

Avaliação da técnica de imunocromatografia para análise de drogas de abuso no contexto da química forense

G.A.T. Pinto ^a, L.G. Freitas ^a, Y. Machado ^b, P.A. Marinho ^{b,*}

^a Centro Universitário UNA, Belo Horizonte (MG), Brasil

^b Instituto de Criminalística, Belo Horizonte (MG), Brasil

* Endereço de e-mail para correspondência: pabloalvesmarinho@yahoo.com.br. Tel.: +55-31-3330-1769.

Recebido em 17/10/2015; Revisado em 13/12/2015; Aceito em 14/12/2015

Resumo

O uso abusivo de drogas é um problema de saúde pública mundial que leva a graves consequências sociais e principalmente na saúde dos usuários. A prevalência da utilização de drogas pela população em geral vem aumentando consideravelmente. Deste modo, as análises químicas em drogas de abuso apresentam importância crucial para materialização do delito. A imunocromatografia é uma técnica de triagem, rápida, de fácil execução, dispensa o uso de reagentes adicionais, equipamentos e técnicos especializados, sendo bastante utilizada para a detecção de drogas em fluidos biológicos, mas carece de estudos para sua utilização em análises de drogas apreendidas. Sendo assim, o presente estudo aborda os aspectos analíticos da técnica de imunocromatografia, avaliando a eficiência desta técnica para a análise de drogas de abuso no contexto da química forense. Para o presente estudo as amostras sugestivas de maconha, cocaína e ecstasy (MDMA) apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais foram analisadas por imunocromatografia e comparadas com outras técnicas como testes colorimétricos e análises instrumentais (FT-IR, GC-MS e LC-MS/MS). Parâmetros como taxas de falsos resultados, sensibilidade, seletividade e confiabilidade foram calculados utilizando tabelas de contingência. A imunocromatografia apresentou em média taxas de sensibilidade e seletividade de 94% e 75%, respectivamente. A menor confiabilidade constatada para análise de comprimidos de ecstasy deve-se principalmente ao grande número de resultados falso-positivos para MDMA, uma vez que essa técnica é pouco seletiva para essa substância, detectando diversas outras substâncias análogas. Portanto, a imunocromatografia se mostrou eficiente para a triagem de drogas apreendidas, uma vez que apresentou adequada sensibilidade e seletividade para drogas como maconha e cocaína e possibilidade de detectar outras drogas sintéticas além do ecstasy, as quais possivelmente não seriam detectadas pelos testes colorimétricos rotineiramente empregados pelos Peritos Criminais de campo.

Palavras-Chave: Imunocromatografia; Drogas de Abuso; Química Forense.

Abstract

The drug abuse is a global public health problem that leads to serious social consequences and specially the health of users. The prevalence of drug use by the population in general has increased considerably. Therefore, chemical analyses on drug abuse have crucial importance as crime evidence. The immunochromatography is a screening technique, which is fast, easy to perform, does not require the use of additional reagents, specialized equipment or technicians, and is widely used for drug detection in biological fluids, but lacks studies to be used in seized drug analysis. Thus, the present study focuses on the analytical aspects of the immunochromatography technique, evaluating the efficiency of this technique for the analysis of drug abuse in forensic chemistry. For this study the suspected samples of marijuana, cocaine and ecstasy (MDMA) seized by the Police Civil of Minas Gerais were analyzed by immunochromatography and compared with other analytical techniques such as colorimetric tests, FT-IR, GC-MS and LC-MS/MS. Parameters such as false results rates, sensitivity, selectivity and reliability were calculated using contingency tables. The immunochromatography presented an average of 94% and 75% rates of sensitivity and selectivity, respectively. The lower reliability observed for analysis of ecstasy tablets is due mainly to the large number of false positive results for MDMA, since this technique is not very selective to this drug, detecting a number of other analogous substances. Therefore, the immunochromatography proved to be efficient for screening of seized drugs, since it showed itself to have good sensitivity and selectivity for drugs like marijuana and cocaine, and the possibility to detect other synthetic drugs in addition to the ecstasy, which possibly would not be detected by the colorimetric tests routinely employed by forensics.

Keywords: Immunochromatography; Drugs of abuse; Forensic Chemistry.

1. INTRODUÇÃO

O uso abusivo de substâncias psicoativas vem crescendo nos últimos 10 anos, constituindo-se, assim, um dos fenômenos mais frequentes na população mundial. Tais substâncias atuam no sistema nervoso central modificando seu funcionamento e provocando alterações de humor, nos estados de consciência, no comportamento e nas percepções [1].

As análises de drogas de abuso representam uma das áreas que despertam grande interesse da comunidade científica voltadas para a química e toxicologia [2] e por isso vêm sendo utilizadas por diversos setores da sociedade e aplicadas para verificar o seu uso no ambiente ocupacional, atividades desportivas, controle da farmacodependência, na vigilância de condutores de transporte coletivo e também na área forense [3-4].

Dentro das ciências forenses, a química forense apresenta como objetivo principal a realização de ensaios laboratoriais em vários tipos de amostras não biológicas, que são encaminhadas para fins periciais a pedido de autoridades policiais, judiciárias e/ou militares [5].

A detecção de uma substância psicoativa apreendida é realizada primeiramente por meio de técnicas de triagem que sejam de fácil execução e proporcionam resultados rápidos, podendo ser empregados fora do ambiente laboratorial. Porém, a confirmação da substância deve ser realizada utilizando métodos mais seletivos para o alvo analítico, como as técnicas cromatográficas geralmente acopladas à espectrometria de massas [5]. As principais técnicas de triagem utilizadas pelos laboratórios de química forense são os testes colorimétricos para identificação de drogas apreendidas e os imunoenaios para análise de matrizes biológicas pelos laboratórios de toxicologia forense [6].

O princípio dos métodos colorimétricos é a mudança de cor em resposta à interação de uma substância com um determinado reagente químico. Esses testes fazem parte dos mais antigos instrumentos para a identificação presuntiva de drogas e venenos usados por toxicologistas e criminalistas e ainda continuam a ser populares por diversas razões: são utilizadas reações químicas relativamente simples e produzem resultados visíveis que podem ser interpretados a olho nu; os reagentes e materiais necessários para realização dos testes são de baixo custo e facilmente disponíveis; podem ser realizados por técnicos sem extensa formação; exigem quantidade mínima de reagentes, porém, devido a possibilidade de interferência de outras substâncias, são indicados somente como testes de triagem [7-8].

Para as principais drogas apreendidas no Brasil, são utilizados comumente os testes de Duquenois-Levine para a *Cannabis sativa*; tiocianato de cobalto e Scott para cocaína; e os reagentes de Simon e Marquis para o ecstasy [9].

Os imunoenaios são técnicas analíticas que se baseiam na interação de anticorpo-antígeno, sendo alguns capazes de produzir um sinal mensurável e relacionado com a concentração de um composto numa amostra. Os anticorpos podem ser mono ou policlonais e direcionados a moléculas de drogas específicas ou a uma classe de drogas [10]. Essa técnica apresenta grande aplicação na área da toxicologia forense e clínica médica, onde possibilita resultados rápidos e muitas vezes semi-quantitativos.

Os imunoenaios são comumente empregados na etapa de triagem para análise de fármacos e drogas de abuso uma vez que apresentam uma elevada sensibilidade, porém carecem de adequada seletividade e, conseqüentemente, possibilidade de resultados falso-positivos [6].

A imunocromatografia é um ensaio meramente qualitativo já sendo utilizada há muito tempo em amostras biológicas nos laboratórios de toxicologia para pesquisa de drogas de abuso [11], porém com grande potencial de aplicação no campo da química forense. Outras aplicações forenses desta técnica incluem pesquisa de sangue, saliva e líquido seminal (análise de PSA ou semenogelina) em locais de crime, porém não há ainda publicações sobre o uso destes testes em drogas apreendidas [12-15].

Essa técnica é um tipo de imunoensaio podendo ser utilizada para indicar o uso de drogas de abuso. Apresenta adequada sensibilidade e confiabilidade, é de fácil execução, possui resultado rápido, dispensa o uso de reagentes adicionais, equipamentos e técnicos especializados e não apresenta a necessidade de um ambiente laboratorial para sua execução. Para análise de drogas, normalmente, o anticorpo é fixado em uma membrana de nitrocelulose ou de nylon, em forma de linhas que se denominam linhas de captura. Como conjugado, utiliza-se um segundo anticorpo marcado com um corante insolúvel como o ouro coloidal (coloração rósea) ou o prata coloidal (coloração azul-marinho). Ao se aplicar a amostra, o antígeno (droga) se liga ao conjugado e migra até formar um imunocomplexo, o qual é revelado pelo depósito do corante coloidal na linha de captura [16].

Para definição das propriedades analíticas dos métodos qualitativos é importante o estudo das taxas de falso-positivos e de falso-negativos. A taxa de falso-positivos é a probabilidade de obter um resultado positivo quando o analito não está presente na amostra e a taxa de falso-negativos é a probabilidade de obtenção de um resultado negativo quando a substância está presente na amostra. Já a confiabilidade de um método qualitativo é definida como a proporção de resultados corretos (positivos e negativos verdadeiros), estando relacionada à exatidão nos métodos quantitativos [17].

O desempenho dos métodos qualitativos é representado pelas taxas de sensibilidade e seletividade as quais estão intimamente relacionados com as taxas de

falsos resultados. A taxa de sensibilidade corresponde à probabilidade de um método classificar como positiva uma amostra sabidamente positiva e a taxa de seletividade corresponde à probabilidade de um método classificar como negativa uma amostra sabidamente negativa [17]. O estudo destas figuras de mérito é crucial para verificar a adequação do método ao seu uso pretendido.

2. OBJETIVO

O presente estudo pretende avaliar o desempenho analítico da técnica de imunocromatografia, a fim de verificar sua aplicação no contexto da química forense para determinação de drogas de abuso apreendidas pelas forças policiais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Amostras

Para o presente estudo foram analisadas 40 amostras sugestivas de maconha e cocaína e 65 amostras sugestivas de ecstasy, apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais, de dezembro de 2014 a maio de 2015.

As amostras sugestivas de maconha e cocaína foram primeiramente submetidas aos métodos colorimétricos utilizados para triagem de maconha (Duquenois-Levine) e cocaína (Scott e Mayer), posteriormente submetidas à imunocromatografia utilizando Tiras de teste THC One Step Marijuana Test (Urine) - ABONTM e Tiras de teste COC 150 One Step Cocaine Test (Urine) - ABONTM e confirmadas por FT-IR e/ou GC-MS, quando necessário. As amostras sugestivas de 3-4 metilenodioximetanfetamina (MDMA) também foram submetidas à imunocromatografia, utilizando Tiras de teste MDMA One Step Ecstasy Test (Urine) - ABONTM, a fim de verificar a sensibilidade e seletividade da técnica. Para confirmação estas amostras foram submetidas ao FT-IR, GC-MS e/ou LC-MS.

Alguns diluentes e adulterantes dessas drogas foram testados para verificar a possibilidade de resultados falso-positivos.

3.1.2. Equipamentos

Para a confirmação das substâncias presentes nas amostras suspeitas de maconha, cocaína e ecstasy foram utilizados cromatógrafo em fase gasosa (Agilent Technologies®, modelo 7890A) acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS; Agilent Technologies®, modelo 5975C); cromatógrafo em fase

líquida Ultra Rápido (Shimadzu Corporation®, modelo 20 AD XR) acoplado ao espectrômetro de massas triplo quadrupolo (Shimadzu Corporation®, modelo LCMS 8030); espectrômetro de absorção no infravermelho por transformada de fourier (FT-IR; Thermo Scientific®, modelo Nicolet iZ10).

3.1.3. Reagentes

Para a extração das amostras foram utilizadas acetona (Synth®, grau PA) e água deionizada e para realização dos métodos colorimétricos foram utilizados ácido clorídrico 37% (Quimex®, grau PA); reagente de Mayer; reagente de Duquenois-Levine e reagente de Scott.

3.2. Métodos

3.2.1. Preparo das amostras

Cocaína/maconha: as amostras foram colocadas em um microtubo até a marcação de 0,1 mL e adicionou-se 1 mL de água deionizada. Agitou-se por 30 segundos em agitador mecânico e após a imersão da tira de imunocromatografia na solução realizou-se a leitura visual após 5 minutos.

Vegetal de cannabis: triturou-se o vegetal em pequenas porções e colocou-o dentro de um microtubo até aproximadamente a marca de 0,1 mL, sendo adicionado 1 mL de acetona para extração sob agitação vigorosa por 1 minuto. Uma alíquota de 0,2 mL dessa solução foi diluída com 1 mL de água deionizada para realização da análise imunocromatográfica.

Comprimidos: as amostras foram previamente trituradas e colocadas em um microtubo até a marcação de 0,1 mL. Adicionou-se 1 mL de água deionizada ao microtubo e agitou-se por 30 segundos no agitador mecânico. Procedeu-se com análise utilizando a tira imunocromatográfica conforme descrito anteriormente.

A Figura 1 demonstra um resultado positivo para cocaína e outro negativo utilizando as tiras imunocromatográficas para pesquisa dessa droga.

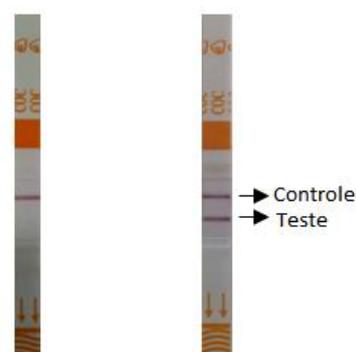


Figura 1. Resultado positivo (à esquerda) e negativo (à direita) para cocaína.

3.3. Cálculos de falsos resultados, sensibilidade, seletividade e confiabilidade

Para determinação de parâmetros como falsos resultados, sensibilidade, seletividade e confiabilidade no presente estudo foram utilizadas tabelas de contingência (Tabela 1) [17].

Tabela 1. Tabela de contingência utilizada para cálculo de falsos resultados, sensibilidade, seletividade e confiabilidade do método.

Resultado do teste	Analito presente	Analito ausente	Total
Positivo	TP	FP	TP + FP
Negativo	FN	TN	FN + TN
Total	FN + TP	FP + TN	N

*FP = número de resultados falso-positivos; FN = número de resultados falso-negativos; TP = número de resultados positivos verdadeiros; TN = número de resultados negativos verdadeiros; N = TP + FP + FN + TN.

Para calcular os parâmetros anteriormente citados foram utilizadas as Equações 1 a 5:

Taxa de falso-positivos (TFP)

$$TFP(\%) = [(FP)/(FP+TN)] \times 100 \quad (1)$$

Taxa de falso-negativos (TFN)

$$TFN(\%) = [(FN)/(FN+TP)] \times 100 \quad (2)$$

Taxa de sensibilidade (TSB)

$$TSB(\%) = [(TP)/(TP+FN)] \times 100 \quad (3)$$

Taxa de seletividade (TST)

$$TST(\%) = [TN/(TN+FP)] \times 100 \quad (4)$$

Taxa de confiabilidade (TCF)

$$TCF(\%) = 100 - TFP - TFN \quad (5)$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Maconha

A fim de verificar a seletividade das tiras teste de imunocromatografia para a maconha foram analisadas, em duplicata, substâncias como café torrado, cappuccino, chá de camomila, chá preto, chá verde, fumo, óleo de patchouli e orégano, uma vez que algumas destas substâncias apresentam alguma coloração nos testes de triagem.

O principal teste colorimétrico utilizado mundialmente para identificação da maconha é o Duquenois-Levine. Após a adição dos reagentes na amostra contendo maconha, há o aparecimento de um anel de coloração azul-violáceo. Como este teste não é específico para maconha, uma vez que o aparecimento da

coloração é atribuído à natureza fenólica da estrutura química dos canabinóides, outros compostos similares presentes em outros vegetais podem se comportar de maneira análoga e gerar incerteza no momento da liberação do resultado [18]. A Figura 2 demonstra a presença de um halo azul violáceo ao utilizar o reagente Duquenois-Levine à amostra de maconha e as colorações obtidas após a adição desse mesmo reagente às amostras de óleo de patchouli, chá preto e chá verde.

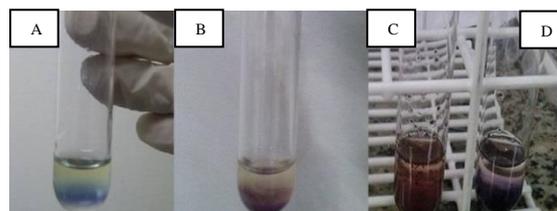


Figura 2. Coloração desenvolvida no teste de Duquenois-Levine para a maconha (A), óleo de patchouli (B), chá preto (C) e chá verde (D).

Os resultados da Tabela 2 demonstraram que a imunocromatografia se mostrou altamente seletiva para a identificação da maconha, uma vez que obteve resultados negativos para todos os vegetais testados. A elevada seletividade desta técnica se dá pela interação específica dos anticorpos anti-canabinóides.

Tabela 2. Resultados obtidos com o reagente de Duquenois-Levine e pela técnica de imunocromatografia para diferentes amostras.

Diluyente	Duquenois-Levine	Imunocromatografia
Café torrado	Violeta-vermelho	Negativo
Capuccino	Negativo	Negativo
Chá de Camomila	Negativo	Negativo
Chá preto	Rosa	Negativo
Chá verde	Violeta escuro	Negativo
Óleo de patchouli	Violeta	Negativo
Orégano	Azul claro	Negativo
Fumo	Avermelhada	Negativo

Já o teste de Duquenois-Levine apresentou uma menor seletividade em relação ao imunoensaio, como também é demonstrado na Tabela 2. Alguns vegetais testados apresentaram colorações diferentes da coloração da maconha, mas que poderiam gerar dúvida no momento da leitura do resultado, tendo em vista o caráter subjetivo da interpretação de uma cor. Nesse caso, a verificação dos aspectos morfológicos do vegetal torna-se crucial para a liberação do resultado.

A técnica de imunocromatografia utilizada para análise da maconha apresentou uma taxa de resultados falso-negativos de 18%. O aparecimento de resultados falso-negativos é explicado pela menor eficiência de

extração dos canabinóides em meio aquoso, uma vez que eles apresentam um alto coeficiente de partição óleo/água. A taxa de sensibilidade encontrada foi de 82% e seletividade de 100% o que demonstra, respectivamente, a alta probabilidade desse método em classificar como positiva uma amostra sabidamente positiva e como negativa uma amostra sabidamente negativa. A imunocromatografia apresentou uma taxa de confiabilidade (proporção de resultados positivos e negativos corretos) de 82%.

Em geral a forma vegetal da *Cannabis sativa* apresenta maior taxa de resultados falso-negativos em relação às outras formas de preparo da droga (ex: erva seca, haxixe). Nesse caso, a extração com acetona, seguida de diluição com água (1:5) para realizar o teste foi a melhor condição obtida nos experimentos realizados. O uso de solventes orgânicos em concentrações maiores interferiu na eluição da solução na tira teste, uma vez que a fase estacionária é constituída de nitrocelulose.

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos com a imunocromatografia e o teste de Duquenois-Levine para as amostras suspeitas de maconha. Uma das amostras analisadas contendo JWH-073 (amostra 40) apresentou resultado negativo para o teste colorimétrico e para a imunocromatografia, pois esse canabinóide sintético não apresenta a clássica estrutura química dos fitocanabinóides, o que explica a não reação com os anticorpos presentes na tira teste [19].

4.2. Cocaína

A imunocromatografia para a análise de cocaína apresentou taxas de sensibilidade, seletividade e confiabilidade de 100%, se mostrando absoluta em classificar como positiva uma amostra sabidamente positiva e negativa uma amostra sabidamente negativa.

Ao comparar os resultados obtidos nas Tabelas 4 e 5, verificou-se que a imunocromatografia é bastante seletiva para cocaína, não apresentando resultados falso-positivos para os principais diluentes e adulterantes da droga, ao contrário dos testes colorimétricos, os quais apresentam menor seletividade.

A imunocromatografia se mostrou altamente sensível, seletiva e confiável para a cocaína, não sofrendo interferência pelos principais diluentes e adulterantes desta droga e detectando concentrações muito baixas de cocaína nas amostras, as quais muitas vezes o reagente de Scott não foi capaz de detectar.

Todos os diluentes analisados apresentaram resultados negativos tanto na imunocromatografia como nos testes colorimétricos, demonstrando a seletividade desses métodos frente às substâncias comumente utilizadas para aumentar o volume da droga (Tabela 4).

Tabela 3. Resultados obtidos com o teste de Duquenois-Levine e imunocromatografia em análise de amostras suspeitas de maconha

Amostra	Forma	Duquenois-Levine	Imunocromatografia
01	Erva	Positivo	Positivo
02	Erva	Positivo	Positivo
03	Erva	Positivo	Positivo
04	Erva	Positivo	Positivo
05	Erva	Positivo	Positivo
06	Erva	Positivo	Negativo
07	Erva	Positivo	Positivo
08	Erva	Positivo	Positivo
09	Erva	Positivo	Positivo
10	Erva	Positivo	Positivo
11	Erva	Positivo	Positivo
12	Erva	Positivo	Positivo
13	Erva	Positivo	Negativo
14	Erva	Positivo	Positivo
15	Erva	Positivo	Negativo
16	Erva	Positivo	Positivo
17	Erva	Positivo	Positivo
18	Erva	Positivo	Positivo
19	Erva	Positivo	Positivo
20	Erva	Positivo	Positivo
21	Erva	Positivo	Positivo
22	Erva	Positivo	Positivo
23	Erva	Positivo	Positivo
24	Erva	Positivo	Positivo
25	Erva	Positivo	Positivo
26	Erva	Positivo	Negativo
27	Erva	Positivo	Positivo
28	Erva	Positivo	Positivo
29	Erva	Negativo	Negativo
30	Erva*	Positivo	Positivo
31	Erva*	Positivo	Positivo
32	Erva*	Positivo	Negativo
33	Vegetal	Positivo	Positivo
34	Vegetal	Positivo	Negativo
35	Vegetal	Positivo	Positivo
36	Vegetal	Positivo	Positivo
37	Vegetal	Positivo	Negativo
38	Vegetal	Positivo	Positivo
39	Vegetal	Positivo	Positivo
40	JWH-073	Negativo	Negativo

*Erva em cigarro artesanal parcialmente queimado

Tabela 4. Resultados obtidos no teste de Scott, Mayer e imunocromatografia nas análises de diluentes da cocaína.

Diluyente	Scott	Mayer	Imunocromatografia
Ácido Bórico	Negativo	Negativo	Negativo
Açúcar	Negativo	Negativo	Negativo
Amido de milho	Negativo	Negativo	Negativo
Bicarbonato de Sódio	Negativo	Negativo	Negativo
Cloreto de Sódio	Negativo	Negativo	Negativo
Talco	Negativo	Negativo	Negativo

Da mesma forma todos os adulterantes apresentaram resultados negativos utilizando a imunocromatografia, (Tabela 5), demonstrando a grande seletividade desta técnica para a determinação da cocaína. Tal achado é de grande importância tendo em vista que a droga de rua comercializada no Brasil é muito adulterada, possuindo em alguns casos teores abaixo de 10% [20].

Tabela 5. Resultados obtidos com o teste de Scott, Mayer e imunocromatografia nas análises de adulterantes da cocaína.

Adulterante	Scott	Mayer	Imunocromatografia
Paracetamol	Negativo	Negativo	Negativo
Aminofilina	Negativo	Negativo	Negativo
Benzocaína	Negativo	Negativo	Negativo
Cafeína	Negativo	Negativo	Negativo
Diltiazem	Positivo	Positivo	Negativo
Cloridrato de lidocaína	Negativo	Positivo	Negativo
Dipirona	Positivo	Positivo	Negativo
Fenacetina	Negativo	Negativo	Negativo
Ibuprofeno	Negativo	Negativo	Negativo
Ascaridil*	Positivo	Positivo	Negativo
Procaína	Negativo	Positivo	Negativo

*Medicamento contendo levamisol como princípio ativo

Ao comparar os resultados obtidos através da imunocromatografia com os testes colorimétricos, observou-se que tanto os reagentes de Scott quanto o Mayer são pouco seletivos. O reagente de Mayer, por exemplo, detecta os alcalóides em geral, reagindo com vários compostos desta classe. Entre os adulterantes que testaram positivo para esses reagentes estão o cloridrato de lidocaína e a procaína, os quais são comumente encontrados na droga de rua.

O levamisol é um fármaco anti-helmíntico que vem sendo utilizado atualmente como adulterante da cocaína [21]. O medicamento no Brasil contendo este fármaco (Ascaridil®) reage positivamente aos reagentes de Scott e Mayer, porém negativamente à imunocromatografia. Vale ressaltar que esse medicamento também reage com um dos testes mais empregados no mundo para triagem da cocaína, o tiocianato de cobalto, desenvolvendo também uma coloração azul, conforme é visualizado na Figura 3. Esse resultado tem grande impacto nos testes preliminares de constatação da cocaína, uma vez que grande parte da cocaína comercializada no Brasil tem sido adulterada com essa substância [22-23].

De forma semelhante os fármacos diltiazem (antiarrítmico) e dipirona (analgésico) também testaram positivo para os testes colorimétricos e negativo para imunocromatografia.

Das amostras analisadas (n=40), 12,5% apresentaram resultados negativos na imunocromatografia, pois não

continham a droga conforme resultado confirmado por meio das técnicas analíticas instrumentais (Tabela 6).

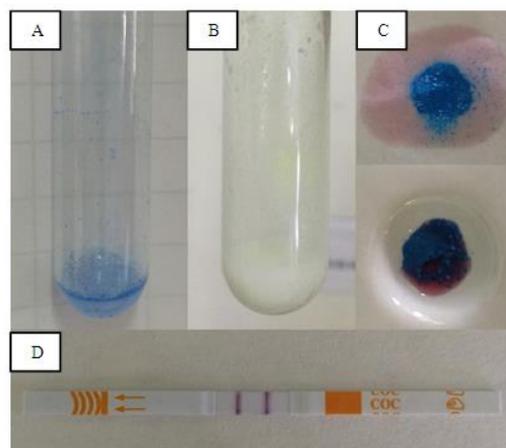


Figura 3. Resultado positivo após análise do medicamento Ascaridil® com o reagente de Scott (A), reagente de Mayer (B) e reagente de tiocianato de cobalto (C), porém negativo na imunocromatografia (D).

No presente trabalho amostras suspeitas de crack (cocaína fumável) foram também analisadas tendo em vista o número elevado de apreensões dessa droga no cenário nacional, devido o Brasil ser o maior consumidor de crack no mundo [24]. Apesar da pequena solubilidade da base livre de cocaína em água, a imunocromatografia se mostrou eficiente para detectar a droga nessas amostras (Tabela 6).

4.3. Comprimidos

O uso da imunocromatografia para análise de ecstasy (MDMA) apresentou uma maior taxa de resultados falso-positivos (74%) e uma taxa de seletividade de apenas 26%, demonstrando que essa técnica é pouco seletiva para a MDMA, uma vez que diversas substâncias análogas (anfetamina, 4-fluoroanfetamina, metanfetamina, femproporex, MDA e pseudoefedrina) também apresentaram resultados positivos (Tabela 7). As catinonas sintéticas, substâncias estruturalmente semelhantes às fenetilaminas, como a etilona, mefedrona, metilona e brefedrona também apresentaram resultados positivos na imunocromatografia. Esse fato deve-se a essas substâncias apresentarem grupamentos químicos semelhantes com a estrutura química da molécula de MDMA, o qual o anticorpo presente na tira imunocromatográfica consegue se ligar levando o aparecimento de um resultado falso positivo.

Não foram observados resultados falso-negativos com a imunocromatografia, apresentando uma taxa de sensibilidade de 100%. A baixa taxa de confiabilidade da técnica para a MDMA (26%) ocorreu devido à pequena proporção de resultados positivos corretos. A priori tal

achado pode representar um ponto negativo para o teste alternativa para identificação de novas substâncias em questão, porém, na verdade, representa uma psicoativas.

Tabela 6. Resultados obtidos com os reagentes de Scott, Mayer, imunocromatografia e técnicas analíticas instrumentais (FT-IR e GC-MS) em análise de amostras suspeitas de cocaína.

Amostra	Características	Scott	Mayer	Imunocromatografia	Técnicas Instrumentais
01	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, levamisol e ácido acetilsalicílico
02	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína
03	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
04	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e cafeína
05	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, cafeína, dipirona e levamisol
06	Pó branco	Negativo	Negativo	Negativo	Ácido Bórico
07	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e tetramisol
08	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
09	Pó branco	Negativo	Negativo	Negativo	Amido e fermento
10	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
11	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e ácido Bórico
12	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, cafeína e ácido bórico
13	Pó branco	Negativo	Negativo	Negativo	Amido, ácido bórico e fenacetina
14	Pó branco	Negativo	Negativo	Negativo	Amido
15	Pó branco	Negativo	Negativo	Negativo	Ácido Bórico
16	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, cafeína e amido
17	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e cafeína
18	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, fenacetina e ácido bórico
19	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
20	Pó amarronzado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e cafeína
21	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e cafeína
22	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína
23	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, amido e fenacetina
24	Pó amarelado	Negativo	Positivo	Positivo	Cocaína, amido, lidocaína e fenacetina
25	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e dipirona
26	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, fenacetina e ácido bórico
27	Pó branco	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, cafeína
28	Pó amarelado	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína, cafeína, benzocaína e lidocaína
29	Pó branco	Negativo	Positivo	Positivo	Cocaína, ácido bórico, fenacetina e levamisol
30	Pó rosa	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e cafeína
31	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
32	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
33	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
34	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
35	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
36	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
37	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
38	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
39	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina
40	MPA*	Positivo	Positivo	Positivo	Cocaína e fenacetina

*Material petrificado amarelado (crack)

Atualmente, observa-se um aumento da presença de novas substâncias sintéticas presentes nos comprimidos de ecstasy no Brasil [25], acompanhando a tendência mundial [26-27]. Vale ressaltar que não existe um único teste de triagem capaz de detectar todas essas drogas sintéticas, sendo necessário o uso de vários reagentes colorimétricos para detectar esses diferentes estimulantes. Dessa forma a reação cruzada entre essas substâncias e a MDMA é um aspecto interessante do ponto de vista da prática pericial para a aplicação da imunocromatografia para análise preliminar das drogas de desenho. Porém, é importante observar que nem todas as drogas presentes nos comprimidos foram detectadas pela imunocromatografia como a 2C-B, clobenzorex, ketamina, TFMPP, PV8 e 5-MeO-MiPT (Tabela 7).

5. CONCLUSÃO

Considerando que o consumo de drogas vem aumentando anualmente, principalmente em relação às drogas sintéticas, torna-se necessário a busca por técnicas de análises rápidas, baratas, de fácil transporte e execução e que apresentem adequada confiabilidade analítica para serem implementadas nos exames preliminares de constatação de drogas de abuso.

A imunocromatografia é uma alternativa viável para os Peritos Criminais utilizarem como técnica de triagem para análise de drogas de abuso (cocaína e maconha) dada a maior sensibilidade, seletividade e segurança em relação aos testes colorimétricos.

Tabela 7. Resultados obtidos por imunocromatografia e pelas técnicas analíticas instrumentais (FT-IR, GC-MS e/ou LC-MS/MS) nas análises de comprimidos

Amostra	Características	Imunocromatografia	Técnicas analíticas instrumentais
01	Comprimido rosa em forma de coração	Positivo	MDMA
02	Comprimido laranja, desenho Smile	Positivo	MDMA
03	Comprimido verde, desenho seta	Positivo	MDMA
04	Comprimido vermelho, desenho tulipa	Positivo	MDMA
05	Comprimido azul, símbolo 8	Positivo	MDMA
06	Comprimido verde	Positivo	MDMA
07	Comprimido azul, desenho de círculo	Positivo	MDMA
08	Comprimido azul claro	Positivo	MDMA
09	Comprimido amarelo, forma triangular, símbolo S (Superman)	Positivo	MDMA, celulose
10	Comprimido amarelo, forma triangular, símbolo S (Superman)	Positivo	MDMA, celulose
11	Comprimido vermelho	Positivo	MDMA, lactose
12	Comprimido roxo, desenho flor	Positivo	MDMA, teofilina, cafeína
13	Comprimido amarelo	Positivo	MDMA
14	Comprimido bege	Positivo	MDA
15	Comprimido branco, desenho Bart Simpson	Positivo	MDA, lactose
16	Comprimido branco, desenho Bart Simpson	Positivo	MDA, lactose
17	Comprimido branco, desenho Bart Simpson	Positivo	MDA, lactose
18	Comprimido branco, desenho Bart Simpson	Positivo	MDA, lactose
19	Comprimido branco, desenho Bart Simpson	Positivo	MDA, lactose
20	Comprimido lilás, desenho "Smile"	Positivo	Etilona, cafeína
21	Comprimido lilás	Positivo	Etilona, cafeína
22	Comprimido roxo	Positivo	Etilona, cafeína
23	Comprimido rosa claro, desenho "Smile"	Positivo	Etilona, cafeína
24	Comprimido rosa	Positivo	Etilona, cafeína
25	Comprimido amarelo, desenho "Smile"	Positivo	Etilona, cafeína
26	Comprimido azul, símbolo "Superman"	Positivo	Etilona, cafeína
27	Comprimido laranja, desenho "Maple"	Positivo	Etilona, cafeína
28	Comprimido azul	Positivo	Etilona, cafeína
29	Comprimido azul claro, desenho letra C	Positivo	Etilona, cafeína
30	Comprimido lilás, desenho átomo	Positivo	Etilona, teofilina
31	Comprimido amarelo, desenho diamante	Positivo	Etilona, clobenzorex, femproporex
32	Comprimido amarelo, desenho diamante	Positivo	Etilona, femproporex
33	Comprimido roxo, desenho coração	Positivo	Etilona, amido, cafeína
34	Comprimido verde, símbolo π	Positivo	2C-B, MDMA, celulose
35	Comprimido azul	Negativo	2C-B, celulose
36	Comprimido laranja, imagem borboleta	Positivo	Metilona, ketamina, cafeína
37	Comprimido cinza	Positivo	Metanfetamina, celulose
38	Comprimido bege	Positivo	Mefedrona, metanfetamina, cafeína, celulose
39	Comprimido verde	Positivo	Mefedrona, metanfetamina, cafeína, celulose
40	Comprimido verde	Positivo	Mefedrona, metanfetamina, cafeína, celulose
41	Comprimido verde	Positivo	Pseudoefedrina, cafeína
42	Comprimido bege	Positivo	Butilona, celulose
43	Comprimido vermelho, desenho "Smile"	Positivo	Anfetamina, celulose
44	Comprimido laranja	Positivo	Anfetamina, cafeína
45	Comprimido verde	Negativo	PV8*
46	Comprimido lilás	Positivo	4-fluoroanfetamina, celulose
47	Comprimido vermelho em forma de coração	Positivo	Dextrometorfano, cafeína
48	Comprimido branco e verde	Positivo	Brefedrona
49	Comprimido laranja	Negativo	Clobenzorex
50	Comprimido verde, desenho flor	Negativo	Clobenzorex, cafeína
51	Comprimido verde, desenho Y	Positivo	Clobenzorex, sildenafil, femproporex, lidocaína
52	Comprimido preto, desenho \$	Negativo	Clobenzorex, lidocaína, sildenafil
53	Comprimido roxo, desenho CK	Positivo	Clobenzorex, femproporex, lidocaína
54	Comprimido branco	Negativo	Clobenzorex, cafeína, celulose
55	Comprimido branco	Negativo	Clobenzorex, sibutramina, celulose
56	Comprimido verde	Positivo	Femproporex, sacarose
57	Comprimido branco	Negativo	Ketamina
58	Comprimido rosa claro, desenho flor	Negativo	Ketamina, clobenzorex, cafeína
59	Comprimido roxo	Positivo	Clobenzorex, femproporex, cafeína
60	Comprimido rosa	Negativo	Ketamina, clobenzorex, cafeína
61	Comprimido bege, desenho coelho	Negativo	TFMPP**, cafeína, celulose
62	Comprimido azul, desenho coração	Positivo	MPPP***, cafeína
63	Comprimido amarelo, desenho flor	Negativo	Cafeína
64	Comprimido vermelho	Positivo	Femproporex, amido
65	Comprimido laranja, formato Homer Simpson	Negativo	5-MeO-MiPT

* PV8: α -pirrolidinoheptiofenona; **TFMPP: trifluorometilfenilpiperazina; *** MPPP: 1-metil-4-fenil-4-propionoxipiperidina.

No presente estudo a imunocromatografia não apresentou taxas de resultados falso-positivos e falso-negativos para a cocaína, se mostrando altamente sensível, seletiva e confiável para análise dessa droga.

Para a maconha, a técnica se mostrou altamente seletiva. Porém, devido às características lipofílicas dos canabinóides, a taxa de resultados falso-negativos e consequentemente de sensibilidade foram menores que os resultados obtidos para a cocaína.

A alta taxa de falso-positivos para a MDMA ocorreu devido à detecção de outras substâncias análogas, principalmente para os derivados das fenetilaminas. Tal achado torna-se um ponto positivo no teste, tendo em vista que atualmente os comprimidos suspeitos de ecstasy têm apresentado uma variedade muito grande de novas substâncias psicoativas, o que dificulta a análise utilizando reagentes colorimétricos.

Nesse diapasão, a utilização da imunocromatografia para triagem de drogas de abuso no contexto da química forense torna-se promissora, principalmente na diminuição de resultados falsos negativos em casos de amostras de cocaína muito diluídas ou na presença de novas substâncias psicoativas sintéticas, que não a MDMA, no material apreendido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] M.S. Gomes. Contributo da Química Forense na Detecção de Drogas de Abuso. Dissertação de Mestrado, Departamento de Química e Bioquímica, Universidade de Lisboa, 2013.
- [2] W.R. Romão, N.V. Schwab, M.I.M.S. Bueno, R. Sparrapan, M.N. Eberlin, A. Martiny, B.D. Sabino, A.O. Maldaner. Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso. *Quím. Nova* **34(10)**, 1717-1728, 2011.
- [3] S.O.S. Cazenave, A.A.M. Chasin. Análises toxicológicas e a questão ética. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade* **2(2)**, 5-17, 2009.
- [4] S.A. Odo, A.C. Araujo, A.F. Santos, F.C.P. Toledo, M. Yonamine, O.A. Silva, M.C. Leite. Indications and limits for the toxicological analysis for psychoactive substances. *Rev. Psiquiatr. Clín.* **27(1)**, 50-56, 2000.
- [5] J.A. Velho, G.C. Geiser, A. Espindula. Ciências Forenses - uma Introdução às Principais Áreas da Criminalística Moderna. Millennium editora, 173-198, 2013.
- [6] A.A.M. Chasin. Toxicologia Analítica - Ciências farmacêuticas. Guanabara Koogan. Brasil, 70-75, 2001.
- [7] A.T. Bruni, J.A. Velho, M.F. Oliveira. Fundamentos de Química Forense – uma análise prática da química que soluciona crimes. Millennium editora, 18-31, 2012.
- [8] T.B. Aiello. Análise toxicológica forense: da ficção científica à realidade. *Revista Eletrônica de Biologia*, **4(3)**, 1-30, 2011.
- [9] United Nations. Rapid testing methods of drugs of abuse - manual for use by national law enforcement and narcotics laboratory personnel. New York, 1994.
- [10] A. Diehl. Screenings para álcool e drogas – Uma prova de confiança. Tratamentos Farmacológicos para Dependência Química – Da evidência científica à Prática Clínica, Artmed, 375-386, 2010.
- [11] R. Wenning, M.R. Moeller, J.M. Haguenoer, A. Marocchi, F. Zoppi, B.L. Smith, R. de la Torre, C.A. Carstensen, A. Goerlach-Graw, J. Schaeffler, R. Leinberger. Development and evaluation of immunochromatographic rapid tests for screening of cannabinoids, cocaine, and opiates in urine. *J. Anal. Toxicol.* **22(2)**, 148-155, 1998.
- [12] M.N. Hochmeister, B. Budowle, O. Rudin, C. Gehrig, U. Borer, M. Thali, R. Dirnhofer. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. *J. Forensic Sci.* **44(5)**, 1057-1060, 1999.
- [13] B.C. Pang, B.K. Cheung. Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. *Forensic Sci. Int.* **169(1)**, 27-31, 2007.
- [14] P. Longo, C.R. Dias Filho, M.P.O. Valadares, E.C. Alonso, S.P.S. Gonçalves, E. Auler-Bittencourt. Avaliação comparativa de teste imunocromatográfico para identificação forense de sangue humano. *Rev. Bras. Crimin.* **1(1)**, 16-21, 2011.
- [15] J.B. Old. Developmental validation of RSID-saliva: a lateral flow immunochromatographic strip test for the forensic detection of saliva. *J. Forensic Sci.* **54(4)**, 866-873, 2009.
- [16] P.O. Boehl. A utilização de imunoenaios na detecção de substâncias psicoativas. Trabalho de Conclusão de Curso, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.
- [17] C.Z. Gondim, R.G. Junqueira, S.V.C. Souza. Tendências em validação de métodos de ensaios qualitativos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **70(4)**, 433-447, 2011.
- [18] D.C. Bordin, M. Messias, R. Lanaro, S.O.S. Cazenave, J.L. Costa. Análise forense: pesquisa de drogas vegetais interferentes de testes colorimétricos para identificação dos canabinóides da maconha (*Cannabis Sativa* L.). *Quím. Nova* **35(10)**, 2040-2043, 2012.
- [19] A.O. Alves, B. Spaniol, R. Linden. Canabinoides sintéticos: drogas de abuso emergentes. *Rev. Psiquiatr. Clín.* **39(4)**, 142-148, 2012.
- [20] E.J. Magalhães, C.C. Nascentes, L.S. Pereira, M.L. Guedes, R.A. Lordeiro, L.M. Auler, R. Augusti, M.E. Queiroz. Evaluation of the composition of street cocaine seized in two regions of Brazil. *Sci. Justice* **53(4)**, 425-432, 2013.
- [21] A. Larocque, R.S. Hoffman. Levamisole in cocaine: unexpected news from an old acquaintance. *Clin. Toxicol. (Phila)* **50(4)**, 231-241, 2012.
- [22] S.F. Lapachinske, G.G. Okai, A. dos Santos, A.V. de Bairros, M. Yonamine. Analysis of cocaine and its adulterants in drugs for international trafficking seized by the Brazilian Federal Police. *Forensic Sci. Int.* **247**, 48-53, 2015.
- [23] A.R. Fukushima, V.M. Carvalho, D.G. Carvalho, E. Diaz, J.O. Bustillos, H.S. Spinosa, A.A. Chasin. Purity

and adulterant analysis of crack seizures in Brazil. *Forensic Sci. Int.* **243**, 95-98, 2014.

[24] M.Passagli. *Toxicologia Forense: Teoria e Prática*. Millennium Editora, 133-191, 2013.

[25] L.R. Togni, R. Lanaro, R.R. Resende, J.L. Costa. The variability of ecstasy tablets composition in Brazil. *J Forensic Sci.* **60(1)**, 147-151, 2015.

[26] United Nations Office on Drug and Crime. *Legal response to NPS: multiple approaches to a multi-faceted problem*, 2015.

[27] United Nations Office on Drug and Crime. *The challenge of new psychoactive substances*, 2013.