

Bílis como matriz alternativa ou complementar na análise de drogas de abuso e benzodiazepinas por imunoensaios. Estudo preliminar.

Pedro Dinis⁴, Paula V. Monsanto^{1,5}, Carla Mostra¹, Cláudia Margalho¹, Eugénia Frias¹, Jerónimo Fonte Santa³, Luís Mendes³, Ricardo Mendonça³, João Franco²

¹Serviço de Química e Toxicologia Forenses da Delegação do Centro (SQTF-DC) do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, INMLCF, I.P.

²Serviço de Química e Toxicologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, INMLCF, I.P.

³Serviço de Clínica e Patologia Forenses da Delegação do Centro (SCPF-DC) do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, INMLCF, I.P.

⁴Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

⁵Autor correspondente.

INTRODUÇÃO

A bílis é um fluido corporal que contribui para a purificação do fígado, sendo uma das vias de eliminação de xenobióticos e metabolitos que, uma vez presentes na bílis, são excretados nas fezes. Em situação *post-mortem* a bílis pode ser colhida através da punção direta na vesícula biliar e consequente aspiração. Esta matriz é considerada uma amostra alternativa valiosa, na medida em que pode apresentar valores elevados das substâncias presentes.

OBJETIVO

Verificar a viabilidade do uso de amostras de bílis nas análises de triagem de drogas de abuso e de benzodiazepinas por imunoensaios enzimáticos.

MATERIAL E MÉTODOS

A análise das amostras de bílis foi efetuada num equipamento semi-automático, *EVOLIS Twin Plus System* (Figura 1), seguindo os procedimentos de análise usados no Serviço de Química e Toxicologia Forenses para as amostras de sangue.

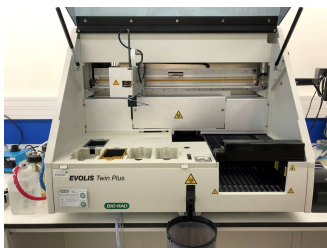


Figura 1. EVOLIS Twin Plus System.

Foram usados os testes para análise de opiáceos, metabolitos da cocaína, canabinóides, anfetaminas, metanfetaminas e benzodiazepinas da *OraSure Technologies, Inc.*. As amostras de bílis (200µl) foram diluídas com diluente forense numa proporção de 1:4. Paralelamente, nos casos possíveis, foi também analisada a amostra de sangue. Na avaliação dos resultados qualitativos sobre a presença ou ausência das substâncias a pesquisar foram usados os valores de *cut-off* em vigor para as amostras de sangue.

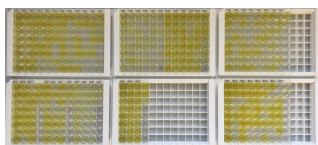


Figura 2. Placas de EIA após análise.

Posteriormente, realizou-se a confirmação por métodos mais sensíveis e precisos, como a cromatografia de gases associada à espectrometria de massa (GC/MS) e a cromatografia líquida associada à espectrometria de massa (LC/MS-MS). Foram analisados 37 casos: 28 com amostras de sangue e bílis; e 9 apenas com amostra de bílis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da técnica de imunoensaios enzimáticos (EIA) obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 1 na análise de drogas de abuso clássicas e benzodiazepinas.

Tabela 1. Resultados da análise de bílis por imunoensaios nos diferentes grupos de substâncias.

N=37	Positivo	Negativo
Opiáceos	12	25
Metabolitos da cocaína	32	5
Canabinóides	18	19
Anfetaminas	27	10
Metanfetaminas	5	32
Benzodiazepinas	24	13

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos por EIA em função das respetivas confirmações por GC/MS e/ou LC/MS-MS, de acordo com o painel atualmente em vigor no SQTF.

Tabela 2. Razão entre os resultados obtidos por imunoensaios e os resultados das respetivas confirmações.

	EIA negativo/ Confirmação negativa (%)	EIA positivo/ Confirmação negativa (%)	EIA positivo/ Confirmação positiva (%)
Opiáceos	100	50	50
Metabolitos da cocaína	100	85	15
Canabinóides	100	66	34
Anfetaminas	100	100	0
Metanfetaminas	100	100	0
Benzodiazepinas	100	23	77

Não foram identificados casos de falsos negativos por EIA em todos os grupos de substâncias. Nos ensaios de metabolitos da cocaína e de anfetaminas verificou-se um elevado número de casos positivos, muitos dos quais foram considerados falsos positivos após a confirmação por GC/MS.

Na Figura 3 é ilustrada a comparação dos resultados obtidos na análise simultânea das amostras de bílis e de sangue por EIA.

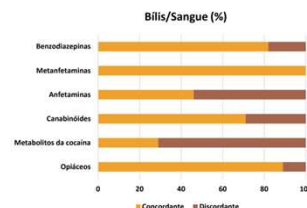


Figura 3. Concordância percentual dos resultados obtidos por imunoensaios entre as amostras de bílis e de sangue.

Apesar da difícil correlação entre a amostra de bílis e a de sangue, verificou-se uma boa taxa de resultados concordantes, mesmo sabendo que a bílis é uma amostra mais complexa e com alguns interferentes.

CONCLUSÃO

A amostra de bílis pode ser analisada por imunoensaios para a triagem de drogas de abuso e de benzodiazepinas. Não se detetou a presença de falsos negativos. Ainda que existam alguns falsos positivos nestes ensaios, a bílis é uma boa amostra alternativa ou complementar para a análise por EIA, na medida em que contribui para uma resposta mais rápida e menos onerosa. Será uma amostra a explorar em estudos futuros.