

ANA PAULA CARVALHO DE LIMA

**MATRIZES BIOLÓGICAS PARA ANÁLISE DE
COCAÍNA**

**Belo Horizonte – MG.
Faculdade de Farmácia da UFMG
Maio 2012**

ANA PAULA CARVALHO DE LIMA

**MATRIZES BIOLÓGICAS PARA ANÁLISE DE
COCAÍNA**

Monografia apresentada ao III Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Tagliati

**Belo Horizonte – MG.
Faculdade de Farmácia da UFMG
Maio 2012**

L732m Lima, Ana Paula Carvalho de.
Matrizes biológicas para análise de cocaína / Ana Paula
Carvalho de Lima – 2012.
37 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Tagliati.
Monografia apresentada ao III Curso de Especialização em
Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à
obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e
Toxicológicas.

1. Cocaína. 2. Matrizes biológicas. 3. Toxicologia - Análise. 4.
Métodos analíticos. 5. Toxicologia – Testes. I. Tagliati, Carlos
Alberto. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Farmácia. III. Título.

CDD 615.9



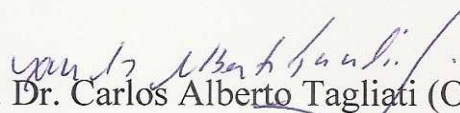
FOLHA DE APROVAÇÃO

“ANÁLISE DE COCAÍNA EM MATERIAL BIOLÓGICO”

ANA PAULA CARVALHO

Monografia apresentada e aprovada em 11/05/2012 pela Comissão

Examinadora constituída pelos seguintes membros:


Prof. Dr. Carlos Alberto Tagliati (Orientador)

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Fac. Farmácia –
UFMG


Dra. Gabrielle Lück de Araújo (Examinadora)

À minha mãe, Célia e ao meu pai José Eles, meus exemplos de vida, por todo amor, dedicação, compreensão e estímulo para que este trabalho fosse realizado com sucesso. À minha irmã Ana Cláudia, pela amizade, pelos conselhos e por estar sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por guiar meus passos e por todos os momentos em que se fez presente em minha vida.

Aos meus pais pelo incentivo, confiança e apoio em todos os momentos.

À minha irmã, Ana Cláudia, pelo companheirismo.

Aos meus avós, pelo amor. Vovô Zico, sua presença é constante em minha vida.

Aos meus amigos, pelos momentos de alegria.

Aos professores, pelo conhecimento compartilhado.

Ao Carlos, meu orientador, por me conduzir durante a elaboração deste trabalho.

*A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará
ao seu tamanho original.*

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

1. INTRODUÇÃO	13
2. DESENVOLVIMENTO.....	15
2.1 HISTÓRICO.....	15
2.2 PADRÕES DE USO.....	16
2.3 TOXICOCINÉTICA	19
2.3.1 Absorção	19
2.3.2 Distribuição	20
2.3.3 Excreção	21
2.4 MATRIZES BIOLÓGICAS.....	23
2.4.1 Sangue.....	24
2.4.2 Urina.....	25
2.4.3 Cabelo.....	26
2.4.4 Suor.....	28
2.4.5 Saliva (Fluido oral)	29
2.5 MÉTODOS ANALÍTICOS	31
2.5.1 Triagem.....	31
2.5.2 Etapa confirmatória	31
3. CONCLUSÃO	33
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vias de absorção, distribuição e eliminação dos xenobióticos no organismo.

LISTA DE ABREVIATURAS

CG – Cromatografia em fase gasosa

CG/MS – Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

IFP – Imunofluorescência polarizada

RESUMO

A cocaína é uma das drogas mais consumidas do mundo. Seu uso está associado tanto ao consumo recreacional quanto ao abusivo e por este motivo representa um grande problema mundial em saúde pública. Diversos problemas legais têm como causa a cocaína. Sendo assim, a análise dessa droga é de suma importância. O objetivo deste estudo é analisar a presença de cocaína em diferentes matrizes biológicas, convencionais e não-convencionais, através de análises toxicológicas. Tais análises representam uma importante ferramenta no controle e prevenção do uso da droga. É de fundamental importância conhecer as propriedades toxicocinéticas da cocaína para definir qual matriz biológica proporcionará resultados confiáveis. A análise no sangue é vantajosa, pois sinaliza exposição recente à droga. A urina é a amostra de escolha, na maioria das vezes, por representar um procedimento não invasivo e conter menor número de interferentes endógenos. O cabelo é uma excelente matriz biológica para verificar exposição por um período prolongado e a análise pode ser feita com pêlos de qualquer parte do corpo. A análise no suor é raramente utilizada devido à dificuldade em coletar uma quantidade de amostra significativa. A saliva é uma matriz biológica atrativa, a coleta é não invasiva e apresenta concentração do analito adequada para a sua quantificação. As características de cada matriz biológica devem ser consideradas no momento de escolha da técnica analítica. Os métodos analíticos são baseados em duas etapas, o processo de triagem seguido pela etapa confirmatória.

Palavras-chave: Cocaína; Matrizes Biológicas; Análises Toxicológicas; Métodos Analíticos.

ABSTRACT

Cocaine is one of the most consumed drugs in the world. Its use is associated with both the recreational and abusive consumption, and for that matter it represents a major worldwide public health problem. Many legal problems are caused by cocaine. Thus, the analysis of this drug is of paramount importance. The objective of this study is to analyze the presence of cocaine in different biological matrices, conventional and unconventional, through toxicological analysis. These analysis represent an important tool in the control and prevention of drug use. It is vital to know the toxico-kinetic properties of cocaine to define which biological matrix provides reliable results. The analysis in the blood is advantageous because it indicates recent exposure of drug. The urine sample is a choice in which most cases, it represents a non-invasive procedure for containing fewer endogenous interferences. The hair is an excellent biological matrix to determine exposure for an extended period of time and analysis can be performed with any piece of hair from the body. The analysis from body sweat is rarely used because of the level of difficulty in collecting a significant amount of sample. The saliva is an attractive biological matrix, the sample collection is non-invasive and provides analyte concentration suitable for quantification. The characteristics of each biological matrix must be considered at the time of the analytical technique of choice. The analytical methods are based on two stages, the screening process followed by the confirmatory one.

Keywords: Cocaine; Biological Matrices; Toxicological Analysis; Analytical Methods.

1. INTRODUÇÃO

O *Erythroxylum coca* é a principal fonte de produção ilícita da cocaína. Seu efeito estimulante já era conhecido há mais de 2000 anos quando Incas do Peru mascavam as folhas dessa planta. Tal atividade foi amplamente explorada como adjuvante no tratamento para asma, depressão, disfunções digestivas e até mesmo no tratamento de dependência de álcool e morfina (SPINELLI, 2004).

Atualmente, a cocaína é utilizada de diferentes formas: injetada, fumada ou inalada. Essa substância rapidamente produz sensações de bem estar, euforia e poder, seguidas de ansiedade, depressão, paranóia e desconforto físico (SPINELLI, 2004).

Segundo Chasin & Midio (1991), citado por Yonamine (2000), devido ao grande potencial de abuso, os efeitos prazerosos proporcionados pela droga fazem com que a cocaína seja uma grande preocupação mundial em saúde pública. No entanto, a avaliação clínica para identificar o uso da cocaína ainda é difícil, uma vez que, alguns sintomas aparecem somente em usuários crônicos, ou seja, com elevado grau de dependência. Sendo assim, a melhor forma para verificar a exposição à cocaína é através de análises toxicológicas, as quais consistem na realização de duas etapas: um procedimento preliminar de triagem e em seguida, a etapa confirmatória.

O procedimento preliminar de triagem constitui de um método qualitativo (presença ou ausência) ou semi-quantitativo, onde é analisada a droga (cocaína) e/ou seus produtos biotransformados. Um fator determinante para se obter um resultado positivo ou negativo é o tempo entre a última utilização da droga e a realização do exame, uma vez que, a meia-vida da cocaína inalterada é diferente dos seus metabólitos. Além disso, não é possível, mesmo se tratando de uma análise quantitativa, determinar a frequência de uso ou o grau de dependência. Os métodos mais utilizados para triagem do uso de drogas é o imunoensaio, através da técnica de Imunofluorescência polarizada (IFP), e a Cromatografia em fase gasosa (CG) (CAZENAVE; CHASIN, 2009).

A etapa confirmatória deve ser feita por uma técnica diferente daquela utilizada na triagem. Além disso, deve ser mais específica e possuir um limite de detecção menor que o teste de triagem. Dentre os métodos mais utilizados estão a

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/MS) (CAZENAVE; CHASIN, 2009).

Para tais análises toxicológicas, várias matrizes biológicas podem ser utilizadas: cabelo, urina, suor, saliva, sangue, entre outras. Entretanto, é importante conhecer as características toxicocinéticas dos agentes investigados, para melhor escolha do material biológico e garantia da confiabilidade dos resultados. Deve-se levar em consideração a estabilidade da cocaína e seus metabólitos em cada matriz pesquisada. Além disso, ao longo do tempo, as análises se tornam impraticáveis devido à degradação sofrida pela matriz biológica, que libera produtos de decomposição, interferindo na identificação do analito desejado (BULCÃO *et al.*, 2011).

O presente estudo objetiva analisar a identificação do uso da cocaína, bem como seus metabólitos, utilizando como matrizes biológicas: sangue, urina, cabelo, suor e saliva. Além disso, os aspectos toxicocinéticos da cocaína foram revisados a fim de permitir maior compreensão sobre a utilização dessas amostras para a detecção do uso de cocaína.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Histórico

A cocaína é uma substância natural extraída das folhas da planta *Erythroxylum coca*, encontrada principalmente na Cordilheira dos Andes. Seu uso começou com propósito religioso em algumas culturas, passou a fins terapêuticos após a descoberta pelos europeus até progredir para o consumo recreacional e abusivo nos dias atuais (FIGUEIRÓ, 2011).

Na cultura Inca, a planta de coca era considerada de origem divina e somente os descendentes dos deuses dela se alimentariam. A droga serviria para amenizar a fome e a sede dos Incas fazendo com que resistissem às privações terrestres. Por estes motivos a planta era cuidadosamente cultivada em plantações próprias e seu uso era um privilégio reservado aos membros das classes elevadas (YONAMINE, 2000; CHASIN; LIMA, 2008).

Com o declínio do império Inca durante o século XV, as plantações de coca foram tomadas por conquistadores espanhóis. Os espanhóis logo reconheceram que o hábito de mascar a folha de coca era necessário para motivar os índios andinos a trabalhar nas minas e lugares similares onde as condições eram brutais e o alimento escasso. Assim, o cultivo, a distribuição e o consumo da coca se tornaram permitidos, e até mesmo encorajados, como instrumento de exploração econômica (CHASIN; LIMA, 2008).

Durante os séculos XVI e XVII reconheceu-se também o papel da coca como remédio indígena, sendo utilizada para tratar diversos males. A planta foi então introduzida na Europa, porém seu impacto levou quase três séculos, devido à dificuldade de aclimatização (CHASIN; LIMA, 2008).

Segundo Yonamine (2000) a população europeia só passou a conhecer as propriedades estimulantes da coca quando seu principal constituinte, a cocaína, foi isolada em 1855. Nos anos seguintes, a utilização da cocaína por pessoas que acreditavam que ela tinha poderes especiais aumentou significativamente.

Em 1884, após surgir uma variedade de manuscritos na literatura médica a respeito da cocaína, Sigmund Freud demonstrou interesse pela nova droga e

sugeriu seu uso para fins terapêuticos, sendo utilizado como anestésico na maioria das vezes (CHASIN; LIMA, 2008).

O uso não terapêutico da cocaína foi banido dos Estados Unidos em 1914 e se tornou ilegal na Europa após a Primeira Guerra Mundial. Apesar da ilegalidade, a popularização da cocaína aumentou no final dos anos 1960 à medida que diminuía o uso de anfetaminas. Entre 1970 e 1980, a grande disponibilidade de uma forma mais barata de cocaína – o *crack* – resultou na epidemia do uso da droga (FIGUEIRÓ, 2011).

Segundo relatório elaborado pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes, a prevalência global em 2008 de uso de cocaína em qualquer uma de suas formas, durante o último ano anterior à pesquisa, correspondeu entre 15 a 19,4 milhões de pessoas, representando quase 0,4% da população adulta (acima de 15 anos de idade). Atualmente a cocaína está associada tanto ao consumo recreacional quanto ao abusivo e por este motivo é uma das drogas mais consumidas do mundo (UNODC, 2010).

O Brasil é o maior mercado de cocaína na América do Sul em termos absolutos com 900 mil usuários, seguido pela Argentina, com 600 mil usuários (UNODC, 2010).

Sendo assim, a investigação do uso de cocaína através das análises toxicológicas, bem como de outras drogas de abuso, é de fundamental importância para o controle e prevenção do uso e também para o desenvolvimento de programas que possam auxiliar não só usuários como também as pessoas de seu convívio (BULCÃO *et al.*, 2011).

2.2 Padrões de uso

O que caracteriza o uso de substâncias psicoativas é o fato delas, por qualquer que seja o motivo, trazerem uma recompensa para o usuário, seja por produzir sensações de prazer, aliviar tensões ou alterar de uma forma considerada agradável, o humor e a percepção. Devido à recompensa, os efeitos das drogas podem funcionar como reforçadores, ou seja, motivar por si mesmo um comportamento de auto-administração repetida (CARVALHO, 2011).

A cocaína pode ser administrada de diferentes formas: inalada, fumada, por via oral ou injetada (SPINELLI, 2004).

O uso da cocaína por via oral não é comum, pois ocorre metabolização de primeira passagem no fígado, o que reduz a biodisponibilidade da droga e conseqüentemente seus efeitos eufóricos no cérebro (ALVES, 2010).

A forma mais frequentemente encontrada da droga é em pó cristalino, ou seja, como cloridrato de cocaína. O cloridrato de cocaína é obtido através da maceração das folhas da *Erythroxylum coca*. As folhas são convertidas em pasta de coca e purificadas com ácido clorídrico. Na forma de cloridrato, a cocaína é facilmente hidrossolúvel, o que permite sua administração por aspiração nasal ou por via intravenosa (GARCIA, 2009).

Segundo Isenschmid (1999), citado por Alves (2010), a biodisponibilidade da droga por via intranasal (inalada) é dose dependente e pode variar de 25 a 94%. A cocaína atinge o cérebro de forma mais eficiente por via intranasal quando comparada à via oral. Entretanto, sua absorção é retardada em função de sua ação vasoconstritora e da possibilidade de deglutição da mesma durante a inalação.

São necessários de 10 a 30mg de cloridrato de cocaína para produzir os efeitos psicoativos da droga (SPINELLI, 2004).

Segundo Wills (2002), citado por Alves (2010), os primeiros efeitos da cocaína administrada por via nasal aparecem entre 10 a 15 minutos e duram cerca de 60 a 90 minutos. A via intravenosa é a única a disponibilizar 100% da droga e seus primeiros efeitos podem ser percebidos após 3 a 5 minutos e duram de 30 a 45 minutos. A via pulmonar produz efeitos rápidos e intensos, similares à via intravenosa.

Crack é o nome popular dado à forma de base livre da cocaína e é também a forma mais comum de comercialização. O *crack* é preparado através do aquecimento de uma solução aquosa de cloridrato de cocaína com uma substância básica, geralmente o bicarbonato de sódio ou o hidróxido de sódio. O aquecimento é mantido até que se obtenha uma substância oleosa. Nessa fase ocorre também a remoção do ácido clorídrico. Posteriormente a substância oleosa é resfriada em banho de gelo para que a base livre precipite. Os cristais formados são irregulares, adquirindo o formato de pedras, nome pelo qual é vulgarmente conhecido (GARCIA, 2009).

O *crack* apresenta baixo ponto de fusão, entre 96 a 98 °C, por este motivo ele se volatiliza com o aquecimento, sendo estável em altas temperaturas. Assim, a via de administração do *crack* é inalatória, através do ato de fumar (GARCIA, 2009).

A cocaína presente na fumaça é absorvida pela via pulmonar, através dos alvéolos pulmonares, e chega rapidamente à circulação sistêmica. Os primeiros efeitos são percebidos entre 10 a 15 segundos, atingindo o pico em 1 a 2 minutos (SPINELLI, 2004).

Entretanto, a duração dos efeitos do *crack* é muito rápida, em torno de 5 a 15 minutos. O prazer instantâneo e a pouca duração dos efeitos faz com que o *crack* seja uma droga de grande poder de abuso, levando o usuário a utilizar a droga com mais frequência que as outras vias (nasal e intravenosa). Por este motivo, a dependência da droga por via pulmonar, inalatória, é alcançada mais rapidamente nestes usuários (CARLINI *et al.*, 2001).

De acordo com Oliveira e colaboradores (2007), citado por Poitevin e Stefanon (2010), as pedras de *crack* vêm sendo adulteradas com substâncias inertes ou estimulantes de baixo custo, o que tem diminuído sua pureza em termos de concentrações de cocaína, são as chamadas “drogas de rua”. O que se deduz pela mudança de seus aspectos físicos (consistência e coloração) e efeitos. A pedra mais comum era de coloração amarela e consistência rígida. Atualmente, a pedra mais comum é branca e pastosa, contendo diluentes como: farinha, bicarbonato de sódio, talco, pó de vidro, pó de mármore e fezes de animais. A busca por menor pureza da cocaína com maior potencial de ação, visa à redução dos custos e aumento dos lucros, potencializando seu consumo.

Conforme estudo do CEBRID (2003), citado por Lima Filho (2010), o usuário tem a tendência de querer doses maiores em busca de efeitos mais intensos, ou seja, a cocaína induz a tolerância. Porém, as doses elevadas levam a um comportamento violento, irritabilidade, tremores e atitudes estranhas (devido ao aparecimento de paranóias) e situações de extrema agressividade, características do uso de *crack*. Sob o domínio do *crack*, muitos usuários se isolam e, mesmo que temporariamente, se tornam indigentes. O uso prolongado da droga danifica a área frontal do cérebro, responsável pelo planejamento, controle dos impulsos. A substância transforma o usuário e o mantém arredio, impossível de manter relações com parentes e amigos. Em alguns casos a degradação pode acontecer em poucas semanas. Atualmente, a droga está presente nos principais centros urbanos do País

e deixou de ser usada apenas por pessoas de baixa renda, fazendo parte do cotidiano de várias classes sociais.

2.3 Toxicocinética

O estudo da toxicocinética fornece informações importantes para o planejamento e interpretação da análise toxicológica. O conhecimento da via de administração, distribuição e eliminação da droga permite uma melhor escolha da matriz biológica a ser analisada, do método analítico e a interpretação dos dados obtidos (CARVALHO, 2011).

2.3.1 Absorção

A velocidade de absorção e a máxima concentração plasmática atingida são dependentes da via de introdução pelas quais ocorre a auto-administração da droga (CARVALHO, 2011).

De acordo com Cone (1995), citado por Yonamine (2000), a biodisponibilidade da cocaína quando administradas pelas vias intranasal ou oral são da ordem de 60%.

A via oral se mostrou viável no que se refere à estabilidade química da droga e de sua biodisponibilidade. No entanto, a baixa velocidade de absorção por esta via pode ser explicada pela ionização da cocaína no meio ácido do estômago, ocorrendo a absorção somente quando alcança o intestino delgado, meio menos ácido, onde a forma não ionizada prevalece (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Na via intranasal, a biodisponibilidade referida varia entre 49 a 94% apresentando absorção de baixa velocidade, e os teores plasmáticos, apesar de menores, são mantidos por período mais prolongado em razão da velocidade mais lenta de absorção. Isso ocorre devido à baixa difusão da cocaína pela mucosa nasoro-faríngea e às propriedades vasoconstritoras da droga que retarda a própria absorção. A concentração plasmática de pico ocorre, em média, após 30 minutos e está condicionada às diferenças na efetividade na técnica de aspiração (deglutição parcial da dose) e às características individuais do usuário (CARVALHO, 2011).

Isenschmid *et al.*, (1992), citado por Yonamine (2000), afirmam que embora mais lenta em relação ao aparecimento dos efeitos, a via intranasal é equivalente na sua intensidade, quando comparada com a via intravenosa.

A administração da cocaína por via intravenosa pode ser comparada à via respiratória (fumada, na forma de *crack*) no que se refere à velocidade de absorção, pico de concentração plasmática, duração e intensidade de efeitos. A cocaína injetada possui disponibilidade de 100%, alcançando a corrente sanguínea imediatamente. A via respiratória oferece o meio mais rápido de penetração da droga na circulação sistêmica, através da absorção pelos alvéolos pulmonares, tendo uma biodisponibilidade aproximada de 70%. Porém, a duração dos efeitos da cocaína em ambas as vias é considerada curta (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Cone (1998) citado por Carvalho (2011) assegura que quando o usuário fuma o *crack*, além dos adulterantes adicionados para aumentar o volume da droga, absorve também solventes orgânicos, no caso da pasta base, e o produto de queima (pirólise) da cocaína, o éster metilanhidroecgonina, pelo fato de este ser submetido a altas temperaturas no ato de fumar.

A eficiência no ato de fumar, no que diz respeito à velocidade e à quantidade de cocaína a ser liberada para a circulação sistêmica em condições de produzir o efeito desejado, depende de alguns fatores: a quantidade da droga sujeita a pirólise, a temperatura usada para vaporizar a cocaína, o recipiente onde o *crack* é aquecido, além da efetividade da tragada que depende da experiência do usuário (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

2.3.2 Distribuição

A cocaína apresenta velocidade de distribuição relativamente alta. Ela se liga às proteínas plasmáticas apresentando alta afinidade pela α -1-glicoproteína ácida e baixa pela albumina. A fração livre corresponde a 67 e 68% da quantidade absorvida, na faixa de concentração de 300 a 1500 ng/mL e embora não dependa da concentração, varia com a alteração do pH (77 e 49% respectivamente em pH sanguíneo 7,0 e 7,8) (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Segundo Fowler *et al.*, (2001), citado por Carvalho (2011), a partir do compartimento central, a cocaína é distribuída rapidamente para o sistema nervoso central, atingindo máxima captação na região do estriato, que possui alta densidade de transportadores de dopamina.

Observa-se também acúmulo de cocaína no fígado, o que reforça a idéia de que há receptores hepáticos com alta afinidade pela cocaína. Além disso, verifica-se a incorporação da cocaína no cabelo, apesar de seus mecanismos não serem totalmente esclarecidos. Além de ser capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, há também a transferência placentária e a secreção láctea, com sérios prejuízos ao feto ou ao bebê. Foi também reportada a presença de cocaína no sêmen de usuários após experimentos controlados, em que a exposição ocorreu pelas vias intravenosa, respiratória e intranasal (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

2.3.3 Excreção

A excreção da cocaína se dá principalmente por via renal, sendo que a via fecal constitui uma rota menor de eliminação. Pequenas quantidades de cocaína são excretadas na urina na forma inalterada (FIGUEIRÓ, 2011).

Silva & Odo (1999) citado por Yonamine (2000), afirmam que após a cocaína ser administrada é convertida, quase em sua totalidade, em produtos de biotransformação e eliminada na urina como benzoilecgonina e éster metilecgonina, além de serem produzidos em menor porcentagem a ecgonina, norcocaína, benzoilnorcocaina e n-hidroxinorcocaina.

Dentre os produtos de biotransformação da cocaína, a benzoilecgonina é o principal metabólito urinário e sua detecção na urina depende da quantidade de droga utilizada (CARVALHO; CHASIN; CARVALHO, 2008).

A benzoilecgonina é originada pela hidrólise espontânea ou por reação catalisada pelas carboxilesterases. O éster metilecgonina é formado pela hidrólise do grupo benzoato da cocaína e por ação de colinesterases plasmáticas e hepáticas. A ecgonina pode ser formada pela consecutiva hidrólise de pequenas quantidades de benzoilecgonina e éster metilecgonina. Quando ocorre o uso concomitante da cocaína com etanol, forma-se um produto de transesterificação,

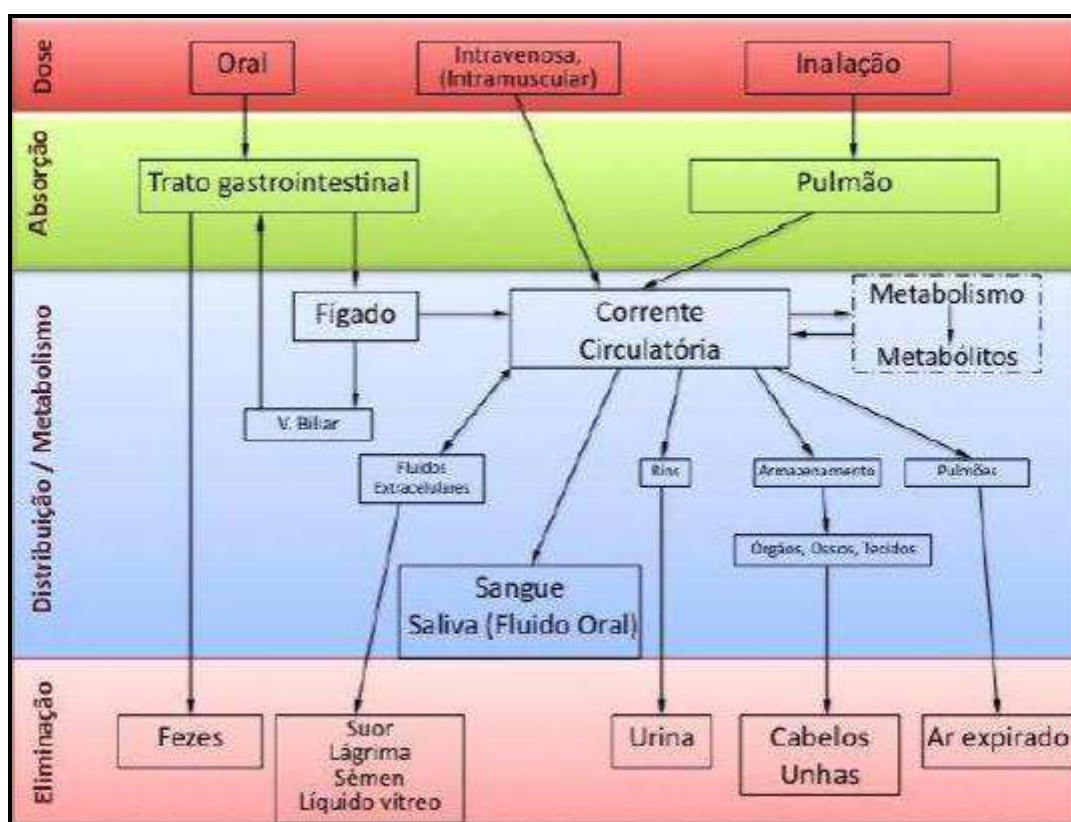
chamado cocaetileno, usado como biomarcador para este tipo de exposição. Sua semelhança estrutural com a cocaína faz com que os padrões cinéticos do cocaetileno sejam iguais aos de seu precursor. Ocorre também metabolismo pelo citocromo P-450 resultando na formação de norcocaína, o único produto de biotransformação reconhecidamente ativo da cocaína (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Segundo Goldstein, Deslauriers e Burda (2009), citado por Figueiró (2011), a benzoilecgonina é um importante marcador biológico de uso, pois apresenta maior tempo de meia-vida e é abundantemente encontrada em vários fluidos biológicos. Seu aparecimento no plasma ocorre dentro de 15 a 30 minutos e eleva-se gradualmente nas próximas três horas após a administração intranasal ou fumada da cocaína. Além disso, da pirólise (queima) da cocaína resulta um marcador específico (éster metil anidroecgonina ou metilecgonidina) utilizado para diferenciar o uso de *crack*. As concentrações urinárias de benzoilecgonina são maiores em relação à cocaína devido à hidrólise química da cocaína em pH alcalino. A relativa baixa estabilidade da cocaína indica que a benzoilecgonina é o melhor marcador para a identificação do uso dessa droga, independentemente da via utilizada.

Em suma, dados sobre a meia-vida plasmática de eliminação da cocaína diferem nos experimentos descritos na literatura, talvez devido às variações nos níveis de colinesterases de cada indivíduo. Parâmetros cinéticos para a cocaína variam de acordo com a via de administração. Acredita-se que, para a via inalatória, o tempo de meia-vida de eliminação da cocaína possa estar entre 50 e 78 minutos, para a via respiratória entre 38 e 58 minutos e para a via intravenosa de 40 a 67 minutos. No que diz respeito ao cocaetileno, importante biomarcador utilizado para verificar exposição concomitante de cocaína e etanol, estudos demonstraram um valor de meia-vida de eliminação que varia entre 138 a 155 minutos (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

A figura 1 mostra esquematicamente a toxicocinética da cocaína, assim como outros xenobióticos, no organismo humano.

Figura 1: Vias de absorção, distribuição e eliminação dos xenobióticos no organismo.



FONTE: TSANACLIS, Lolita M.; WICKS, J. F. C.; CHASIN, A. A. da Matta. RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, v. 4, n. 1, p. 06-46, fev. 2011.

2.4 Matrizes Biológicas

A detecção de drogas em diferentes matrizes biológicas fornece informações importantes quanto à cinética e mecanismo de disposição da droga no organismo. Diversas amostras biológicas podem ser utilizadas, tais como sangue, urina, cabelo, suor, saliva (fluido oral), mecônio, humor vítreo, entre outras. As concentrações das substâncias nas amostras podem ser afetadas principalmente pela dose, via de administração, padrão de uso, distribuição, metabolismo e excreção da substância. A janela de detecção é o período em que o teste consegue detectar a presença da droga no organismo, sendo, portanto, outro importante fator a ser considerado (FIGUEIRÓ, 2011).

Uma das partes mais problemáticas na realização de testes para a detecção do uso de drogas consiste na escolha da matriz e no processo de amostragem.

Cada matriz tende a mostrar características particulares que devem ser entendidas e consideradas no momento da escolha e no desenvolvimento do método de análise (FIGUEIRÓ, 2011).

O aumento da sensibilidade nas técnicas analíticas fez com que a detecção, a identificação e a quantificação de drogas em matrizes não convencionais se tornassem mais práticas. Por este motivo, algumas matrizes como cabelo, unha, saliva, estrato córneo e suor têm sido utilizados como amostras não convencionais preferenciais para análise de drogas ou para complementar as análises realizadas em outras amostras (BULCÃO *et al.*, 2011).

2.4.1 Sangue

O sangue é a amostra de escolha para monitoramento do nível sérico de drogas ou medicamentos. A cocaína no sangue encontra-se em altas concentrações e sua presença indica exposição recente. A concentração plasmática rapidamente se eleva acima de 100 ng/mL após injetar 25mg ou fumar 25 ou 40mg de cocaína. Essa elevação é acompanhada pelo aumento do diâmetro da pupila, pressão arterial e frequência cardíaca. Não existe uma correlação exata entre concentração sanguínea de cocaína e/ou metabólitos e efeitos farmacológicos ou comportamentais. A presença de benzoilecgonina no soro prediz confiavelmente intoxicação aguda por cocaína quando comparada a testes que utilizam urina como amostra (FIGUEIRÓ, 2011).

Apesar de ser uma matriz biológica vantajosa, a grande limitação do sangue para detecção do uso de cocaína é a curta duração de meia-vida da droga, quando comparada a outras matrizes biológicas, uma vez que o sangue detecta exposição recente (BULCÃO *et al.*, 2011).

Karch (1999) e Cone (1995), citado por Figueiró (2011), salientam que o procedimento padrão para obtenção da amostra é por punção venosa, método considerado invasivo e que requer pessoal treinado para realizar a coleta. Outra limitação refere-se à necessidade de cuidados especiais durante o manejo e transporte da amostra para evitar hemólise e outros fenômenos de degradação do sangue. Geralmente esses cuidados exigem centrifugação (quando o sangue total não for a matriz a ser analisada) e refrigeração da amostra assim que é coletada.

Por outro lado, amostras de sangue não podem ser congeladas por longo período o que implica a realização da dosagem tão logo quanto possível.

Alfazil e Anderson (2008), citado por Figueiró (2011) ressaltam que a cocaína presente no sangue total é suscetível à degradação por hidrólise química (em função do pH) ou enzimática a benzoilecgonina e éster metilecgonina em decorrência dos grupamentos ésteres em sua estrutura, especialmente quando é estocado à temperatura ambiente e por um período prolongado. Esses dois metabólitos ainda podem ser degradados a ecgonina. A adição de fluoreto de sódio pode inibir a atividade das esterases plasmáticas, representando um cuidado importante na utilização dessa amostra e conseqüentemente na interpretação e confiabilidade do resultado. No entanto, mesmo essa prática pode não impedir significativamente a ação das enzimas, levando a uma diminuição do metabólito benzoilecgonina na amostra. Portanto, essa limitação deve ser considerada uma fonte de incerteza ao trabalhar com amostras de sangue.

2.4.2 Urina

A urina, na maioria das vezes, é a amostra biológica de escolha para verificação de exposição recente a drogas de abuso. É um procedimento não invasivo e grandes volumes podem ser obtidos durante a coleta. As concentrações da droga e seus produtos de biotransformação são mais elevadas na urina do que em outras matrizes biológicas. A cocaína e a benzoilecgonina podem ser detectados na urina entre 6 a 8 horas e 2 a 3 dias, respectivamente. O éster metil anidroecgonina, resultante da eliminação do ácido benzóico da cocaína sob altas temperaturas na pirólise, também é encontrado na urina e sua identificação é importante para diferenciar usuários de *crack* (CARVALHO; CHASIN; CARVALHO, 2008).

A urina é a matriz biológica que apresenta menor número de interferentes endógenos, pois é constituída principalmente por água. Apresenta níveis significantes de proteína e lipídios somente durante estados patológicos, o que poderia interferir no processo de extração e identificação da droga (BULCÃO *et al.*, 2011).

Contudo, a disponibilidade maior de reagentes comerciais prontos para análise de triagem é uma importante razão para o frequente uso da urina em análises toxicológicas (YONAMINE, 2000).

Para a análise em urina, a IFP é preconizada para verificação da presença de benzoilecgonina. As técnicas imunológicas são mais utilizadas por necessitarem de pouco volume de amostra. Os sistemas são automatizados, o que diminui a probabilidade de erros operacionais e processamento de várias amostras simultaneamente, não havendo necessidade de procedimentos de extração. Outra técnica utilizada para triagem é por CG, esta, porém necessita de uma etapa prévia de extração dos analitos da urina, o mesmo ocorre para a etapa confirmatória, onde uma das técnicas aplicadas é a CG/MS. Procedimentos de extração da urina são difíceis, pois os produtos de biotransformação, indicadores de exposição à droga, são geralmente polares e hidrofílicos, ou seja, têm grande afinidade pela água (YONAMINE, 2000).

A coleta de urina para identificação de drogas de abuso é usualmente supervisionada para garantir que não ocorram fraudes durante a mesma (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011).

2.4.3 Cabelo

O cabelo é a matriz biológica de escolha quando o objetivo é verificar a exposição da droga por um período mais prolongado. A maior vantagem do cabelo em relação aos outros materiais de origem biológica é o longo período de tempo de detecção dos analitos. A coleta das amostras é um processo de fácil execução, não-invasivo, sendo difícil a sua adulteração. Não são necessárias condições especiais de transporte e armazenamento, devido à estabilidade do cabelo. Existe ainda, a possibilidade de se obter uma segunda amostra, similar e correspondente à anteriormente coletada, para a realização de uma posterior análise, caso seja necessário (TOLEDO; YONAMINE; SILVA, 2001).

Alguns pesquisadores classificam o cabelo como um dosímetro biológico, filamento de registro e até mesmo como um espelho do ambiente onde o indivíduo foi exposto. Isto porque, quando ocorre exposição a determinado elemento químico, droga por contaminação externa ou através da ingestão a substância estará

presente no cabelo. Os fios de cabelo originam-se dos folículos capilares localizados na epiderme, 3 a 4 cm abaixo da membrana epitelial. Estão próximos e associados às glândulas secretoras: sebácea, sudorípica e a apócrina. As secreções produzidas por estas glândulas nutrem os fios de cabelo, se tornando possíveis veículos para a transferência de drogas para a estrutura capilar. Cada fio de cabelo é constituído de três estruturas celulares distintas: a cutícula, o córtex e a medula (LIMA; SILVA, 2007).

Pesquisas indicam que os vários analitos se depositam no cabelo através de várias maneiras, principalmente através da corrente sanguínea, mas também pode ocorrer através da transpiração e da oleosidade da pele. Cada folículo de cabelo tem seu próprio suprimento de sangue. A cobertura externa do cabelo, conhecida como cutícula, geralmente protege o córtex e ajuda a tornar o cabelo bastante resistente e durável. À medida que o cabelo cresce, drogas e metabólitos são incorporados na porção interna do cabelo, conhecida como córtex, e lá permanecem fixas (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011).

Considerando-se que o cabelo humano cresce, em média, de 1,0 a 1,5 cm por mês, é possível traçar um histórico do consumo de cocaína. O período de detecção é diretamente proporcional ao comprimento do cabelo do indivíduo analisado, sendo o segmento da região mais próxima à raiz correspondente ao último mês de exposição e a extremidade do cabelo representaria o período mais distante (TOLEDO; YONAMINE; SILVA, 2001).

O exame de cabelo pode ser feito com amostras não apenas da cabeça, mas também com pêlos de qualquer parte do corpo. É comum a análise de drogas em amostras de pêlos da axila, do peito e de pêlos pubianos. No entanto, fica mais difícil determinar o período de exposição à droga com pêlos corporais, quando comparado ao cabelo (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011).

A análise do cabelo passa por duas etapas básicas. Primeiramente, o cabelo é dividido em segmentos de acordo com a necessidade da análise. Os segmentos podem medir um centímetro, para revelar o histórico mais detalhado de mês a mês, como também podem ser segmentos de três centímetros para um histórico abrangendo um período mais longo (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011). Na segunda fase ocorre a descontaminação, com o objetivo de eliminar os possíveis interferentes depositados, assim como a remoção de tratamentos cosméticos que podem originar resíduos inadequados para análise por GC/MS. A descontaminação

deve ser efetiva na remoção da contaminação externa, mas não dos componentes presentes no interior do cabelo. Por fim é realizada a digestão e extração do analito em meio ácido. O ácido clorídrico é o mais comumente empregado (LIMA; SILVA, 2007).

A detecção dos produtos de biotransformação é a principal abordagem nos testes de cabelo para confirmar uso de drogas e excluir contaminação externa. A presença de ambos em amostras de cabelo confirma uso de drogas, pois demonstra que ocorreu o metabolismo das mesmas pelo organismo. A dificuldade na interpretação surge quando os metabólitos não são detectados. Entretanto, este problema é facilmente contornado através da análise dos resíduos provenientes da lavagem do cabelo, obtidos durante o processo de descontaminação (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011).

Na literatura, vários métodos têm sido relatados para identificar o uso de cocaína em amostras de cabelo. Nessa matriz é encontrada maior concentração de cocaína quando comparada a seus metabólitos. Por este motivo, estudos foram desenvolvidos para padronizar um método de extração dessas substâncias e de transformação da cocaína em benzoilecgonina, para possibilitar a utilização da IFP como técnica de identificação. Na fase de triagem, são empregadas como técnica de identificação a IFP e a eletroforese capilar (técnica analítica utilizada para a separação e identificação de substâncias). Na etapa confirmatória utiliza-se a CG/MS (TOLEDO; YONAMINE; SILVA, 2001).

2.4.4 Suor

O suor representa um dos principais mecanismos pelos quais as drogas são secretadas. Através dele ocorre a difusão passiva da droga do sangue para as glândulas sudoríparas e a migração transdérmica da droga através da pele. Ressalta-se que a concentração das drogas no suor varia de acordo com uma série de fatores, dentre eles a concentração da droga no sangue e a intensidade da transpiração de cada indivíduo (COSSIO-BOLAÑOS; ARRUDA; STUCCHI, 2009).

A análise de drogas no suor raramente é realizada, pelo fato de ser extremamente difícil estimar o volume de suor e coletar quantidades significativas. Nos últimos anos, a coleta de suor foi facilitada pelo desenvolvimento do adesivo

sweat patch que absorve o suor liberado pelo corpo. O suor também apresenta a vantagem de ser uma coleta não invasiva (BULCÃO *et al.*, 2011).

2.4.5 Saliva (Fluido oral)

A denominação “fluido oral” representa a mistura de saliva (secreção de três glândulas principais, a submandibular, a parótida e a sublingual) e outros constituintes presentes na boca, sendo composto por água, enzimas (principalmente amilase), glicoproteínas (mucina) e eletrólitos. Sua composição e o volume produzido podem ser afetados por vários fatores, como por exemplo, o ritmo circadiano, dieta, idade, doenças sistêmicas, como a fibrose cística e o diabetes mellitus, e a utilização de algumas drogas e medicamentos que levam a uma diminuição do volume de secreção bucal produzido (BULCÃO *et al.*, 2011).

De modo geral, a maioria das drogas chega à saliva por meio de difusão simples. Para que isso ocorra, a molécula precisa ter lipossolubilidade adequada, estar na sua forma não-ionizada e não-ligada a proteínas plasmáticas, de forma que a concentração da droga na saliva represente a sua fração livre e não-ionizada no plasma sanguíneo. Assim, substâncias com características de base fraca tendem a se acumular na saliva, com predomínio da droga original e não seus produtos de biotransformação, pois o pH da saliva é mais ácido que o pH sanguíneo, o que promove sua ionização e impede o retorno para o plasma (LIMBERGER *et al.*, 2010).

A coleta de fluido oral ocorre de forma não-invasiva e sob supervisão direta, dificultando a adulteração da amostra pelo indivíduo. A amostra pode ser obtida de forma espontânea, por drenagem, sucção ou por absorção em material apropriado e posterior centrifugação para retirada da amostra. Além disso, o fluido oral representa uma matriz relativamente limpa, não necessitando de etapas de preparação muito sofisticadas e apresenta concentração do analito adequada para a sua quantificação. Essas razões tornam o fluido oral uma matriz biológica atrativa para detecção do uso recente de drogas. Assim como no plasma, o período de detecção pode ser alterado por diversos fatores como dose, frequência de uso e sensibilidade dos métodos analíticos (LIMBERGER *et al.*, 2010).

Segundo Cone, Oyler e Darwin (1997), citado por Figueiró (2011), o principal analito encontrado em amostras de saliva para a detecção do uso de cocaína é a própria cocaína, pois aparece nessa matriz imediatamente após a administração intravenosa e fumada correlacionando-se aos níveis encontrados no plasma. Devido à acidez do fluido oral, a cocaína é prontamente aprisionada na saliva após deixar a circulação sanguínea já que o baixo pH da saliva proporciona a manutenção da droga na forma ionizada. Em usuários crônicos, o tempo de meia-vida da cocaína é maior quando comparado a usuários ocasionais. No entanto, mesmo após uma única dose recreacional de cocaína, o fluido oral pode ser uma boa matriz alternativa para análise.

Os metabólitos benzoilecgonina e éster metilecgonina aparecem dentro de 15 minutos na saliva. Diferentemente da cocaína, esses metabólitos tendem a permanecer na saliva até 5 horas após a administração e estável até 21 dias de estocagem em temperaturas de -20 a 37 °C. Em caso de administrações orais repetidas, a meia-vida da benzoilecgonina compreende o intervalo entre 5 a 9 horas, já quando administrações repetidas são realizadas por via intravenosa, a meia-vida corresponde a 2,3 horas para benzoilecgonina e 6,5 horas para éster metilecgonina. Em usuários em abstinência recente do *crack*, a meia-vida de benzoilecgonina também é maior na saliva do que no plasma. Independentemente da via utilizada, o tempo de meia-vida dos metabólitos é superior ao da droga inalterada (FIGUEIRÓ, 2011).

A baixa concentração do analito e o pequeno volume de fluido oral possível de ser coletado podem ser contornados pelo uso de técnicas analíticas de alta sensibilidade como CG/MS e CLAE (LIMBERGER *et al.*, 2010).

As metodologias analíticas empregadas para a detecção de cocaína e metabólitos em saliva incluem técnicas diversas e apresentam bons resultados quando comparadas às metodologias que usam amostras biológicas tradicionais (FIGUEIRÓ, 2011).

2.5 Métodos Analíticos

Uma das partes mais problemáticas na realização de testes para a detecção do uso de drogas consiste na escolha da matriz biológica. Cada matriz tende a mostrar características particulares que devem ser entendidas e consideradas no momento da escolha e no desenvolvimento do método de análise. A etapa inicial dessas análises é o processo de triagem, seguida pela etapa confirmatória (FIGUEIRÓ, 2011).

2.5.1 Triagem

A cocaína e seus metabólitos podem ser mensurados em diferentes matrizes biológicas e por diferentes métodos analíticos. Considerando os métodos analíticos aplicáveis na identificação e quantificação da cocaína e seus metabólitos, a CG é a mais referida. Também são utilizados para triagem o teste imunoenzimático, ELISA, utilizando kits específicos para cada analito e a IFP (CARVALHO, 2011).

A CG é uma técnica bastante utilizada por apresentar uma série de vantagens, dentre elas: rapidez na realização, boa sensibilidade e especificidade, possibilidade de se detectar várias substâncias numa mesma análise e ter custo acessível (YONAMINE, 2000).

Do ponto de vista ético, resultados obtidos a partir de técnicas de triagem não podem ser considerados definitivos, pois podem apresentar resultados falsos negativos ou falsos positivos. Faz-se necessária a realização de um método confirmatório (BULCÃO *et al.*, 2011).

2.5.2 Etapa confirmatória (Quantitativa)

As análises confirmatórias devem identificar a presença de uma substância específica com alto grau de certeza. As técnicas consideradas “padrão-ouro” são a CG/MS e CLAE (LIMBERGER *et al.*, 2010).

A CG/MS é a técnica de escolha para confirmação de análises de drogas de abuso, recomendada pela maioria dos órgãos internacionais (YONAMINE, 2000).

A CLAE é uma técnica consagrada para análise de fármacos e metabólitos apresentando vantagem de ser adequada à análise de compostos polares, como é o caso do principal metabólito da cocaína, a benzoilecgonina. Essa técnica é extremamente útil para detecção da cocaína e seus metabólitos (CARVALHO, 2011).

Seja qual for a técnica selecionada para identificação e quantificação dos analitos, a análise de matrizes biológicas requer um pré-tratamento da amostra, permitindo que a análise dos componentes de interesse se torne possível (YONAMINE, 2000).

3. CONCLUSÃO

- Está esclarecido que não existe a melhor amostra para a análise de drogas, mas sim a amostra ideal para determinada finalidade;
- A urina e o sangue são as matrizes biológicas convencionais de primeira escolha;
- O cabelo e a saliva são as amostras não-convencionais mais amplamente utilizadas, sendo o cabelo utilizado para detectar o uso de longo prazo;
- A dosagem das drogas em diferentes matrizes biológicas fornece informações importantes em diferentes situações. Em muitos casos, pode haver necessidade de se investigar e confirmar o uso de drogas de abuso por meio de um marcador específico, como é o caso do éster metil anidroecgonina, para usuários de *crack*;
- A probabilidade de se encontrar um resultado positivo depende da técnica utilizada e da janela de detecção da matriz biológica;
- O uso de amostras não-convencionais está ganhando importância no campo da toxicologia, devido a seus procedimentos de coleta não-invasivos;
- Equipamentos analíticos tornam-se cada vez mais sensíveis e específicos, o que permite a detecção e quantificação de drogas em quantidades muito mais baixas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M.N.R. **Desenvolvimento e validação de metodologia para análise de cocaína, derivados e metabólitos em amostras de meconio utilizando a Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas**. Ribeirão Preto, 2010.

BULCAO, R et al. Designer drugs: aspectos analíticos e biológicos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 35, n. 1, 149-158, 2011.

CARLINI, E.A.; NAPPO, S.A.; GAUDURÓZ, J.C.F.; NOTO, A.R. Drogas psicotrópicas – o que são e como agem. **Rev IMESC**, n. 3, 9-35, 2001.

CARVALHO, V.M. **Redistribuição da cocaína e sua influência na neuroquímica post mortem**. São Paulo, 2011.

CARVALHO, V.M.; CHASIN, A.A.M; CARVALHO, D.G. A study on the stability of anhydroecgonine methyl ester (crack biomarker), benzoylecgonine, and cocaine in human urine. **Rev. psiquiatr. clín.** São Paulo, v. 35, supl 1, 17-20, 2008.

CAZENAVE, S.O.S; CHASIN, A.A.M. Análises Toxicológicas e a Questão Ética. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 2, jun, 2009.

CHASIN, A.A.M; LIMA, I.V. Alguns Aspectos Históricos do uso da coca e da cocaína. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 1, n. 1, out, 2008.

COSSIO-BOLANÕS, M.A.; ARRUDA, M.; STUCCHI, S. Dependência Química e sua relação com a atividade física. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano VII, n. 21, jul/set 2009.

FIGUEIRÓ, L.R. **Fluido oral e sangue capilar aplicado a papel filtro como amostras biológicas para a detecção do uso de cocaína: revisão.** Novo Amburgo, 2011.

GARCIA, R.C.T. **Efeitos neurodegenerativos da metilecgonidina e da cocaína em cultura celular primária de hipocampo.** São Paulo, 2009.

LIMA, E.C.; SILVA, C.L. Cabelo como Matriz Analítica Alternativa para a determinação de drogas de abuso. **NewsLab**, ed 82, 2007.

LIMA FILHO, M.C. O legislativo e política pública de enfrentamento do uso do crack. **Biblioteca Digital Câmara dos Deputados**, Brasília, dezembro, 2010.

LIMBERGER, R.P.; FRÖEHLICH P.E.; BOEHL, P.O.; ZAGO, D.S.; ZANCANARO, I.; MARIOTTI, K.C.; COMIRAN, E.; PRUSCH, D.S.; OLIVEIRA, F. Testes Toxicológicos para aferição de substâncias psicoativas em condutores. **Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD)**, 2010.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de Toxicologia.** 3 ed. São Paulo: Atheneu Editora, v. 9, 355-364, 2008.

POITEVIN, L.; STEFANON, E. O uso do crack e suas consequências para a saúde. **3ª Jornada interdisciplinar em saúde.** Promovendo Saúde na contemporaneidade: desafios de pesquisa, ensino e extensão. Santa Maria-RS, junho, 2010.

SPINELLI, Eliani. Anfetaminas. In: SPINELLI, Eliani. **Vigilância Toxicológica - Comprovação do uso do álcool e drogas através de testes toxicológicos.** Editora Interciência, 2004. Cap. 9, p.113-122.

TOLEDO, F.C.P.; YONAMINE, M.; SILVA, O.A. Utilização da imunofluorescência polarizada na determinação de benzoilecgonina em cabelo de usuários de cocaína. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 1, jan./abr., 2001.

TSANACLIS, L.M.; WICKS, J.F.C.; CHASIN, A.A.M. Análises de drogas ou pêlos. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 1, p. 06-46, fev. 2011.

UNODC. (United Nations Office on Drugs and Crimes). **World Drug Report 2010**. New York: United Nations Publications, 2010. Disponível em:http://www.unodc.org/documents/wdr/WDR_2010/World_Drug_Report_2010_lo-res.pdf . Acesso em: 15/mar/2012.

YONAMINE, M. **Derivação de Benzoilecgonina Urinária com Diazometano para Verificação da Exposição à cocaína por técnicas cromatográficas**. São Paulo, 2000.