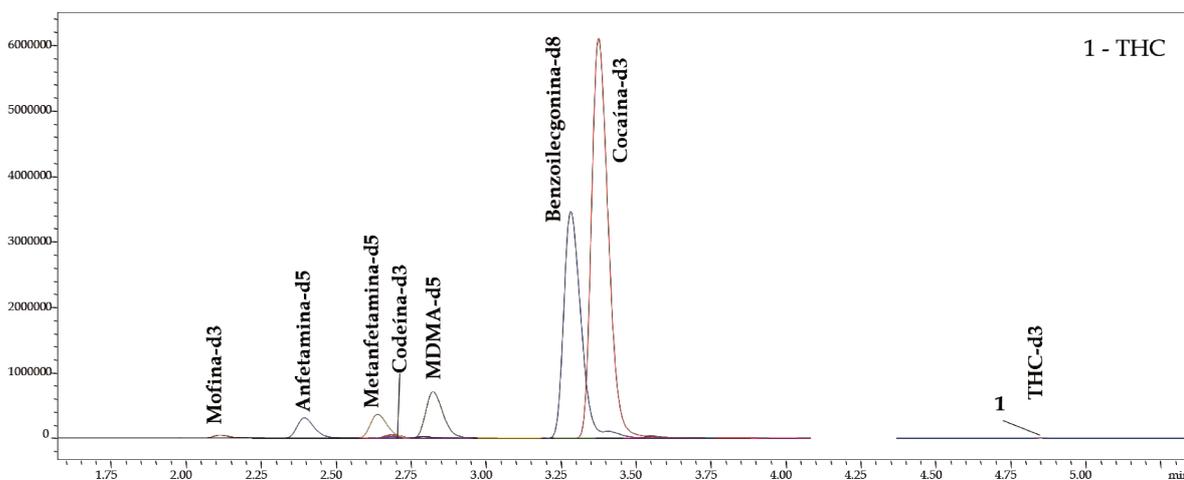


Tabela 11 - Resultados das amostras de cabelo dos pacientes investigados que apresentaram resultado positivo para THC, codeína, MDMA ou morfina quando analisadas com o método proposto.

Amostra	Segmento A (proximal) - E (distal)	Concentração (ng/mg)			
		THC	Codeína	MDMA	Morfina
13	D	0,04	< LD	< LD	< LD
9	A	< LD	0,14	< LD	< LD

	B	< LD	0,24	< LD	< LD
22	A	< LD	0,38	< LD	< LD
98	A	< LD	0,78	< LD	< LD
	B	< LD	0,15	< LD	< LD
105	E	< LD	0,13	< LD	< LD
17	C	0,10	< LD	0,10	< LD
85	A	< LD	< LD	< LD	0,10

5. DISCUSSÃO

A análise de cabelo baseia-se em um procedimento trabalhoso composto por etapas de grande e igual importância. A descontaminação do cabelo constitui a primeira delas. Neste processo, a lavagem do cabelo acontece visando melhorar a recuperação da extração eliminando resíduos externos nas superfícies do cabelo como produtos capilares, suor, sebo e sujeira. Além da retirada de possíveis contaminações externas de drogas presentes no meio ambiente que se depositam no cabelo (1,3,14). Ciclos utilizando solução aquosa e/ou solventes orgânicos com ou sem detergentes são procedimentos recomendados para esta etapa. Dentre estes, o emprego concomitante de diclorometano e o metanol se mostrou eficaz, como citado na literatura (1).

A descontaminação é geralmente seguida da pulverização, que visa aumentar a superfície de contato do cabelo com o solvente extrator de forma não agressiva se comparada a extração empregando ácidos e bases. Conseqüentemente, é capaz de aumentar a homogeneidade da amostra fazendo com que a recuperação do analito seja melhor e o método mais preciso (58,59). Esta etapa pode ser considerada de grande importância para métodos de extração em análise de cabelo (60).

Dentre os procedimentos de extração mais comuns, estão: incubação com metanol, incubação com solução ácida, incubação com solução alcalina, incubação em solução tampão, incubação enzimática (1,15,60) e pulverização (8,60), a grande maioria dos métodos analíticos para diferentes analitos (cocaína, opioides, anfetamínicos e THC) propostos pela UNODC apresentou uma incubação a 45 °C (1).

A extração com metanol tem a capacidade de penetrar nos cabelos, produzindo um inchaço e conseqüentemente, dissolução e liberação da maioria das substâncias (principalmente compostos neutros, hidrofílicos e lipofílicos), além de ser considerado um procedimento leve para compostos instáveis que sofrem hidrólise facilmente (p. ex. heroína e cocaína). Nesta condição a recuperação de substâncias ionizáveis pode ser incompleta e menor comparada a outros processos de extração. Para reverter esta desvantagem o metanol pode ser misturado com um ácido orgânico aquoso, por sonicação em um banho ultrassônico que aumenta a eficiência de extração (1,61,62).

Outro procedimento utilizado é por ácidos aquosos ou por soluções tamponadas no qual produzem um extrato mais limpo comparado ao metanol e as substâncias básicas são extraídas com mais eficiência. Porém, convertem parcialmente a cocaína em benzoilecgonina e a heroína em 6-acetilmorfina (6-MAM) e hidrolisam a 6-MAM em morfina. A incubação com solução alcalina é muito eficaz para compostos como anfetaminas e metabólitos dos canabinoides, entretanto não é um procedimento adequado para substâncias instáveis nesta condição (p. ex. cocaína e benzodiazepínicos) (1,63).

Após a determinação do procedimento de extração e das condições cromatográficas, pode-se iniciar a validação do método seguida de sua aplicação. Os parâmetros analisados foram: linearidade, verificação do valor de corte (representado pelo controle baixo), estudo de interferentes (especificidade, efeito matriz e seletividade) exatidão, imprecisão, *carryover*, limite de detecção, limite de quantificação e estabilidade.

A linearidade foi verificada utilizando o Teste-F ($\alpha = 0,05$) que compara a variância entre dois conjuntos de dados distintos (limites inferior e superior da curva de calibração para determinar se a variação é constante (homoscedasticidade) ou não (heteroscedasticidade) no intervalo estudado (57). Após verificação, constatou-se que todos os analitos possuem variação não-constante entre os limites (inferior e superior), ou seja, possuem distribuição com estrutura heteroscedástica.

O limite de quantificação (LQ) é determinado como a menor concentração quantificável da curva de calibração que preenche a todos os critérios de identificação com coeficiente de variação de 20% de cada concentração a ser quantificada. Já o limite de detecção (LD) é definido como a concentração mais baixa detectável que

obedece a todos os critérios de identificação, possuindo um valor qualitativo ou semi quantitativo.

A seletividade é a capacidade do método de distinguir os analitos na presença de compostos presentes na matriz (p. ex. metabólitos, impurezas e componentes da matriz) garantindo a ausência destes interferentes endógenos da matriz na análise. Já a especificidade é o estudo da interferência de outros analitos usualmente utilizados pela população (56).

O método foi validado seguindo parâmetros recomendados internacionalmente e todos critérios de validação foram aceitos pela recomendação de diretrizes, apresentando imprecisão melhor do que 17,5 %, inexatidão melhor que 7,5 % e efeito matriz melhor que -16,7 % para todos os analitos.

Outra etapa do presente trabalho foi a aplicação deste método em amostras de pessoas que tentaram suicídio e deram entrada no Hospital de Clínicas da UNICAMP no período de 2017-2018. Na análise de cabelo, um resultado positivo pode ser usado para confirmar se uma pessoa fez uso frequente ou foi exposta à droga. O EWDTS utiliza a recomendação específica de valores de corte para testagem de cabelo em casos forenses da SOHT (2).

A contaminação externa é um dos desafios para análise de cabelo. Para sua exclusão a EWTDS recomenda a identificação dos seus respectivos metabólitos. Por exemplo, para confirmação do consumo de cocaína é recomendado a identificação de pelo menos dois de seus metabólitos (benzoilecgonina e/ou cocaetileno e/ou AEME); para confirmação do consumo de heroína, 6- acetilmorfina e morfina devem ser identificados; para confirmação do consumo de metanfetamina, devem ser identificado a anfetamina; e para confirmação do consumo de *ecstasy* (MDMA), o MDA deve ser identificado.

Complementando a interpretação para diferenciação entre uso de drogas e contaminação externa, a UNODC (2014) sugere realizar a razão entre o metabólito e o analito original. Para determinação do consumo de cocaína, a razão da benzoilecgonina/cocaína deve ser superior à 0,05. Para determinação do consumo de heroína, raramente detectada no cabelo, é sugerido uma razão de 6-MAM/morfina maior que 1,3 (1). Para determinação do consumo de metanfetamina e MDMA, a razão da anfetamina/metanfetamina e MDA/MDMA devem estar entre 0,004 - 1,16 e 0,01 - 1,10, respectivamente (16).

Apesar da *Cannabis* ser a droga mais consumida no Brasil (FIOCRUZ) e no mundo (UNODC), foi detectado THC em apenas um segmento de uma amostra com concentração de 36,0 pg/mg. O número de amostras positivas para THC pode ser explicado com base do estudo realizado por Huestis *et al.* (2007), onde as doses controladas de THC foram administradas por via respiratória e por via oral. Pela primeira via, os indivíduos fumaram dois cigarros de aproximadamente 24 mg de THC em um intervalo de sete dias cada. Já pela via oral, os indivíduos ingeriram óleos de cânhamo com diferentes concentrações (0, 0,39, 0,47, 7,5 e 14,8 mg) de THC e dronabinol (THC sintético). As concentrações das doses diárias variaram a cada semana de forma crescente durante cinco dias consecutivos, totalizando 116 mg de THC administrada. As amostras de cabelo foram coletadas no final do período de 10 semanas, cerca de 7 a 10 dias após a última dose ter sido administrada. Como resultado, 36 % dos segmentos analisados ($n = 56$) não detectaram THC e seu metabólito (THC-COOH) considerando um LQ de 1,0 e 0,1 pg/mg, respectivamente. Além disso, as concentrações das amostras positivas variaram de 3,4 a >100 pg/mg de THC (64).

Uma vez que a taxa de incorporação de THC via corrente sanguínea para o cabelo seja quase irrelevante, para alcançar concentrações do valores de corte de THC recomendados pelos guias (50 pg/mg) como EWDTS e SOHT, seria necessário o consumo de THC em quantidades elevadas, o que pode estar associado a uma quantidade maior de THC incorporado através de contaminação externa, como exposição à fumaça e/ou contato cabelo com mão contaminada (65).

Por esta razão, sugere-se que a concentração no cabelo dos usuários de *Cannabis* do presente trabalho, pode estar em menor concentração comparado ao *cut-off* recomendado nos guias (50 pg/mg) e menor do que o LQ do THC deste estudo (25 pg/mg). O uso de protocolo de extração específico para THC talvez resulte em melhor sensibilidade e permita a investigação em menores valores de LQ.

A população brasileira é o principal usuário de cocaína na América do Sul (31) na população entre 12 e 64 anos (30), sendo a SPA detectada com maior frequência entre as amostras positivas (90,9 %) deste estudo. O mesmo pode ser observado no estudo de Huang *et al.* (2009) que detectou cocaína e benzoilecgonina em 53 das 79 amostras analisadas de usuário de drogas com LQ de 10 pg/mg utilizando LC-MS/MS (66).

Por formar um complexo estável com o cabelo, a cocaína requer extrações mais prolongadas (67). Alves *et al.* (2013) determinaram cocaína e seus metabólitos (benzoilecgonina e cocaetilno) utilizando apenas 5 mg de cabelo. A extração foi realizada por incubação em meio ácido por pernoite a 45 °C, injetando 10 µL no LC/MS-MS (LQ de 50 pg/mg, 50 pg/mg e 12 pg/mg para cocaína e cocaetileno e benzoilecgonina, respectivamente) (68). Neste estudo foi possível quantificar os mesmos analitos por 2 h por incubação em metanol a 45 °C em menores concentrações das recomendadas pelos guias (LQ de 250 pg/mg, 25 pg/mg e 25 pg/mg para cocaína e cocaetileno e benzoilecgonina, respectivamente), utilizando 20 mg de cabelo porém injetando 1 µL no LC/MS-MS.

Apesar dos resultados positivos para morfina e codeína (12,1 % e 3,0 % do número total de amostras, respectivamente) não foi possível o acesso à dados indicando se o consumo dessas substâncias foi prescrito por algum profissional da saúde ou se estas substâncias foram utilizadas de forma diferente da prescrita.

Não foi possível a detecção de 7 dos analitos validados em amostras reais, incluindo 6-acetilmorfina, anfetamina, metanfetamina, femproporex, dietilpropiona, mazindol e MDA. Alguns métodos analíticos pra anfetamínicos requerem um longo período de incubação (maiores que 5 horas) (69–72). Lendoiro *et al* (2016) por exemplo, desenvolveram um método por LC-MS/MS com incubação por uma hora à 60 °C em metanol para determinação de anfetaminas em cabelos, incluindo anfetamina, metanfetamina, MDMA, MDA, metilona, metedrona, mefedrona, mCPP, MDPV, TFMPP e trazodona. Do total de amostras analisadas (n = 16) foram encontrados anfetamina, metanfetamina, MDA e MDMA em 7, 3, 2 e 7 amostras, respectivamente (73).

Fernández *et al.* (2014) desenvolveram um método por LC/MS-MS para 33 analitos em cabelo (anfetaminas, cocaína, opiáceos, opióides e seus metabólitos). As amostras foram analisadas depois da incubação em metanol a 45 °C por 4 h em banho-maria sob sonicação de amostras pulverizadas, seguida da extração por extração de fase sólida (do inglês *solid phase extraction*, SPE) (74).

A quantidade de anfetamínicos encontrada neste trabalho pode ser explicada pelo fato da baixa prevalência de consumo destes analitos na população brasileira (1,4 %, segundo levantamento nacional sobre o uso de drogas pela população brasileira realizado pela fundação Oswaldo Cruz (30)).

6. CONCLUSÃO

Foi desenvolvido um método analítico para a quantificação de morfina, codeína, 6-acetilmorfina, anfetamina, metanfetamina, femproporex, dietilpropiona, mazindol, MDA, MDMA, benzoilecgonina, cocaína, cocaetilenol, AEME e THC no cabelo utilizando a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS).

Então, o método foi validado seguindo parâmetros recomendados internacionalmente e todos critérios de validação foram aceitos pelas diretrizes recomendadas. Por fim, o método foi aplicado para análise de amostras de cabelo de pacientes que tentaram suicídio e deram entrada no Hospital de Clínicas da UNICAMP.

Após a aplicação do método, os resultados demonstraram positividade em 30,3 % do total de amostras analisadas para pelo menos uma SPA. Das amostras positivas, 90,9% foram positivas para cocaína com uma maior frequência entre o sexo feminino, seguida de codeína, morfina, MDMA e THC.

Na análise segmental das amostras positivas pôde-se observar uma maior frequência na exposição recente à substância (aproximadamente 1 mês) nas amostras de cocaína, codeína e morfina (76,7%, 75% e 100%, respectivamente), quando o segmento proximal foi considerado.

7. REFERÊNCIAS

1. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Guidelines for Testing Drugs under International Control in Hair, Sweat and Oral Fluid. New York; 2014.
2. Barroso M, Gallardo E. Hair analysis for forensic applications: is the future bright? *Bioanalysis*. 2014;6(1):1–3. doi: 10.4155/bio.13.291.
3. Kintz P, Villain M, Cirimele V. Hair Analysis for Drug Detection. *Ther Drug Monit*. 2006;28(3):442–6. doi: 10.1097/01.ftd.0000211811.27558.b5.
4. Kintz P. Hair analysis in forensic toxicology. *WIREs Forensic Sci*. 2019;1(e1196):1–11. doi: 10.1002/wfs2.1196.
5. Pozebon D, Dressler VL, Curtius AJ. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. *Quim Nov*. 1999;22(6):838–46. doi: 10.1590/S0100-40421999000600011.
6. Kronstrand R, Scott K. Drug Incorporation Into Hair. In: Kintz P, editor. *Analytical and Practical Aspects of Drug Testing in Hair*. Boca Raton: CRC Press; 2006. p. 1–8. doi: 10.1201/9781420006193.
7. Henderson GL. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Forensic Sci Int*. 1993;63:19–29. doi: 10.1097/00007691-199608000-00022.
8. Cuypers E, Flanagan RJ. The interpretation of hair analysis for drugs and drug metabolites. *Clin Toxicol*. 2018;56(2):90–100. doi: 10.1080/15563650.2017.1379603.
9. Cooper GAA. Anatomy and Physiology of Hair, and Principles for its Collection. In: Kintz P, Salomone A, Vincenti M, editors. *Hair Analysis in Clinical and Forensic Toxicology*. Elsevier Inc.; 2015. p. 1–22. doi: 10.1016/B978-0-12-801700-5.00001-7.
10. Chatterton C. External Contamination. In: Kintz P, Salomone A, Vincenti M, editors. *Hair Analysis in Clinical and Forensic Toxicology*. Elsevier; 2015. p. 47–70. doi: 10.1016/B978-0-12-801700-5.00003-0.
11. Tsanaclis L, Andraus M, Wicks J. Hair analysis when external contamination is in question: A review of practical approach for the interpretation of results. *Forensic Sci Int*. 2018;285:105–10. doi: 10.1016/j.forsciint.2018.01.028.
12. Baumgartner AM, Jones PF, Baumgartner WA, Black CT. Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories. *J Nucl Med*. 1979;20(7):748–52.
13. Goldblum RW, Goldbaum LR, Piper WN. Barbiturate concentrations in the skin and hair of guinea pigs. *J Invest Dermatol*. 1954;22(2):121–8. doi:

- 10.1038/jid.1954.16.
14. Garg U, Cooley C. Testing of Drugs of Abuse in Oral Fluid, Sweat, Hair, and Nail. In: *Critical Issues in Alcohol and Drugs of Abuse Testing*. 2 ed. Elsevier; 2019. p. 405–27. doi: 10.1016/B978-0-12-815607-0.00028-9.
 15. Salomone A, Tsanaclis L, Agius R, Kintz P, Baumgartner MR. European guidelines for workplace drug and alcohol testing in hair. *Drug Test Anal*. 2016;8(10):996–1004. doi: 10.1002/dta.1999.
 16. Han E, Park Y, Yang W, Lee J, Lee S, Kim E, et al. The study of metabolite-to-parent drug ratios of methamphetamine and methylenedioxymethamphetamine in hair. *Forensic Sci Int*. 2006;161(2–3):124–9. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.03.031.
 17. World Health Organization. *Preventing suicide: A global imperative*. Geneva: World Health Organization; 2014. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/131056/9789241564779-ger.pdf>
 18. Turecki G, Brent DA, Gunnell D, O'Connor RC, Oquendo MA, Pirkis J, et al. Suicide and suicide risk. *Nat Rev Dis Prim*. 2019;5(1):74. doi: 10.1038/s41572-019-0121-0.
 19. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim Epidemiológico: Perfil epidemiológico das tentativas e óbitos por suicídio no Brasil e a rede de atenção à saúde*. Vol. 48. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. p.1–15. Disponível em: http://www.who.int/mental_health/media/en/59.pdf
 20. Botega NJ, Marín-León L, Oliveira HB de, Barros MB de A, Silva VF da, Dalgalarondo P. Prevalências de ideação, plano e tentativa de suicídio: um inquérito de base populacional em Campinas, São Paulo, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2009;25(12):2632–8. doi: 10.1590/S0102-311X2009001200010.
 21. Beautrais AL, Collings SCD, Ehrhardt P et al. *Suicide Prevention: A review of evidence of risk and protective factors , and points of effective intervention*. Wellington, Nova Zelândia: Ministry of Health; 2005.
 22. Wilcox HC, Conner KR, Caine ED. Association of alcohol and drug use disorders and completed suicide: an empirical review of cohort studies. *Drug Alcohol Depend*. 2004;76:S11–9. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2004.08.003.
 23. Carretta CM, Burgess AW, Dowdell EB, Caldwell BA. Adolescent Suicide Cases: Toxicology Reports and Prescription Drugs. *J Nurse Pract*. 2018;14(7):552–8.

- doi: 10.1016/j.nurpra.2018.05.010.
24. Cantão L, Botti NCL. Comportamento suicida entre dependentes químicos. *Rev Bras Enferm.* 2016;69(2):366–73. doi: 10.1590/0034-7167.2016690224i.
 25. Dragisic T, Dickov A, Dickov V, Mijatovic V. Drug Addiction as Risk for Suicide Attempts. *Mater Sociomed.* 2015;27(3):188–91. doi: 10.5455/msm.2015.27.188-191.
 26. PO, United Nations Office on Drugs and CrPO, U. N. O. ON D. AND C. World Drug Report (United Nations Publication SNE 19. X 8). 2019Disponível em: <wdr.unodc.org/>im. World Drug Report (United Nations Publication, Sales No. E.19.XI.8). In 2019. p. 9–10.
 27. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Global overview of drug demand and supply. In United Nations Publications; 2019. p. 1–66. doi: 10.18356/bdc264f4-en.
 28. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). World Drug Report 2019: Stimulants. 2019. Disponível em: <https://wdr.unodc.org/wdr2019/en/stimulants.html>
 29. Ritchie H, Roser M. Drug Use. OurWorldInData.org. 2019 [Acesso em: 2020 Jan 2]. Disponível em: <https://ourworldindata.org/drug-use>
 30. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde. III Levantamento nacional sobre o uso de drogas pela população brasileira. Rio de Janeiro; 2017.
 31. Ribeiro M, Perrenoud LO, Duailibi S, Duailibi LB, Madruga C, Marques ACPR, et al. The Brazilian Drug Policy Situation: The Public Health Approach Based on Research Undertaken in a Developing Country. *Public Health Rev.* 2013;35(2):1–22. doi: 10.1007/BF03391706.
 32. Radwan MM, Wanas AS, Chandra S, ElSohly MA. Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology. Chandra S, Lata H, ElSohly MA, editors. Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology. Springer International Publishing; 2017. p.161–182. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-54564-6>
 33. Kalant H. Medicinal Use of Cannabis: History and Current Status. *Pain Res Manag.* 2001;6(2):80–91. doi: 10.1155/2001/469629.
 34. ElSohly MA, Radwan MM, Gul W, Chandra S, Galal A. Phytochemistry of Cannabis sativa L. In: Kinghorn AD, Falk H, Gibbons S, Kobayashi J, editors. Phytocannabinoids: unraveling the complex chemistry and pharmacology of

- Cannabis sativa. Springer International Publishing Switzerland; 2017. p. 1–36. doi: 10.1007/978-3-319-45541-9_1.
35. Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, et al. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *J Ethnopharmacol.* 2018;227:300–15. doi: 10.1016/j.jep.2018.09.004.
 36. World Health Organization. The health and social effects of nonmedical cannabis use. Geneva; 2016. Disponível em: https://www.who.int/substance_abuse/publications/cannabis_report/en/index3.html
 37. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol.* 2011;163:1344–64. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x.
 38. World Health Organization. Cannabis and cannabis resin. Geneva; 2018. Disponível em: <https://www.who.int/medicines/access/controlled-substances/Cannabis-and-cannabis-resin.pdf?ua=1>
 39. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation and structure of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and other neutral cannabinoids from hashish. *J Am Chem Soc.* 1971;93(1):217–24. doi: 10.1021/ja00730a036.
 40. Moreau RL de M. Cannabis. In: OGA S, CAMARGO MMDA, BATISTUZZO JADO, editors. *Fundamentos de Toxicologia.* 4th ed. São Paulo: ATHENEU; 2008. p. 435–46.
 41. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol.* 1988;34(5):605–13.
 42. Devane W, Hanus L, Breuer A, Pertwee R, Stevenson L, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science (80-).* 1992;258(5090):1946–9. doi: 10.1126/science.1470919.
 43. Zuardi AW. History of cannabis as a medicine: a review. *Rev Bras Psiquiatr.* 2006;28(2):153–7. doi: 10.1590/S1516-44462006000200015.
 44. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz J-C, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature.* 1994;372(6507):686–91. doi: 10.1038/372686a0.
 45. Masia S, Zaklin R. Cannabinoids and the endocannabinoid system: Emerging

- Trends. Pract. Neurol. 2016. Disponível em: http://v2.practicalneurology.com/pdfs/PN1216_SF_Cannibas.pdf
46. Aguilar S, Gutiérrez V, Sánchez L, Nougier M. Medicinal cannabis policies and practices around the world. IDPC Briefing Paper. Londres; 2018. Disponível em: <https://idpc.net/publications/2018/04/medicinal-cannabis-policies-and-practices-around-the-world>
 47. Chasin AA da M, Silva ES da, Carvalho VM. Estimulantes do Sistema Nervoso Central. In: OGA S, CAMARGO MMDA, BATISTUZZO JADO, editors. Fundamentos de Toxicologia. 4th ed. São Paulo: ATHENEU; 2014. p. 366–83.
 48. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). World Drug Report 2019: Depressants. United Nations Publications; 2019. Disponível em: https://wdr.unodc.org/wdr2019/prelaunch/WDR19_Booklet_3_DEPRESSANTS.pdf
 49. Oliveira GH de, Camargo MM de A. Opiáceos e opioides. In: Oga S, Camargo MM de A, Batistuzz JA de O, editors. Fundamentos de Toxicologia. 4th ed. São Paulo: ATHENEU; 2014. p. 354–64.
 50. Trivedi M, Shaikh S, Gwinnut C. Pharmacology of opioids. *Updat Anaesth.* 2007;118–24. doi: 10.5694/j.1326-5377.1986.tb113800.x.
 51. Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validacao em metodos cromatograficos e eletroforeticos. *Quim Nov.* 2004;27(5):771–80.
 52. Collins CH, Braga GL, Bonato PS. Introdução a métodos cromatográficos. 7th ed. Campinas, São Paulo: Editora da Unicamp; 1997.
 53. Grapp M, Maurer HH, Desel H. Systematic forensic toxicological analysis by GC-MS in serum using automated mass spectral deconvolution and identification system. *Drug Test Anal.* 2016;8(8):816–25. doi: 10.1002/dta.1848.
 54. Vairamani M. Mass spectral and GC Ddta of drugs, poisons, pesticides, pollutants and their metabolites, Volume 1: Methods and tables; Volume 2: Mass spectra, 3rd Revised and Enlarged Edition Hans H. Maurer Karl Pflieger Armin A. Weber. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2008;19(1):R1–2. doi: 10.1016/j.jasms.2007.10.004.
 55. Munich PLD, Bonn MF, Bern AB, Freiburg A V., Homburg KT, Jena PFT, et al. Guideline for quality control in forensic-toxicological analyses Authors: Jena, Alemanha; 2009.
 56. Peters FT, Drummer OH, Musshoff F. Validation of new methods. *Forensic Sci*

- Int. 2007;165(2–3):216–24. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.05.021.
57. Almeida A., Castel-Branco M., Falcão A. Linear regression for calibration lines revisited: weighting schemes for bioanalytical methods. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2002;774(2):215–22. doi: 10.1016/S1570-0232(02)00244-1.
 58. Chagas AG da R, Spinelli E, Fiaux SB, Barreto A da S, Rodrigues SV. Particle-size distribution (PSD) of pulverized hair: A quantitative approach of milling efficiency and its correlation with drug extraction efficiency. *Forensic Sci Int.* 2017;277:188–96. doi: 10.1016/j.forsciint.2017.06.008.
 59. Kronstrand R, Forsman M, Seldén T. Hair Sample Preparation, Extraction, and Screening Procedures for Drugs of Abuse and Pharmaceuticals. In: Kintz P, Salomone A, Vincenti M, editors. *Hair Analysis in Clinical and Forensic Toxicology*. 2nd ed. Elsevier; 2015. p. 23–46. doi: 10.1016/B978-0-12-801700-5.00002-9.
 60. Sociedade Brasileira de Toxicologia. Diretrizes sobre o exame de substâncias psicoativas em cabelos e pelos: coleta e análise. 2015 p. 25.
 61. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta.* 2006;370(1–2):17–49. doi: 10.1016/j.cca.2006.02.019.
 62. Cooper GAA, Kronstrand R, Kintz P. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic Sci Int.* 2012;218(1–3):20–4. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.10.024.
 63. Usman M, Naseer A, Baig Y, Jamshaid T, Shahwar M, Khurshuid S. Forensic toxicological analysis of hair: a review. *Egypt J Forensic Sci.* 2019;9(1):17. doi: 10.1186/s41935-019-0119-5.
 64. Huestis MA, Gustafson RA, Moolchan ET, Barnes A, Bourland JA, Sweeney SA, et al. Cannabinoid concentrations in hair from documented cannabis users. *Forensic Sci Int.* 2007;169(2–3):129–36. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.08.005.
 65. Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Finding cannabinoids in hair does not prove cannabis consumption. *Sci Rep.* 2015;5(1):14906. doi: 10.1038/srep14906.
 66. Huang D-K, Liu C, Huang M-K, Chien C-S. Simultaneous determination of morphine, codeine, 6-acetylmorphine, cocaine and benzoylecgonine in hair by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2009;23(7):957–62. doi: 10.1002/rcm.3955.

67. Harrison R, Fu S. A Review of Methodology for Testing Hair for Cocaine. *J Forensic Investig.* 2014;2(1):1–8. doi: 10.13188/2330-0396.1000007.
68. Alves MNR, Zanchetti G, Piccinotti A, Tameni S, De Martinis BS, Poletti A. Determination of cocaine and metabolites in hair by column-switching LC-MS-MS analysis. *Anal Bioanal Chem.* 2013;405(19):6299–306. doi: 10.1007/s00216-013-7046-3.
69. Lee S, Kim J, In S, Choi H, Oh SM, Jang C-G, et al. Development of a simultaneous analytical method for selected anorectics, methamphetamine, MDMA, and their metabolites in hair using LC-MS/MS to prove anorectics abuse. *Anal Bioanal Chem.* 2012;403(5):1385–94. doi: 10.1007/s00216-012-5950-6.
70. Pujadas M, Pichini S, Poudevida S, Menoyo E, Zuccaro P, Farré M, et al. Development and validation of a gas chromatography-mass spectrometry assay for hair analysis of amphetamine, methamphetamine and methylenedioxy derivatives. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2003;798(2):249–55. doi: 10.1016/j.jchromb.2003.09.056.
71. Imbert L, Dulaurent S, Mercerolle M, Morichon J, Lachâtre G, Gaulier J-M. Development and validation of a single LC-MS/MS assay following SPE for simultaneous hair analysis of amphetamines, opiates, cocaine and metabolites. *Forensic Sci Int.* 2014;234:132–8. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.11.004.
72. Aleksa K, Walasek P, Fulga N, Kapur B, Gareri J, Koren G. Simultaneous detection of seventeen drugs of abuse and metabolites in hair using solid phase micro extraction (SPME) with GC/MS. *Forensic Sci Int.* 2012;218(1–3):31–6. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.10.002.
73. Lendoiro E, Jiménez-Morigosa C, Cruz A, Páramo M, López-Rivadulla M, de Castro A. An LC-MS/MS methodological approach to the analysis of hair for amphetamine-type-stimulant (ATS) drugs, including selected synthetic cathinones and piperazines. *Drug Test Anal.* 2017;9(1):96–105. doi: 10.1002/dta.1948.
74. Fernández M del MR, Di Fazio V, Wille SMR, Kummer N, Samyn N. A quantitative, selective and fast ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of 33 basic drugs in hair (amphetamines, cocaine, opiates, opioids and metabolites). *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2014;965:7–18. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.05.055.

8. ANEXO

ANEXO 1 – Parecer consubstanciado do Cômite de Ética em Pesquisa (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Suicídio na Emergência: estudo de relações entre uso de substâncias psicoativas, tentativas de suicídio em unidade de emergência referenciada e suicídios consumados em Instituto Médico Legal da cidade de Campinas -SP

Pesquisador: Karina Diniz Oliveira

Área Temática:

Versão: 9

CAAE: 58187818.8.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.457.848

Apresentação do Projeto:

Esta versão trata-se de uma emenda que visa inserir as alunas Marília Santoro e Mariana Cristina da Silva como membros da equipe de pesquisa.

Objetivo da Pesquisa:

Mantidos em relação ao projeto original.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Mantidos em relação ao projeto original.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Segundo as informações da pesquisadora responsável contempladas no documento anexado "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1368083_E3.pdf 21/06/2019 12:53:18 ", a justificativa para a inclusão das alunas é: "As alunas Marília Santoro e Mariana Cristina da Silva participarão do projeto auxiliando a realização das análises laboratoriais das amostras coletadas."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Na avaliação desta emenda foi analisado o documento anexado: "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1368083_ E3.pdf 21/06/2019 12:53:18".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Paciente

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um estudo. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos e deveres como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Se você não quiser participar ou retirar sua autorização, a qualquer momento, não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo.

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa denominada SUICÍDIO NA EMERGÊNCIA: ESTUDO DE RELAÇÕES ENTRE USO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS (SPA) TENTATIVAS DE SUICÍDIO EM UNIDADE DE EMERGÊNCIA REFERENCIADA (UER) E SUICÍDIOS CONSUMADOS DO INSTITUTO MÉDICO LEGAL DA CIDADE DE CAMPINAS -SP, que visa a avaliar a relação existente entre o consumo de drogas e eventos relacionados a vontade de acabar com a própria vida entre os pacientes atendidos na Unidade de Emergência Referenciada do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

1- Justificativa e objetivos

O suicídio é uma das principais causas de morte na população brasileira, principalmente entre jovens, e pode ser prevenido se algumas de suas causas forem conhecidas. Um desses fatores é o uso de drogas, que está associado a maiores taxas de suicídio tanto em adultos quanto em adolescentes.

Um dos objetivos desse estudo é pesquisar fatores que possam levar o indivíduo a tentar ou cometer suicídio, para que as medidas de prevenção sejam adequadas.

2- Procedimentos

Ao participar do estudo você será convidado a responder um questionário, o que levará de 5 a 15 minutos em média. Além disso, precisamos que você autorize a coleta de amostras de cabelo, sangue e urina para que seja realizada uma análise visando a procurar vestígios de álcool, cocaína/crack e THC (maconha), além de outras substâncias ou eventuais fatores de risco. É importante salientar que a coleta de sangue e urina e a avaliação de risco são procedimentos que são parte da rotina do atendimento a vítimas de tentativa de suicídio. O que irá diferir nesse estudo será um questionário aplicado a quem concordar com a participação, além de coleta de amostras de cabelo para análise. Além disso, após a alta, apenas os participantes receberão telefonemas, para verificação de adesão ao tratamento, eventual uso de drogas e vontade de acabar com a própria vida. A participação é voluntária e é importante ressaltar que durante a resposta ao questionário existe o risco de você ficar desconfortável com as perguntas. Caso haja algum desconforto ou dúvida não solucionada a respeito da pesquisa, ou por qualquer outro motivo, você poderá manifestar isso ao pesquisador e poderá retirar-se da pesquisa a qualquer momento enquanto o questionário é realizado. Para melhorar o diagnóstico sua amostra poderá ser enviada a outro serviço e redirecionada ao biorrepositório da Unicamp.

- () concordo com a utilização da análise de amostra de sangue
- () concordo com a utilização da análise de amostra de urina
- () concordo com a coleta e análise de amostra do cabelo

A participação é voluntária e a recusa não interferirá no tratamento. O sigilo será mantido para a posterior análise dos dados.

Você terá acesso a todos os exames que forem relevantes ao seu tratamento e seguimento. Os resultados referentes a esse estudo serão fornecidos pelos pesquisadores, que fazem parte da equipe de emergência psiquiátrica que fará o seu atendimento.

Caso não haja autorização, suas respostas não serão analisadas, o questionário não será aplicado, as amostras coletadas não serão analisadas, e você não receberá telefonema, mas os demais procedimentos serão mantidos, pois fazem parte da rotina a vítimas de tentativa de suicídio.

3- Dos riscos

Caso a resposta ao questionário ou a coleta de amostra de cabelo sejam desagradáveis para você, ou causem algum desconforto, salientamos que será possível interromper a resposta ao questionário ou a coleta do cabelo, bem como a participação no estudo de uma maneira geral.

4- Dos benefícios

Ao participar do estudo você será mais detalhadamente avaliado acerca da história de uso de drogas, bem como receberá um maior acolhimento, através do telefonema, o que aumentará as chances de você realizar o tratamento.

Socialmente, a avaliação de suas respostas e a análise de suas amostras serão benéficas para o desenvolvimento de avaliação de risco e estabelecimento da relação entre uso de SPA e suicídio, bem como de investigação de outras eventuais causas do problema, melhorando as medidas de prevenção do problema.

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado.

Independente de participar do estudo, você terá acesso aos resultados de exames coletados, pois isso é um direito do paciente. Os resultados poderão ser fornecidos por um dos pesquisadores ou pelo médico assistente que o atenda na Unidade de Emergência Referenciada.

5- Ressarcimento e indenização

Você não será ressarcido pois toda coleta de dados será feita durante a rotina de atendimento na UER.

Você terá garantia ao direito à indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

6- Armazenamento de material

O armazenamento do material coletado será realizado para que possa ser objeto de eventuais novas pesquisas de elementos que possam ser associados a maior risco de suicídio.

Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP);

() concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

() concordo em participar do do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do material biológico, sendo necessário meu consentimento a

cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

O descarte do material armazenado será autorizado caso o paciente manifeste sua vontade nesse sentido.

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____.

Após a avaliação dos dados, haverá sigilo em relação a identidade dos participantes. Os resultados da pesquisa poderão ser apresentados e publicados em congressos e revistas científicas da área, mantendo-se o sigilo sobre os participantes. Em caso de dúvida, contatar a responsável pela pesquisa, Dra. Karina Diniz Oliveira, na Unidade de Emergência Referenciada do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, pelo telefone (019) 3521-8773. Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, CEP 13083887, Campinas, SP, e-mail karina.dinizoliveira@gmail.com.

Os pesquisadores se comprometem a cumprir todos os preceitos éticos e a fornecer todas as informações necessárias acerca do estudo, bem como de eventuais dúvidas e procedimentos, a qualquer momento em que solicitado.

Ao assinar esse termo de consentimento livre e esclarecido, em duas vias de igual teor, você declara que leu, compreendeu, tirou suas dúvidas e concordou em responder o questionário e ter as amostras de sangue, cabelo e urina analisadas. Uma das vias será fornecida a você pelo pesquisador.

Participante

Nome: _____

RG: _____ CPF: _____

Assinatura: _____

Responsável pela aplicação

Nome: _____

RG: _____ CPF: _____

Assinatura: _____

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Unicamp, conforme decisão. Em caso de dúvidas, reclamações ou eventuais informações complementares: Telefone do CEP: (019) 3521-8936 Fax: (019) 3521-7187 Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, CEP 13083887, Campinas, SP.

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma cópia deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do pesquisador)

ANEXO 3 - Questionário sócio demográfico

1. Identificação

1.1 Idade: _____

1.2 Gênero **1.2.1** masc () **1.2.2** fem () **1.2.3** nsa()

1.3 Religião: _____

Prática religiosa: **1.3.1** não () **1.3.2** semanal () **1.3.3** mensal () **1.3.4** nsa ()

1.4 Escolaridade:

1.4.1 não () 1.4.2 alfabetizado () 1.4.3 até 4 anos ()

1.4.4 4 a 8 anos () 1.4.5- 8 a 11 anos () 1.4.6 mais de 11 anos ()

1.4.7 pós graduação () 1.4.8 nsa ()

1.5 Atividade laborativa

Exerce 1.5.1 () não 1.5.2 () sim 1.5.3 nsa ()

Se não, qual a situação: 1.5.4 afastado () 1.5.5 desempregado ()

1.5.6 Aposentado () 1.5.7 Outra ocupação ()

1.5.8 Vinculo Informal () 1.5.9. Vinculo Formal () 1.5.10. nsa ()

1.6 Renda *per capita* familiar: 1.6.1 _____

1.7 Estado Civil 1.7.1 () casado 1.7.2 () solteiro 1.7.3 () união estável

1.7.4 () separado/divorciado 1.7.5 () viúvo 1.7.6 () nsa

1.8 Filhos: 1.8.1 não () 1.8.2 sim () 1.8.3 Quantos? _____

1.9 Moradia

1.9.1 Só () 1.9.2 Com parentes () Quais?

1.9.2.1 pais ()

1.9.2.2 companheiro ()

1.9.2.3 irmãos ()

1.9.2.4 filhos ()

1.9.2.5 pais e irmãos ()

1.9.2.6 companheiro e filhos ()

1.9.2.7 amigos ()

1.9.2.8 outros () 1.9.2.9. nsa ()

Moradia

1.9.3 Própria () 1.9.4 Alugada () 1.9.4.1 nsa ()

1. Uso de SPA**Fez uso de alguma SPA até 3 dias antes da entrada no UER? QUAL? Há quanto tempo?**2.1 **Álcool**: 2.1.1. não () 2.1.2 sim () 2.1.3 nsa ()

2.1.3 Idade de início: 2.1.3.1 até 12 anos ()

2.1.3.2 de 12 a 15 ()

2.1.3.3 de 15 a 18 ()

2.1.3.4 acima de 18 anos () 2.1.3.5 nsa ()

- 2.1.4 Frequência de uso: 2.1.4.1 diária ()
 2.1.4.2 dias alternados ()
 2.1.4.3 três vezes por semana ()
 2.1.4.4 semanal ()
 2.1.4.5 quinzenal ()
 2.1.4.6 mensal ()
 2.1.4.7 menos que mensal ()
 2.1.4.8 abstinente há mais de 12 meses () 2.1.4.9 nsa ()
 2.1.5 Quantidade quando usa: 2.1.5.1 até 2 u.a. ()
 2.1.5.2 de 2 a 10 u.a. ()
 2.1.5.3 mais de 10 u.a. () 2.1.5.4 nsa ()
- 2.1.6. Tratamento 2.1.6.1 Sim () 2.1.6.2 Não () 2.1.6.3 nsa()
- 2.1.7. Contexto de uso 2.1.7.1 Sozinho () 2.1.7.2 em grupo ()
 2.1.7.3 nsa ()

J. DEPENDÊNCIA / ABUSO DE ÁLCOOL

- J1 Nos últimos 12 meses, por mais de três vezes você bebeu, em menos de três horas, mais do que cinco latas de cerveja ou uma garrafa de vinho ou três doses de uma bebida alcoólica forte (pinga, caipirinha, conhaque, vodka, whisky...)? NÃO SIM
- J2 **Durante os últimos 12 meses:**
- a Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores de álcool para obter o mesmo efeito? NÃO SIM
- b Quando bebia menos, as suas mãos tremiam, transpirava ou sentia-se agitado (a)?
 Alguma vez bebeu uma dose para evitar esses problemas ou evitar uma ressaca? NÃO SIM
- COTAR **“SIM”**, SE RESPOSTA **“SIM”** NUM CASO OU NO OUTRO
- c Quando começava a beber, com frequência bebia mais do que pretendia? NÃO SIM
- d Tentou, mas não conseguiu diminuir seu consumo de álcool ou parar de beber? NÃO SIM
- e Nos dias em que bebia, passava muito tempo procurando bebida, bebendo ou se recuperando dos efeitos do álcool? NÃO SIM

- f Reduziu suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da bebida? NÃO SIM
- g Continuou a beber mesmo sabendo que isso lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM
- O(A) ENTREVISTADO(A) APRESENTA UMA DEPENDÊNCIA DE ÁLCOOL? NÃO SIM

Durante os últimos 12 meses:

J3

- A Ficou embriagado ou de “ressaca” várias vezes, quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "**SIM**" SOMENTE SE A EMBRIAGUEZ / RESSACA CAUSOU PROBLEMAS
- B Alguma vez esteve sob o efeito do álcool em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso...? NÃO SIM
- C Teve problemas legais como uma interpelação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha bebido? NÃO SIM
- D Continuou a beber mesmo sabendo que a bebida lhe causava problemas com seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

NÃO SIM

O entrevistado apresenta abuso de álcool?

2.2 **Canabíoides:** 2.2.1 não () 2.2.2 sim () 2.2.3 nsa ()

2.2.3 Idade de início 2.2.3.1 até 12 anos ()

2.2.3.2 de 12 a 15 ()

2.2.3.3 de 15 a 18 ()

2.2.3.4 acima de 18 anos () 2.2.3.5 nsa ()

2.2.4 Frequência de uso 2.2.4.1 diária () 2.2.4.2 dias alternados ()

2.2.4.3 três vezes por semana ()

2.2.4.4 semanal ()

2.2.4.5 quinzenal ()

2.2.4.6 mensal ()

2.2.4.7 menos que mensal ()

2.2.4.8 abstinente há mais de 12 meses () 2.2.4.9 nsa ()

- 2.2.5 Quantidade 2.2.5.1 até 2 gramas ()
 2.2.5.2 de 2 a 5 gramas ()
 2.2.5.3 mais de 5 gramas ()
 2.2.5.4 nsa ()
- 2.2.6 Via 2.2.6.1 ingerida () 2.2.6.2 inalada () 2.2.6.3 nsa ()
- 2.2.7 Tratamento 2.2.7.1 Sim () 2.2.7.2 Nao () 2.2.7.3 nsa ()
- 2.2.8 Contexto de uso 2.2.8.1 Sozinho 2.2.8.2 Em grupo () 2.2.8.3 nsa ()

K Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

- A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? NÃO SIM
- B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
 Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? NÃO SIM
 COTAR “**SIM**”, SE RESPOSTA “**SIM**” NUM CASO OU NO OUTRO
- C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? NÃO SIM
- D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? NÃO SIM
- E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM
- F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM
- G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causando problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM
- O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 Durante os últimos 12 meses:

- a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS
- b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM
- c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM
- d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.3 **Cocaína:** 2.3.1 não () 2.3.2 sim ()

2.3.3 Idade de início: 2.3.3.1 até 12 anos ()
2.3.3.2 de 12 a 15 ()
2.3.3.3 de 15 a 18 ()
2.3.3.4 acima de 18 anos ()

2.3.4 Frequência de uso: 2.3.4.1 diária ()
2.3.4.2 dias alternados ()
2.3.4.3 três vezes por semana ()
2.3.4.4 semanal ()
2.3.4.5 quinzenal ()
2.3.4.6 mensal ()
2.3.4.7 menos que mensal ()
2.3.4.8 abstinente há mais de 12 meses ()
2.3.4.9 nsa ()

2.3.5 Via: 2.3.5.1 Inalada ()
2.3.5.2 Endovenosa ()
2.3.5.3 oral ()
2.3.5.4 retal () 2.3.5.5. nsa ()

2.3.6 Quantidade 2.3.6.1 até 2 gramas ()
2.3.6.2 de 2 a 5 gramas ()
2.3.6.3 mais de 5 gramas () 2.3.6.4 nsa ()

2.3.7. Tratamento 2.3.7.1 Sim () 2.3.7.2 Não () 2.3.7.3
nsa()
2.3.8 Contexto de uso 2.3.8.1 Sozinho 2.3.8.2 Em grupo () 2.3.8.3 nsa
()

Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:		
K		
2		
* Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito?	NÃO	SIM
B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)? Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? COTAR "SIM" , SE RESPOSTA "SIM" NUM CASO OU NO OUTRO	NÃO	SIM
C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia?	NÃO	SIM
D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar?	NÃO	SIM
E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas?	NÃO	SIM
F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga?	NÃO	SIM
G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos?	NÃO	SIM
O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA?	NÃO	SIM
K		
3 Durante os últimos 12 meses:		
a Por várias vezes ficou intoxicado ou "de cabeça feita / chapado" quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS	NÃO	SIM
b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.?	NÃO	SIM

- c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM
- d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.4 **Crack**: 2.4.1 não () 2.4.2 sim ()

2.4.3 Idade de início: 2.4.3.1 até 12 anos ()
 2.4.3.2 de 12 a 15 ()
 2.4.3.3 de 15 a 18 ()
 2.4.3.4 acima de 18 anos ()

2.4.4 Freqüência de uso 2.4.4.1 diária ()
 2.4.4.2 dias alternados ()
 2.4.4.3 três vezes por semana ()
 2.4.4.4 semanal ()
 2.4.4.5 quinzenal ()
 2.4.4.6 mensal ()
 2.4.4.7 menos que mensal ()
 2.4.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()
 2.4.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()

2.4.5 Quantidade: 2.4.5.1 até 2 gramas ()
 2.4.5.2 de 2 a 5 gramas ()
 2.4.5.3 mais de 5 gramas ()

2.4.6. Tratamento 2.6.6.1 Sim () 2.6.6.2 Não () 2.6.6.3 nsa
 2.4.7 Contexto de uso 2.4.7.1 Sozinho () 2.4.7.2 Em grupo () 2.4.7.3 nsa ()

K

2 Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? NÃO SIM

B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarréia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
 Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? NÃO SIM

COTAR “**SIM**”, SE RESPOSTA “**SIM**” NUM CASO OU NO OUTRO

- C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? NÃO SIM
- D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? NÃO SIM
- E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM
- F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM
- G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 Durante os últimos 12 meses:

- a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS
- b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM
- c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM
- d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO
SIM

2.5 Opióides: 2.5.1 não () 2.5.2 sim ()

2.5.3 Idade de início: 2.5.3.1 até 12 anos ()

2.5.3.2 de 12 a 15 ()

2.5.3.3 de 15 a 18 ()

2.5.3.4 acima de 18 anos ()

2.5.4 Frequência de uso: 2.5.4.1 diária ()

2.5.4.2 dias alternados ()

2.5.4.3 três vezes por semana ()

2.5.4.4 semanal ()

2.5.4.5 quinzenal ()

2.5.4.6 mensal ()

2.5.4.7 menos que mensal ()

2.5.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()

2.5.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()

2.5.5 Via: 2.5.5.1 Inalada ()

2.5.5.2 Endovenosa ()

2.5.5.3 cutânea ()

2.5.5.4 oral ()

2.5.5.5 retal ()

2.5.6 Quantidade 2.5.6.1 até 2 gramas ()

2.5.6.2 de 2 a 5 gramas ()

2.5.6.2 de 2 a 5 gramas ()

2.5.6.3 mais de 5 gramas ()

2.5.7. Tratamento

2.5.7.1 Sim () 2.5.7.2 Não () 2.5.7.3 nsa()

2.5.8 Contexto de uso

2.5.8.1 Sozinho 2.5.8.2 Em grupo () 2.5.8.3 nsa ()

K Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? NÃO SIM

B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? NÃO SIM
COTAR **"SIM"**, SE RESPOSTA **"SIM"** NUM CASO OU NO OUTRO

C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? NÃO SIM

- D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? NÃO SIM
- E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM
- F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM
- G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 Durante os últimos 12 meses:

- a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS
- b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM
- c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM
- d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.6 Club drugs e anfetaminas

2.6.1 não () 2.6.2 sim ()

2.6.3 Idade de início: 2.6.3.1 até 12 anos ()

2.6.3.2 de 12 a 15 ()

2.6.3.3 de 15 a 18 ()

2.6.3.4 acima de 18 anos ()

- 2.6.4 Frequência de uso: 2.6.4.1 diária ()
 2.6.4.2 dias alternados ()
 2.6.4.3 três vezes por semana ()
 2.6.4.4 semanal ()
 2.6.4.5 quinzenal ()
 2.6.4.6 mensal ()
 2.6.4.7 menos que mensal ()
 2.6.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()
 2.6.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()

- 2.6.5 Via: 2.6.5.1 Inalada ()
 2.6.5.2 Endovenosa ()
 2.6.5.3 cutânea ()
 2.6.5.4 oral ()
 2.6.5.5 retal ()

- 2.6.6 Quantidade 2.6.6.1 até 2 gramas ()
 2.6.6.2 de 2 a 5 gramas ()
 2.6.6.3 mais de 5 gramas ()

2.6.7. Tratamento

- 2.6.7.1 Sim () 2.6.7.2 Não () 2.6.7.3 nsa()

2.6.8 Contexto de uso

- 2.6.8.1 Sozinho 2.6.8.2 Em grupo () 2.6.8.3 nsa ()

K Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

- | | | |
|---|-----|-----|
| A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? | NÃO | SIM |
| B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor?
COTAR “SIM” , SE RESPOSTA “SIM” NUM CASO OU NO OUTRO | NÃO | SIM |
| C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? | NÃO | SIM |
| D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? | NÃO | SIM |

E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM

F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM

G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 Durante os últimos 12 meses:

a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS

b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM

c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM

d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.7 Benzodiazepínicos:

2.7.1 não () 2.7.2 sim ()

2.7.3 Idade de início: 2.7.3.1 até 12 anos ()

2.7.3.2 de 12 a 15 ()

2.7.3.3 de 15 a 18 ()

2.7.3.4 acima de 18 anos ()

2.7.4 Freqüência de uso: 2.7.4.1 diária ()
2.7.4.2 dias alternados ()
2.7.4.3 três vezes por semana ()
2.7.4.4 semanal ()

- 2.7.4.5 quinzenal ()
 2.7.4.6 mensal ()
 2.7.4.7 menos que mensal ()
 2.7.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()
 2.7.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()
- 2.7.5 Via: 2.7.5.1 Inalada ()
 2.7.5.2 Endovenosa ()
 2.7.5.3 oral ()
 2.7.5.4 retal ()
- 2.7.6 Quantidade 2.7.6.1 até 2 comprimidos ()
 2.7.6.2 de 2 a 5 comprimidos ()
 2.7.6.3 mais de 5 comprimidos ()
- 2.7.7. Tratamento 2.7.7.1 Sim () 2.7.7.2 Não () 2.7.7.3 nsa()
- 2.7.8 Contexto de uso 2.7.8.1 Sozinho 2.7.8.2 Em grupo () 2.7.8.3 nsa ()
-)

K Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

- A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? NÃO SIM
- B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
 Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? NÃO SIM
 COTAR **"SIM"**, SE RESPOSTA **"SIM"** NUM CASO OU NO OUTRO
- C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? NÃO SIM
- D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? NÃO SIM
- E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM

F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM

G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 **Durante os últimos 12 meses:**

a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS

b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM

c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM

d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.8 Solventes:

2.8.1 não () 2.8.2 sim ()

2.8.3 Idade de início: 2.8.3.1 até 12 anos ()

2.8.3.2 de 12 a 15 ()

2.8.3.3 de 15 a 18 ()

2.8.3.4 acima de 18 anos ()

2.8.4 Frequência de uso: 2.8.4.1 diária ()
2.8.4.2 dias alternados ()
2.8.4.3 três vezes por semana ()
2.8.4.4 semanal ()
2.8.4.5 quinzenal ()
2.8.4.6 mensal ()
2.8.4.7 menos que mensal ()

- 2.8.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()
 2.8.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()
- 2.8.5 Via: 2.8.5.1 Inalada ()
 2.8.5.2 Endovenosa ()
 2.8.5.3 cutânea ()
 2.8.5.4 oral ()
 2.8.5.5 Retal ()
- 2.8.6 Quantidade 2.8.6.1 até 2 gramas ()
 2.8.6.2 de 2 a 5 gramas ()
 2.8.6.3 mais de 5 gramas ()
- 2.8.7. Tratamento
 2.8.7.1 Sim () 2.8.7.2 Não () 2.8.7.3 nsa()
- 2.8.8 Contexto de uso
 2.8.8.1 Sozinho 2.8.8.2 Em grupo () 2.8.8.3 nsa ()

**K Considerando o seu consumo durante os últimos 12
 2 meses:**

- A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? NÃO SIM
- B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
 Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? NÃO SIM
 COTAR **"SIM"**, SE RESPOSTA **"SIM"** NUM CASO OU NO OUTRO
- C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? NÃO SIM
- D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? NÃO SIM
- E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM
- F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM

G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 Durante os últimos 12 meses:

a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS

b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM

c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM

d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.9 Anticolinérgicos

2.9.1 não () 2.9.2 sim ()

2.9.3 Idade de início: 2.9.3.1 até 12 anos ()

2.9.3.2 de 12 a 15 ()

2.9.3.3 de 15 a 18 ()

2.9.3.4 acima de 18 anos ()

2.9.4 Frequência de uso: 2.9.4.1 diária ()

2.9.4.2 dias alternados ()

2.9.4.3 três vezes por semana ()

2.9.4.4 semanal ()

2.9.4.5 quinzenal ()

2.9.4.6 mensal ()

2.9.4.7 menos que mensal ()

2.9.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()

2.9.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()

2.9.5 Via: 2.9.5.1 Inalada ()

2.9.5.2 Endovenosa ()

2.9.5.3 cutânea ()

2.9.5.4 oral ()

2.9.5.5 retal ()

2.9.6 Quantidade

2.9.6.1 até 2 gramas ()

2.9.6.2 de 2 a 5 gramas ()

2.9.6.3 mais de 5 gramas ()

2.9.7. Tratamento

2.9.7.1 Sim () 2.9.7.2 Não () 2.9.7.3 nsa()

2.9.8 Contexto de uso

2.9.8.1 Sozinho 2.9.8.2 Em grupo () 2.9.8.3 nsa ()

)

K Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

- | | | |
|---|-----|-----|
| A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? | NÃO | SIM |
| B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor?
COTAR "SIM" , SE RESPOSTA "SIM" NUM CASO OU NO OUTRO | NÃO | SIM |
| C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? | NÃO | SIM |
| D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? | NÃO | SIM |
| E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? | NÃO | SIM |
| F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? | NÃO | SIM |

G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

K

3 Durante os últimos 12 meses:

a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS

b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM

c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM

d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2.10 Outros

2.10.1 não () 2.10.2 sim ()

2.10.3 Idade de início: 2.10.3.1 até 12 anos ()

2.10.3.2 de 12 a 15 ()

2.10.3.3 de 15 a 18 ()

2.10.3.4 acima de 18 anos ()

2.10.4 Frequência de uso: 2.10.4.1 diária ()

2.10.4.2 dias alternados ()

2.10.4.3 três vezes por semana ()

2.10.4.4 semanal ()

2.10.4.5 quinzenal ()

2.10.4.6 mensal ()

2.10.4.7 menos que mensal ()

2.10.4.8 abstinente há mais de 2 meses ()

2.10.4.9 abstinente há mais de 2 anos ()

2.10.5 Via: 2.10.5.1 Inalada ()

2.10.5.2 Endovenosa ()

- 2.10.5.3 cutânea ()
 2.10.5.4 oral ()
 2.10.5.5 retal ()
- 2.10.6 Quantidade 2.10.6.1 até 2 gramas ()
 2.10.6.2 de 2 a 5 gramas ()
 2.10.6.3 mais de 5 gramas ()
- 2.10.7. Tratamento
 2.10.7.1 Sim () 2.10.7.2 Não () 2.10.7.3 nsa()
- 2.10.8 Contexto de uso
 2.10.8.1 Sozinho 2.10.8.2 Em grupo () 2.10.8.3 nsa ()

K Considerando o seu consumo durante os últimos 12 meses:

- A Constatou que precisava de quantidades cada vez maiores para obter o mesmo efeito? NÃO SIM
- B Quando usava menos ou parava de consumir, tinha problemas como dores, tremores, febre, fraqueza, diarreia, náuseas, suores, aceleração do coração, dificuldade de dormir ou sentir-se agitado(a), ansioso (a), irritável ou deprimido (a)?
 Ou você tomava qualquer outra coisa para evitar esses problemas ou para se sentir melhor? NÃO SIM
 COTAR **“SIM”**, SE RESPOSTA **“SIM”** NUM CASO OU NO OUTRO
- C Quando começava a usar, frequentemente consumia mais do que pretendia? NÃO SIM
- D Tentou, sem conseguir, diminuir ou parar de usar? NÃO SIM
- E Nos dias em que usava, passava mais de 2 horas tentando conseguir a droga, se drogando, ou se recuperando dos efeitos, ou ainda pensando nessas coisas? NÃO SIM
- F Reduziu as suas atividades (lazer, trabalho, cotidianas) ou passou menos tempo com os outros por causa da droga? NÃO SIM
- G Continuou a usar mesmo sabendo que está lhe causava problemas de saúde ou problemas psicológicos? NÃO SIM

- O ENTREVISTADO APRESENTA DEPENDENCIA DA SUBSTÂNCIA? NÃO SIM
- K
- 3 **Durante os últimos 12 meses:**
- a Por várias vezes ficou intoxicado ou “de cabeça feita / chapado” quando tinha coisas para fazer no trabalho (/ na escola) ou em casa? Isso lhe causou problemas? NÃO SIM
COTAR "SIM" SOMENTE SE A INTOXICAÇÃO CAUSOU PROBLEMAS
- b Alguma vez esteve sob o efeito em situações em que isso era fisicamente arriscado como dirigir, utilizar uma máquina ou um instrumento perigoso, etc.? NÃO SIM
- c Teve problemas legais como uma intimação ou uma condenação ou uma detenção porque tinha usado? NÃO SIM
- d Continuou a usar mesmo sabendo que esta droga lhe causava problemas com os seus familiares ou com outras pessoas? NÃO SIM

O ENTREVISTADO APRESENTA ABUSO DE SUBSTÂNCIA? NÃO SIM

2. TENTATIVA DE SUICÍDIO ATUAL

2.1 Data da tentativa de suicídio (__ Dia __ Mês __ Ano)

2.2 Dia da semana: _____

2.3 Hora: __ Horas __ Minutos

2.4 Lugar: _____

2.5 Método da TS: _____ (de acordo com os códigos do CID-10, a seguir):

X60 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a analgésicos não opiáceos, antipiréticos e anti-reumáticos.

X61 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a drogas anti-epilépticas, sedativo-hipnóticas, antiparkinsonianas e psicotrópicas, não classificadas em outros locais. Inclui: antidepressivos, barbitúricos, neurolépticos, psicoestimulantes.

X62 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a narcóticos e psicodislépticos (alucinógenos), não classificadas em outros locais. Inclui: cannabis (derivados), cocaína, codeína, heroína, ácido lisérgico (LSD), mescalina, metadona, morfina, ópio (alcaloides).

X63 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a outras drogas que atuam no sistema nervoso autônomo.

X64 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a outras drogas e substâncias biológicas não especificadas.

X65 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais ao álcool.

X66 _ Auto – envenenamento e exposição intencionais a solventes orgânicos e hidrocarbonos halogenados e seus vapores.

X67 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a outros gases e vapores. Inclui: monóxido de carbono; gás utilitário.

X68 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a praguicidas.

X69 _ Auto - envenenamento e exposição intencionais a outras substâncias químicas e nocivas.

X70 _ Auto lesão intencional por enforcamento, estrangulamento e sufocação

X71 _ Auto lesão intencional por afogamento e submersão

X72 _ Auto lesão intencional por descarga de arma de mão

X73 _ Auto lesão intencional por descarga de rifle, espingarda ou arma de fogo maior

X74 _ Auto lesão intencional por descarga de outra arma de fogo e de arma de Fogo não especificada

X75 _ Auto lesão intencional por material explosivo

X76 _ Auto lesão intencional por fogo e chamas

X77 _ Auto lesão intencional por vapor, vapores quentes e objetos quentes

X78 _ Auto lesão intencional por objeto cortante

X79 _ Auto lesão intencional por objeto contundente

X80 _ Auto lesão intencional por pular de um lugar alto

X81 _ Auto lesão intencional por pular ou deitar-se ante um objeto móvel

X82 _ Auto lesão intencional por batida de veículo motor

X83 _ Auto lesão intencional por outros meios especificados. Inclui: batida de aeronave, eletrocussão, substâncias cáusticas (exceto envenenamento)

X84 _ Auto lesão intencional por meios não especificados

2.6 A respeito das consequências físicas e do perigo da tentativa de suicídio à vida:

0 _ nenhum dano físico significativo, nenhum tratamento médico requerido

1 _ atenção médica/cirúrgicos requeridos, mas sem perigo de vida

2 _ atenção médica/cirúrgica requerida, houve/há perigo de vida

2.7 A respeito do tipo de cuidado médico recebido:

0 _ depois do tratamento de emergência o paciente foi liberado.

1 _ O paciente permaneceu sob observação/tratamento na emergência e foi liberado.

2 _ Da emergência o paciente foi transferido à unidade de cuidados intensivos ou para outras clínicas ou unidades cirúrgicas/enfermarias.

3 _ Da unidade de emergência o paciente foi diretamente transferido a instituição psiquiátrica.

2.8 (Se for aplicável:) Paciente foi encaminhado para:

RESPOSTA: _____

0 _ não foi encaminhado a nenhum serviço profissional

1 _ foi encaminhado a centro de saúde geral (ou saúde primária)

2 _ foi encaminhado a psiquiatria clínica particular

3 _ foi encaminhado a serviço profissional particular

Relação entre uso de álcool/drogas e a tentativa de suicídio atual:

0 _ ingestão de nenhuma/alguma mas sem relação com a tentativa de suicídio

1 _ suficiente para a deterioração da capacidade de juízo e da responsabilidade

2 _ uso intencional para facilitar e executar a tentativa de suicídio

(Especificar álcool ou qual droga: _____)

Na sua opinião por que motivo, você fez o que fez? _____

4. HISTÓRIA DE TENTATIVAS DE SUICÍDIO ANTERIORES

4.1 Você tentou o suicídio anteriormente? 1 __ Não 2 __ Sim

4.1.1 Se afirmativo, quantas vezes? _ _ _ _ _

4.1.2 Quando foi a última? _ _ Dia _ _ Mês _ _ Ano

4.2 Se afirmativo, método da tentativa de suicídio: _ _ _ _ _

4.5 Algum familiar seu (família biológica) morreu por suicídio ou tentou o suicídio?

Quem? _ _ _ _ _

5.19 Diagnóstico Psiquiátrico (CID-10)

1. _ _ _ _ _

2. _ _ _ _ _

5.20 Nome do entrevistador: _ _ _ _ _

ANEXO 4 - Escala de Beck de intencionalidade suicida

I - Características de Atitude em Relação a Viver/Morrer

1. Desejo de viver

- 1) Moderado a forte.
- 2) Fraco.
- 3) Nenhum.

2. Desejo de morrer. ()

0. Nenhum
1. Fraco
2. Moderado a forte

3. Razões para viver/morrer. ()

0. Para viver superam para morrer.
1. Aproximadamente igual.
2. Para morrer superam para viver.

4. Desejo de fazer tentativa ativa de suicídio. ()

0. Nenhum.
1. Fraco.
2. Moderado a forte.

5. Tentativa suicida passiva. ()

0. Tomaria precauções para salvar a vida.
1. Deixaria a vida/morte para o acaso (por exemplo, atravessar descuidadamente uma rua em movimento).
2. Evitaria medidas necessárias para salvar ou manter a vida (por exemplo, diabético deixando de tomar insulina).

Se os códigos para os itens 4 e 5 for "0", pule as seções II, III e IV e insira "8" - "Não aplicável" em cada um dos espaços em branco destinados à indicação do código.

II - Características de Ideação/Desejo Suicida

6. Duração. ()

0. Períodos breves
1. Períodos mais longos
2. Contínuo (crônico) ou quase contínuo

7. Frequência. ()

0. Rara, ocasional
1. Intermitente
2. Persistente ou contínua

8. Atitude Face à Ideação/Desejo. ()

0. Rejeição
1. Ambivalente, indiferente

2. Aceitação

9. **Controle sobre a ação Suicida/Desejo de Agir.** ()

- 0. Tem senso de controle
- 1. Inseguro de controle
- 2. Não tem senso de controle

10. **Impedimentos à tentativa ativa (por exemplo, família, religião, ferimento sério, embora mal sucedido, irreversível).** ()

- 0. Não se suicidaria devido a um impedimento.
- 1. Alguma preocupação com os impedimentos.
- 2. Preocupação mínima ou nenhuma com os impedimentos.

11. **Razão para tentativa ponderada.** ()

- 0. Manipular o ambiente, obter atenção, vingar-se.
- 1. Combinação de "0" e "2".
- 2. Escape, por um fim, resolver problemas.

III - Características da Tentativa Ponderada

12. **Método: Especificidade/Planejamento.** ()

- 0. Não considerado.
- 1. Considerado, mas detalhes não trabalhados.
- 2. Detalhes trabalhados/bem formulados.

13. **Método: Disponibilidade/Oportunidade.** ()

- 0. Método não disponível; nenhuma oportunidade.
- 1. Método requereria tempo/esforço; oportunidade não realmente disponível.
- 2a. Método e oportunidade disponíveis.
- 2b. Oportunidade ou disponibilidade futuras ou do método antecipadas.

14. **Senso de "capacidade" para realizar a tentativa.** ()

- 0. Nenhum, fraco demais, com medo incompetente.
- 1. Inseguro da coragem e competência.
- 2. Seguro da competência, coragem.

16. **Expectativa/previsão da tentativa real.** ()

- 0. Nenhuma.
- 1. Incerto, não seguro.
- 2. Sim.

IV - Atualização da Tentativa Ponderada

18. **Preparo real.** ()

- 0. Nenhum.
- 1. Parcial (por exemplo, começar a juntar comprimidos).
- 2. Completo (por exemplo, tinha pílulas, lâminas de barbear, revolver carregado).

19. **Bilhete suicida.** ()

- 0. Nenhum.
- 1. Começou mas não terminou ou deixou no lugar; apenas pensou acerca disso.
- 2. Completou, deixou no lugar.

20. ***Atos finais em antecipação à morte (seguro, testamento, presentes, etc.). ()***

- 0. Nenhuma.
- 1. Pensou a respeito e tomou algumas providências.
- 2. Fez planos definidos ou completou providências.

21. ***Disfarce/ocultação da tentativa ponderada. ()***

- 0. Revelou idéias abertamente.
- 1. Deteve-se de revelar.
- 2. Tentou enganar-se, ocultar, mentir.

V - Fatores Históricos

22. ***Tentativas de suicídio anteriores. ()***

- 0. Nenhuma.
- 1. Uma.
- 2. Mais de uma

23. ***Intenção de morrer associada à última tentativa. ()***

(se N/A insira "8")

- 0. Baixa.
- 1. Moderada, ambivalente, insegura.
- 2. Alta.

ANEXO 5 - Índice de bem-estar da OMS

“0” = Em tempo algum

“1” = Algumas vezes

“2” = Menos do que a metade do tempo

“3” = Mais do que a metade do tempo

“4” = Na maioria do tempo

“5” = Todo o tempo

6.1 Eu tenho me sentido satisfeito e de bom humor

0 _ 1 _ 2 _ 3 _ 4 _ 5 _

6.2 Eu tenho me sentido calmo e relaxado

0 _ 1 _ 2 _ 3 _ 4 _ 5 _

6.3 Eu tenho me sentido ativo e vigoroso

0 _ 1 _ 2 _ 3 _ 4 _ 5 _

6.4 Eu tenho me sentido saudável e descansado

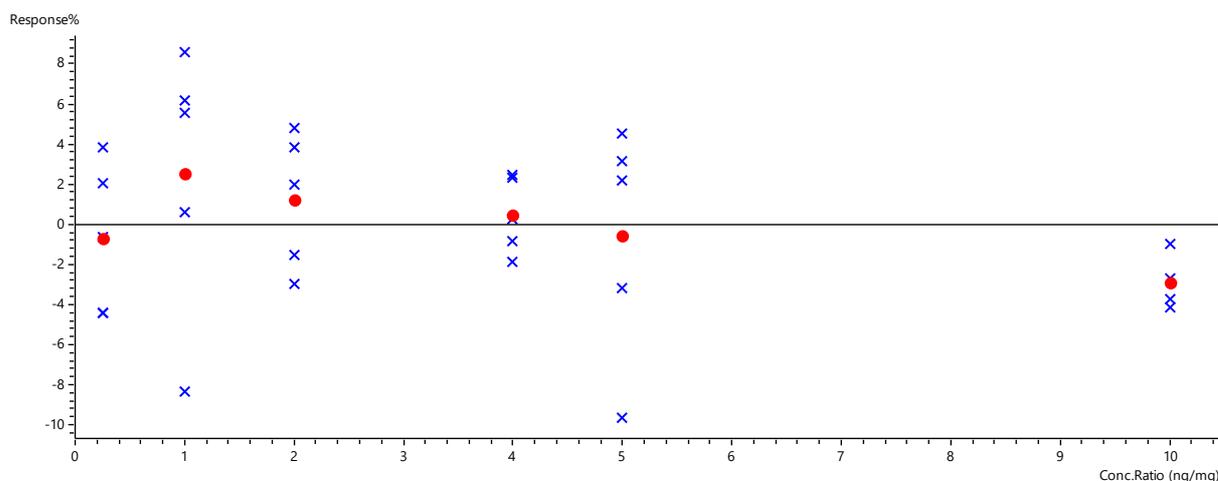
0 _ 1 _ 2 _ 3 _ 4 _ 5 _

6.5 Tenho me interessado pelas coisas de minha vida diária

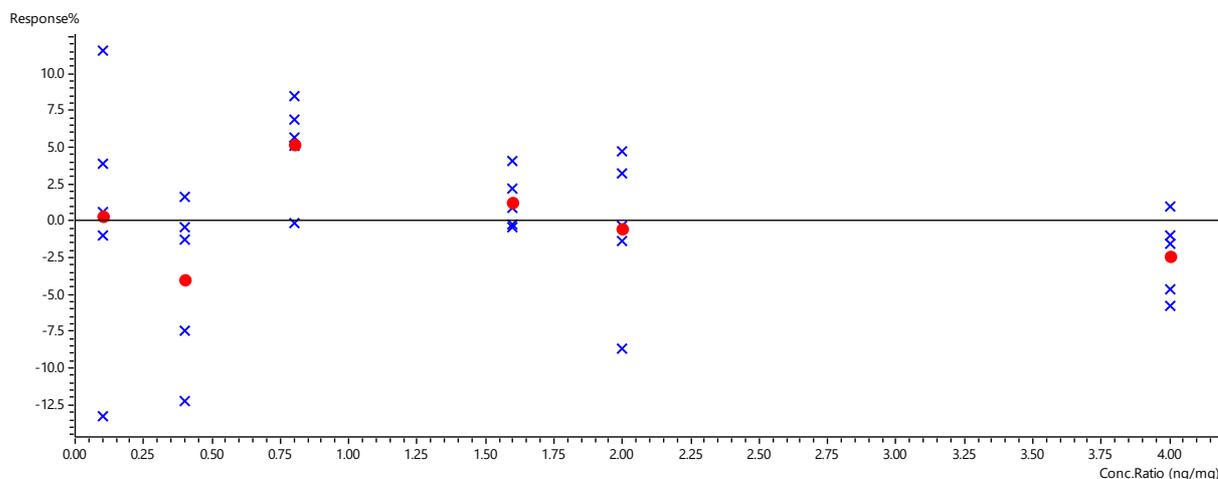
0 _ 1 _ 2 _ 3 _ 4 _ 5 _

ANEXO 6 - Representação gráfica residual da linearidade, após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 > 0,997$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs

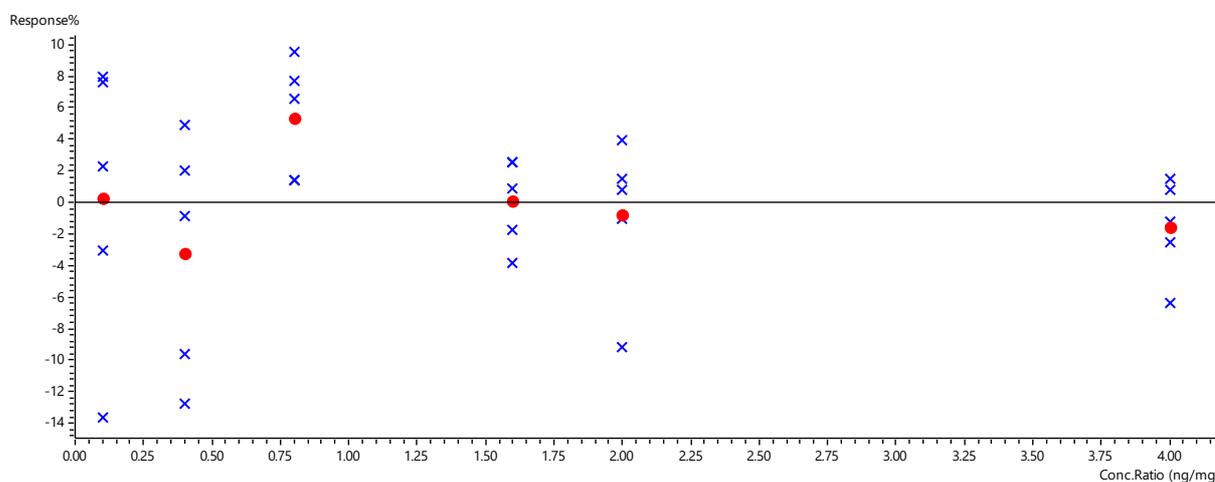
Representação gráfica residual da linearidade na análise de mazindol em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (250, 1.000, 2.000, 4.000, 5.000, 10.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 1,000$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.



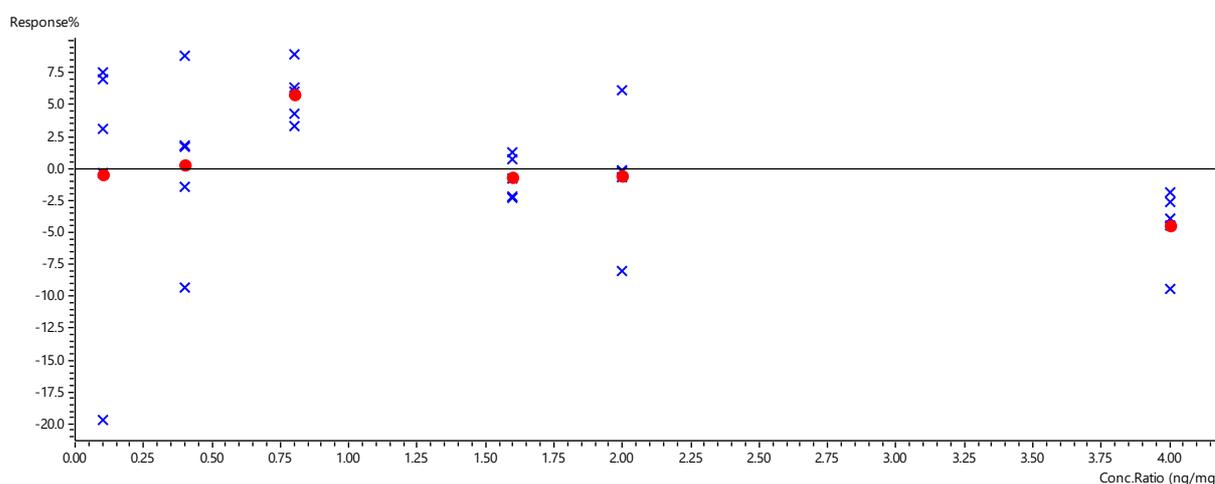
Representação gráfica residual da linearidade na análise de metanfetamina em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.



Representação gráfica residual da linearidade na análise de MDMA em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

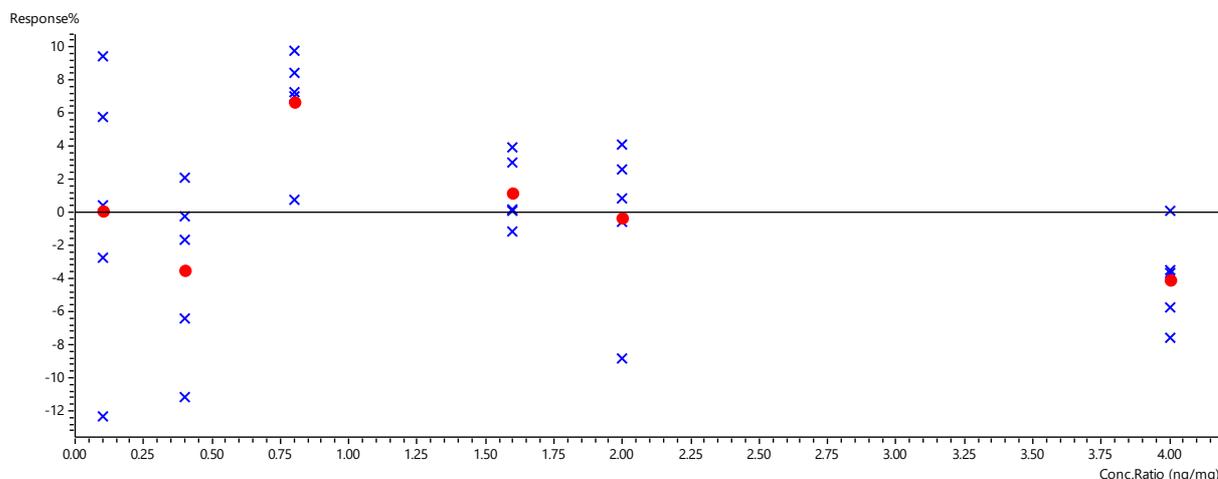


Representação gráfica residual da linearidade na análise de MDA em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,998$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

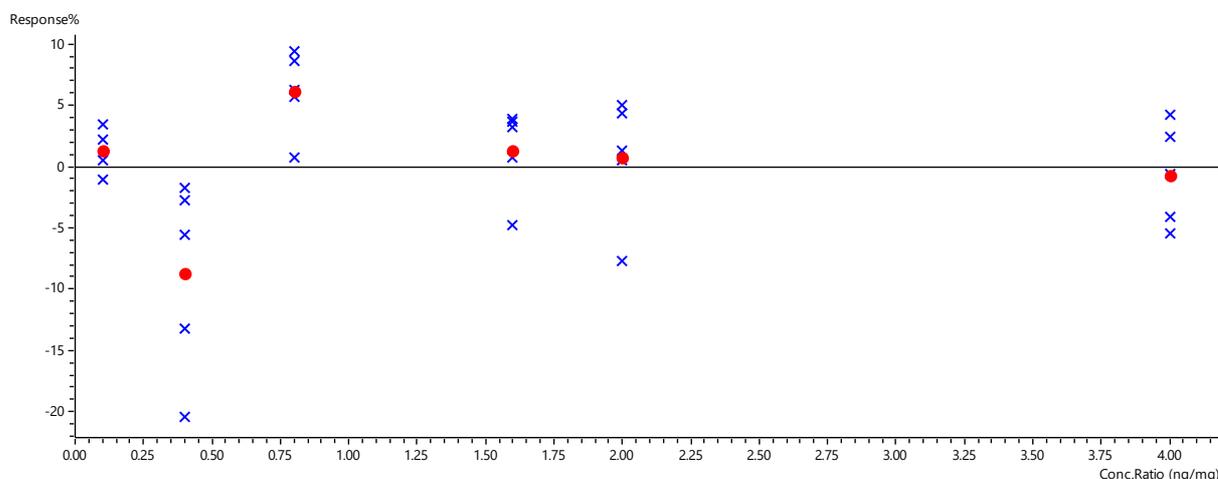


Representação gráfica residual da linearidade na análise de femproporex em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600,

2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,998$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

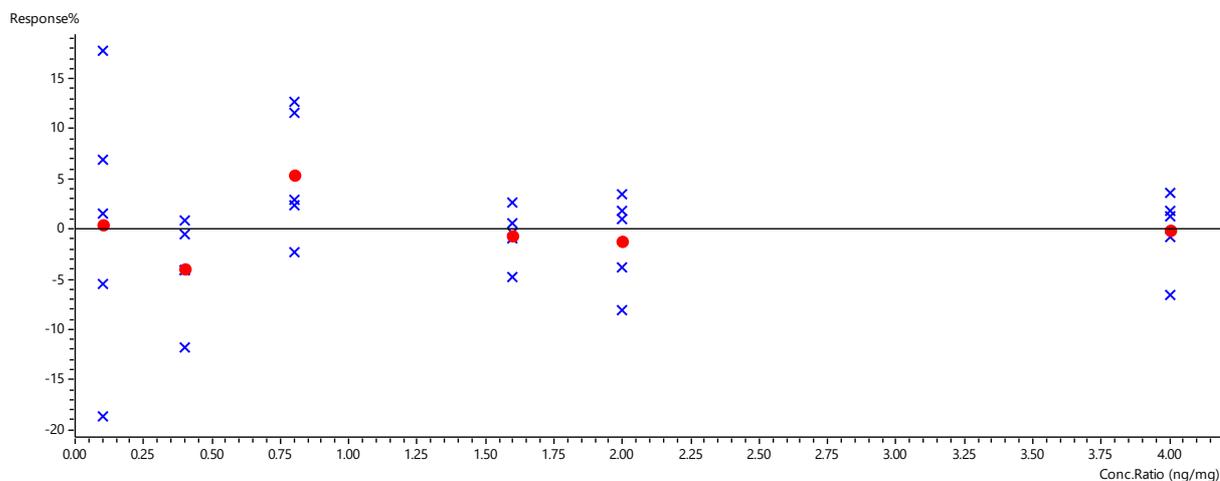


Representação gráfica residual da linearidade na análise de dietilpropiona em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,997$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

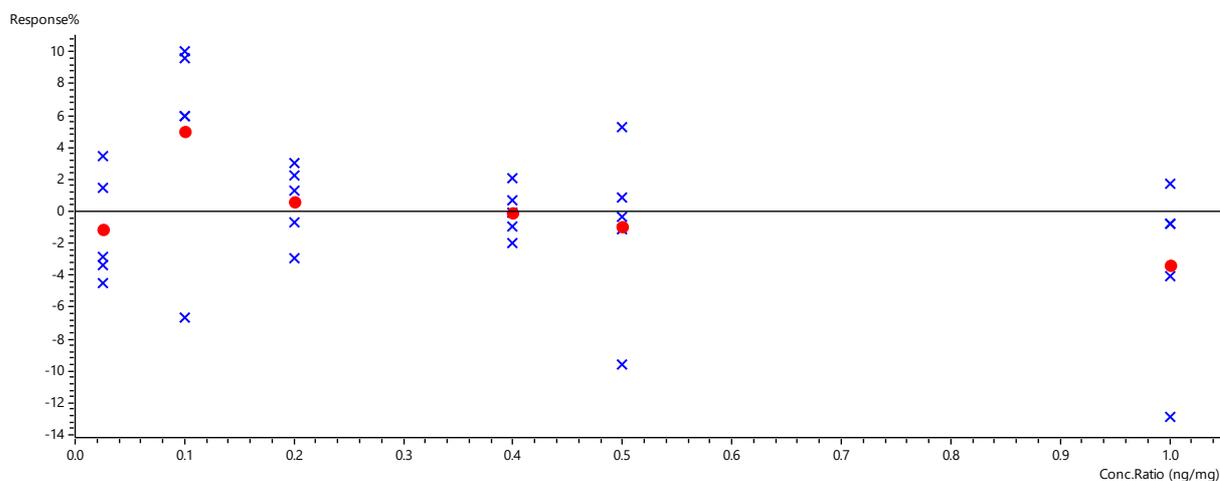


Representação gráfica residual da linearidade na análise de codeína em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000

pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

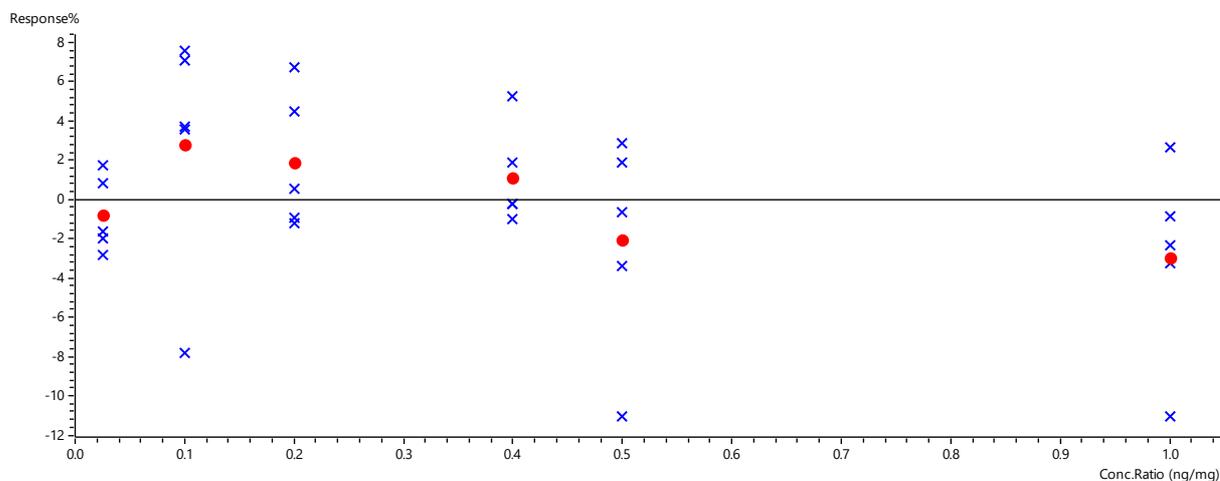


Representação gráfica residual da linearidade na análise de cocaetileno em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (25, 100, 200, 400, 500, 1.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

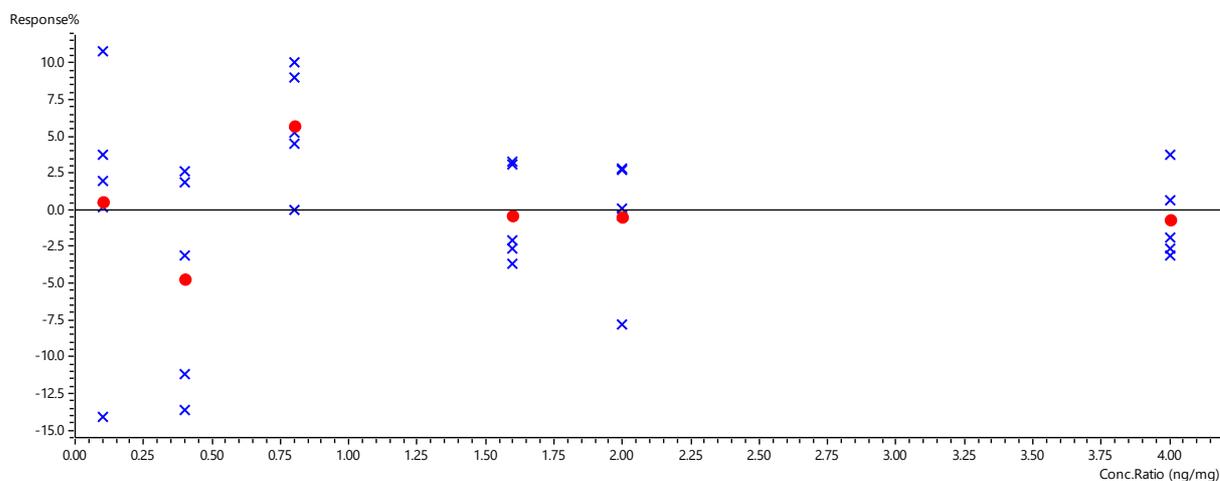


Representação gráfica residual da linearidade na análise de benzoilecgonina em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (25, 100, 200, 400, 500,

1.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

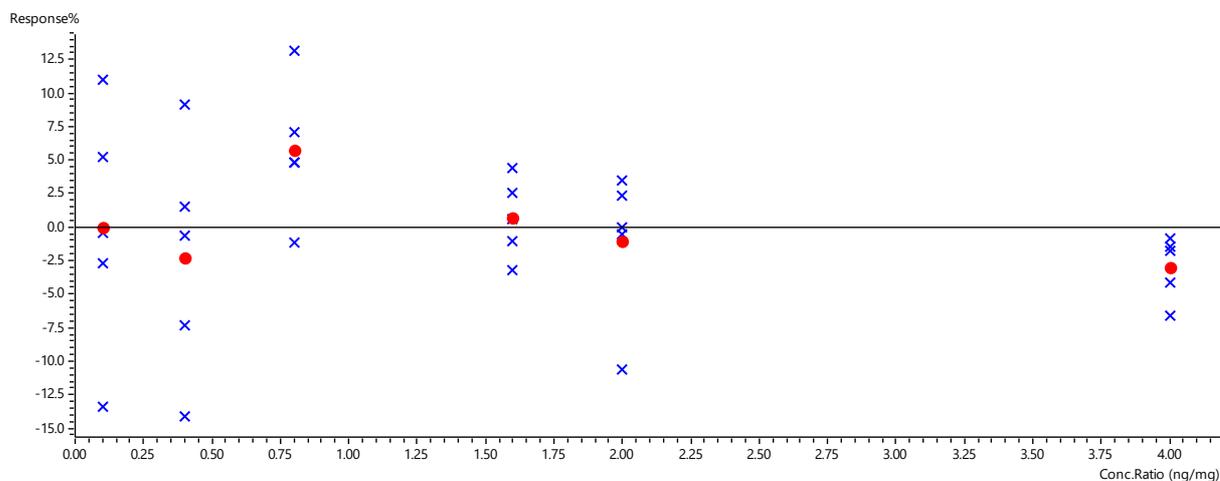


Representação gráfica residual da linearidade na análise de anfetamina em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

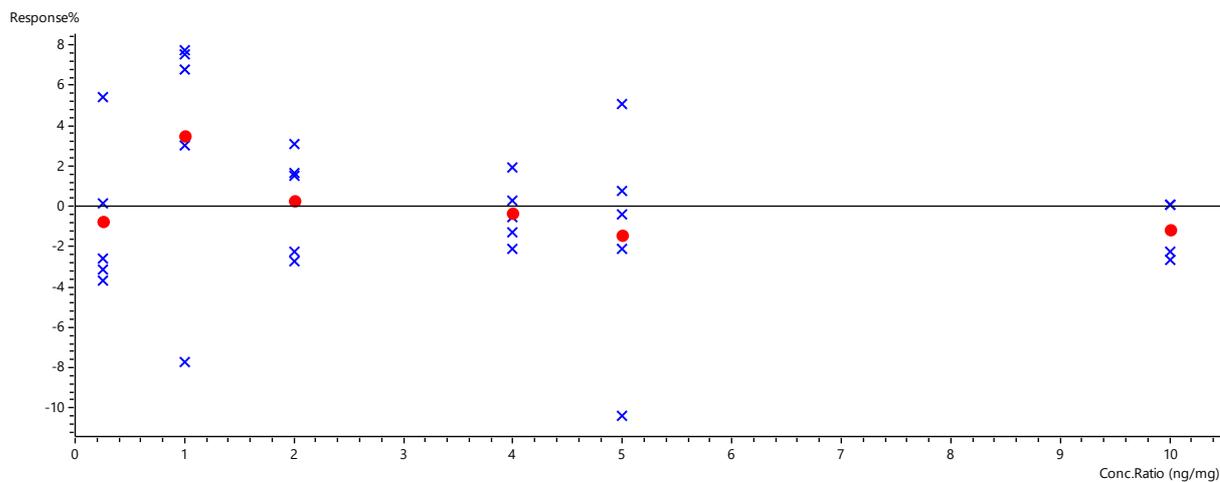


Representação gráfica residual da linearidade na análise de 6-acetilmorfina em quintuplicata para cada concentração da curva de calibração (100, 400, 800, 1.600,

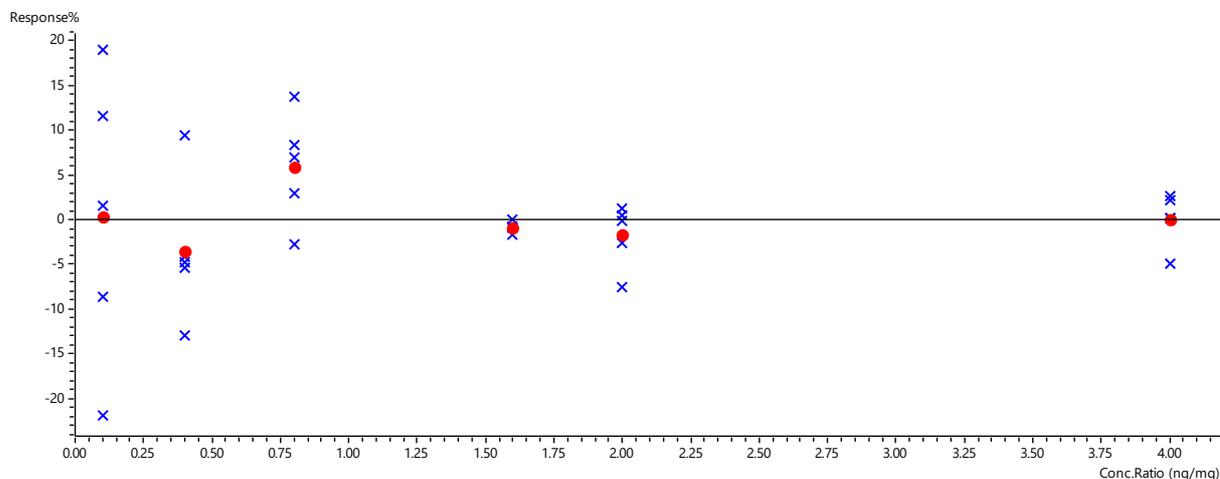
2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.



Representação gráfica residual da linearidade na análise de cocaína em quintuplicata para 250, 1.000, 2.000, 3.000, 5.000, 10.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 1,000$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.



Representação gráfica residual da linearidade na análise de morfina em quintuplicata para 100, 400, 800, 1.600, 2.000 e 4.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,999$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.



Representação gráfica residual da linearidade na análise de THC em quintuplicata para 25, 100, 200, 400, 500, 1.000 pg/mg), após a escolha do modelo heteroscedástico ($1/x^2$, $r^2 = 0,997$) e eliminação de outliers pelo teste de Grubbs.

