



## O uso de fluido oral para detecção de drogas com interesse forense

Ana Júlia Zanaki\*; Maria Júlia Miguel Bazaca\*; Juliana Aparecida Ferreira\*; Benedito Domingos Neto\*; Thalita Pedroni Formariz\*.

\*Universidade de Araraquara, UNIARA, Araraquara, São Paulo, Brasil.

\*Autor para correspondência e-mail: [bdneto@uniara.edu.br](mailto:bdneto@uniara.edu.br)

### Palavras-chave

Fluido oral  
Saliva  
Toxicologia forense  
Revisão

### Keywords

Oral fluid  
Saliva  
Toxicology forensic  
Review

**Resumo:** As análises toxicológicas forenses são valiosas ferramentas para o rastreamento e confirmação de substâncias de interesse forense em diferentes matrizes biológicas. As drogas de abuso representam um problema de saúde pública mundial, que podem resultar em acidentes e mortes. Convencionalmente, sangue e urina são as principais matrizes biológicas para realização das análises toxicológicas. O fluido oral (OF) é, hoje em dia, uma das matrizes biológicas alternativas mais comumente utilizadas para testes clínicos e forenses de drogas. Uma das características interessantes do OF é que a droga original é, frequentemente, a substância predominante detectada na amostra. Além da coleta ser simples e não invasiva. Diferentes métodos analíticos para detecção de drogas em amostras biológicas alternativas estão disponíveis. Esta revisão teve como objetivo resumir quais são as principais vantagens do uso de OF para detecção de drogas e mostrar os métodos analíticos mais empregados entre os anos de 2017 e 2022. Para isso, uma busca foi realizada nas bases de dados BVS, PubMed e Science Direct, que resultou em um total de 39 estudos incluídos nesta revisão. O reconhecimento de estudos de OF como uma matriz biológica eficiente e segura para detecção de diversas drogas, torna esta matriz cada vez mais importante nesse cenário. No entanto, os testes utilizando esta matriz biológica ainda são bem menores em comparação com o sangue e a urina.

### The use of oral fluid for drug detection with forensic interest

**Abstract:** Forensic toxicological analyzes are valuable tools for tracking and confirming substances of forensic interest in different biological matrices. Drugs of abuse represent a global public health problem, which can result in accidents and deaths. Conventionally, blood and urine are the main biological matrices for carrying out toxicological analyzes. Oral fluid (OF) is nowadays one of the most commonly used alternative biological matrices for clinical and forensic drug testing. One of the interesting features of OF is that the original drug is often the predominant substance detected in the sample. In addition to collection being simple and non-invasive. Different analytical methods for detecting drugs in alternative biological samples are available. This review aimed to summarize the main advantages of using OF for drug detection and show the most used analytical methods between the years 2017 and 2022. To this end, a search was carried out in the VHL, PubMed and Science databases. Direct, which resulted in a total of 39 studies included in this review. The recognition of OF studies as an efficient and safe biological matrix for the detection of various drugs makes this matrix increasingly important in this scenario. However, tests using this biological matrix are still much smaller compared to blood and urine.

Recebido em: 04/08/2023

Aprovação final em: 15/11/2023



## Introdução

A toxicologia forense, uma área especializada da toxicologia, que combina os procedimentos de química analítica e da toxicologia geral, apresenta relevante importância para o sistema de justiça criminal pois abrange os aspectos médico-legais do uso de substâncias químicas danosas aos seres humanos (SCHERER *et al.*, 2017). As análises toxicológicas forenses são valiosas ferramentas para o rastreamento e confirmação de substâncias de interesse forense em diferentes matrizes biológicas, sobretudo drogas de abuso, em casos de crimes, intoxicações e fiscalizações de vias públicas.

Estima-se que cerca de 5% da população adulta mundial usou drogas pelo menos uma vez em 2015 e cerca de 29,5 milhões de usuários podem ser classificados como portadores de transtornos por uso de drogas (UNODC, 2017). Além disso, o acesso a serviços especializados no tratamento desses transtornos ainda é limitado, contribuindo para o aumento da mortalidade e morbidade associada ao uso de drogas (UNODC, 2017). O uso de drogas clássicas de abuso se estabilizou em 2009, enquanto o de novas substâncias psicoativas (NPS) continuou crescendo (UNODC, 2013). As NPS, de acordo com o Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC), são moléculas desenvolvidas, em grande maioria, para fins ilícitos e com o objetivo de enganar as medidas nacionais e internacionais de controle às substâncias já controladas, das quais derivam ou mimetizam os efeitos. Estas substâncias apresentam efeitos similares aos de outras drogas, como Cannabis sp., cocaína, heroína, LSD, ecstasy ou metanfetamina (ANVISA, 2020). As NPS são um fenômeno global, uma vez que 135 países já reportaram ao UNODC o surgimento de ao menos uma dessas substâncias em seus territórios. De 2009 a janeiro de 2021, foi reportada a identificação de 1.124 substâncias, o que representa aparecimento médio de mais de uma substância nova por semana (ANVISA, 2020). O abuso de substâncias leva a problemas psicológicos, econômicos e sociológicos importantes para o indivíduo e para sociedade. As drogas de abuso representam um problema de saúde pública mundial, que podem resultar em acidentes e mortes (BASSOTTI *et al.*, 2020). É necessária uma abordagem abrangente para corrigir esse problema e os testes de drogas de abuso é uma parte importante dessa luta (AVCIOGLU *et al.*, 2021).

Muitas são as amostras de materiais biológicos que podem ser utilizadas para as análises em toxicologia forense, tais como sangue, urina, suor, humor vítreo, fluido oral, entre outras. Convencionalmente, sangue e urina são as principais matrizes biológicas para realização das análises toxicológicas (NICOLAOU *et al.*, 2021); no entanto, o uso de amostras alternativas tem se tornado cada vez mais importantes para toxicologia forense (PALMER; KRASOWSKI, 2019), principalmente por apresentarem determinadas vantagens, como o método de coleta facilitado, quando comparadas com as amostras convencionais (MOZANER BORDIN *et al.*, 2015). O fluido oral (OF) é considerado uma das principais matrizes alternativas para documentar o uso recente de drogas (DESROSIERS; HUESTIS, 2019).

Os métodos analíticos mais utilizados para detecção de drogas são a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e a cromatografia em fase líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) ou em tandem (LC-MS/MS) (MOZANER BORDIN *et al.*, 2015; RISOLUTI *et al.*, 2019). Estes métodos são considerados métodos oficiais de referência por, dentre outras razões, apresentarem maior sensibilidade e compatibilidade com as concentrações das substâncias de interesse detectadas nas diversas matrizes biológicas (MOZANER BORDIN *et al.*, 2015). O fluido oral é uma matriz alternativa muito útil em toxicologia forense e diferentes técnicas de medição analítica para amostras biológicas alternativas estão disponíveis (LANGEL *et al.*, 2014). Desta forma, esta revisão teve como principal objetivo trazer uma visão geral de quais são as principais vantagens do uso de fluido oral para detecção de drogas na toxicologia forense, bem como quais foram os métodos analíticos mais empregados entre os anos de 2017 e 2022.

## Fluido Oral e Análise Forense

Matrizes biológicas como ferramentas alternativas àquelas convencionais, como o sangue e a urina, para os testes de drogas têm sido cada vez mais exploradas, principalmente quando estas matrizes apresentam vantagens em relação às convencionais. Análises de matrizes alternativas



como os cabelos/pelos e o fluido oral já estão bem estabelecidas e implementadas por diversos laboratórios em testes de drogas (DE CAMPOS *et al.*, 2022), tendo o fluido oral recebido uma atenção considerável (NICOLAOU *et al.*, 2021). Esta matriz biológica consiste principalmente de saliva, que é uma solução aquosa produzida pelas glândulas salivares (glândulas submandibulares, sublinguais e parótidas) e composta majoritariamente por água (BUSARDÒ; JONES, 2019; MOZANER BORDIN *et al.*, 2015); outros constituintes menores desta matriz incluem transudato da mucosa oral, bactérias e células epiteliais (PALMER; KRASOWSKI, 2019).

Uma das características mais interessantes do fluido oral como amostra toxicológica é que a droga original é, frequentemente, a substância predominante detectada na amostra (SCHERER *et al.*, 2017). Além de ter uma melhor correlação com o sangue do que com a urina uma vez que o fluido oral é um ultrafiltrado natural do plasma (GORZIZA *et al.*, 2021). A quantificação de drogas no OF reflete sua concentração plasmática e os tempos de detecção são semelhantes aos do sangue (1-2 dias), enquanto a detecção na urina pode ser mais longa (CAO *et al.*, 2018). Devido ao tempo de detecção curto, o OF pode indicar uso recente de drogas ou o status atual de uso de drogas.

A fração livre da droga não ligada às proteínas do plasma pode ser transportada para saliva, o que é relevante a ser considerado quando as concentrações de drogas são comparadas com as concentrações no plasma (BUSARDÒ; JONES, 2019). O principal mecanismo de transferência de drogas do sangue para o OF é por difusão passiva (GORZIZA *et al.*, 2020). O transporte da droga para o fluido oral depende de propriedades físico-químicas da droga, que inclui peso molecular, constantes de dissociação (pKa), lipossolubilidade e capacidade de ligação a proteínas (GORZIZA *et al.*, 2020). Fatores que influenciam o pH do OF devem ser julgados como importantes para algumas drogas, dependendo do seu pKa (BUSARDÒ; JONES, 2019). Considerando o ambiente natural do OF (faixa de pH de 5,6 a 7,9), drogas de caráter básico, como anfetamina e cocaína, podem ser detectadas em concentrações mais altas em relação aquelas de caráter ácido, o que aumenta o valor do fluido oral como recurso para testes de drogas (GORZIZA *et al.*, 2020; MOZANER BORDIN *et al.*, 2015).

A coleta de fluido oral caracteriza-se pela vantagem de ser simples e não invasiva (BUENO *et al.*, 2014; GORZIZA *et al.*, 2021; NICOLAOU *et al.*, 2021; SCHERER *et al.*, 2017), assim elimina a necessidade de instalações sanitárias e possibilita a coleta em locais remotos. Pode ser observada mais de perto e não implica invasão de privacidade, o que limita a oportunidade de adulteração de amostras (BUENO *et al.*, 2014; NICOLAOU *et al.*, 2021; SCHERER *et al.*, 2017) e também a necessidade de coletores do mesmo gênero. Existem diferentes dispositivos disponíveis para coleta de fluido oral, que consistem de forma geral na inserção de um swab ou rolos de algodão na boca para extração do OF (MILLER; KIM; CONCEIRO, 2017). Um dos dispositivos disponíveis comercialmente mais utilizados é o Salivette®, que é constituído de um tubo coletor com tampa e um rolo de algodão (almofada) (MOZANER BORDIN *et al.*, 2015). A almofada é colocada na boca do indivíduo, que deve mastigar suavemente por cerca de 1 a 2 minutos, depois colocar no tubo. O fluido oral é absorvido pelo algodão e depois extraído por centrifugação. Esses dispositivos empregam diferentes tampões para conservar as amostras, melhorando a estabilidade dos compostos presentes na amostra de fluido oral e evitando o crescimento bacteriano (AMARATUNGA; LORENZ LEMBERG; LEMBERG, 2013).

Os testes de drogas utilizando fluido oral também apresentam algumas limitações. As concentrações de drogas são tipicamente mais baixas do que as encontradas na urina, por exemplo. O fluido oral pode ser contaminado por resíduos de alimentos ou bebidas ingeridas na cavidade oral; no caso de drogas que são fumadas, inaladas, insufladas ou tomadas por via oral, as concentrações serão maiores (BUENO *et al.*, 2014). Ao testar de forma quantitativa, isso pode ser um problema, pois as concentrações não se correlacionam bem com as concentrações sanguíneas. No entanto, ao realizar testes qualitativos, isso pode se apresentar como uma vantagem. Além disso, algumas pessoas, como aquelas que tomam medicamentos antiadrenérgicos e anticolinérgicos, sofrem de boca seca e são incapazes de produzir quantidades suficientes de OF para análise (BUSARDÒ; JONES, 2019). Nessas situações, o fluxo de fluido oral pode ser estimulado com uso de parafina e ácido cítrico por exemplo, para garantir um volume de amostra adequado (BUENO *et al.*, 2014), entretanto este uso pode reduzir a concentração da droga em relação a uma coleta não estimulada



(PUJADAS *et al.*, 2007).

O desenvolvimento de novos métodos analíticos e o avanço na coleta e preparo das amostras de OF, tornaram as análises de várias drogas de interesse forense mais sensíveis. Por isso, uma das principais aplicações predominantes do OF é seu uso no monitoramento de condutores no trânsito, verificação de usos de drogas nos locais de trabalho e monitoramento de drogas em programas de abuso de substâncias (MOZANER BORDIN *et al.*, 2015).

### Metodologia

Esta revisão foi realizada baseando-se nas declarações dos Principais Itens para Relatar Revisões Sistemáticas e Meta-análises de 2020 (PRISMA 20).

### Estratégia de busca

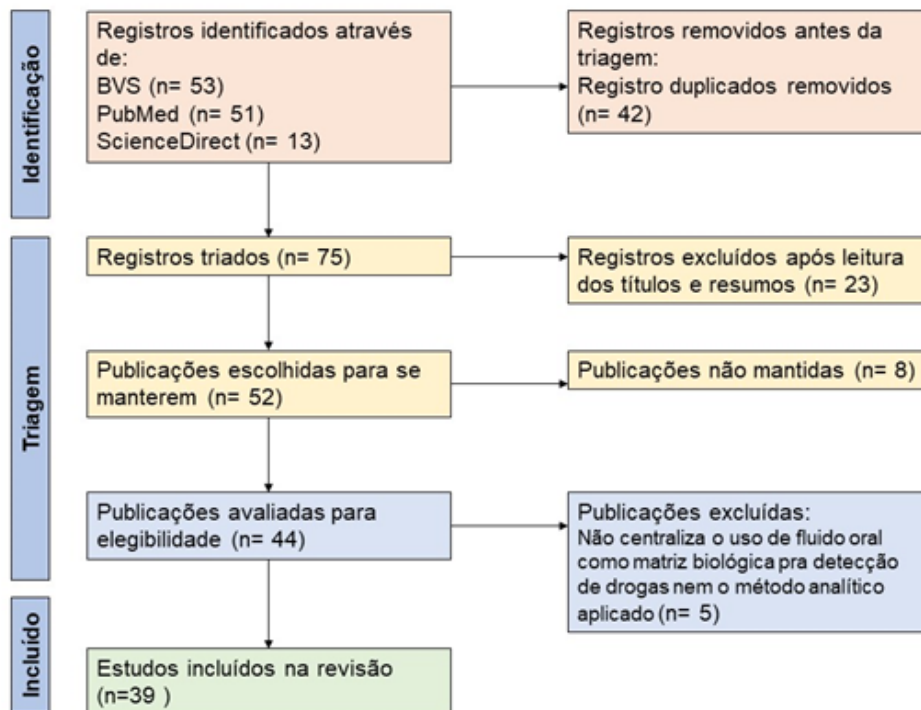
Os estudos foram identificados através de pesquisa nos seguintes bancos de dados: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), PubMed e Science Direct. A pesquisa incluiu como estratégia de busca palavras-chave e termos DeCS/MeSH ("Forensic Toxicology" AND Saliva AND "Oral Fluid") presentes em títulos e resumos. Não houve restrição de idiomas para os estudos. Além disso, foram considerados apenas artigos de pesquisa publicados entre os anos de 2017 e 2022.

### Extração de dados e critérios de elegibilidade

Os resultados dos bancos de dados foram importados para o Zotero, um gerenciador de referências e um software livre para gestão e compartilhamento de referências desenvolvido pela Universidade de George Mason, conforme o guia de Puckett (2011).

Como critério de seleção, foram considerados apenas artigos originais com texto completo. Os critérios de exclusão incluíram estudos de revisões, pesquisas qualitativas e aqueles estudos que não centralizassem o uso de fluido oral como matriz biológica para detecção de drogas nem o método analítico aplicado. A Figura 1 apresenta uma síntese do processo de busca e triagem dos estudos incluídos nesta revisão.

Figura 1 – Fluxograma do processo de seleção dos artigos desta revisão, adaptado das diretrizes PRISMA.



Fonte: Elaborado pelos autores, 2023.



## Resultados e Discussão

As novas substâncias psicoativas compreendem um grupo complexo e diverso que surgiram no mercado global de drogas ilícitas nos últimos anos. O aumento do consumo de NPS tornam urgente o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis e seletivos para a detecção desses compostos em matrizes biológicas. A detecção de drogas no fluido oral é um indicador de uso recente de drogas ou ainda que o sujeito está sob a influência de drogas. Já existem relatos de menores taxas de recusa de coleta para testes de drogas em indivíduos suspeitos de abuso de drogas (GJERDE *et al.*, 2015).

Deve-se considerar que o fluido oral, enquanto uma matriz biológica não convencional, pode ser uma alternativa segura ao sangue e a urina em estudos e investigações forenses de abuso de substâncias. Os métodos analíticos mais utilizados nas análises de toxicologia forense são a GC-MS e a LC-MS/MS. Neste contexto, nos últimos anos tem crescido a importância de se desenvolver e aprimorar métodos analíticos para detecção e quantificação de drogas de abuso em fluido oral. O Quadro 1 apresenta quais foram os métodos utilizados nos estudos incluídos neste artigo.

**Quadro 1** – Métodos analíticos empregados para detecção de drogas (analitos) em fluido oral utilizados pelos estudos incluídos nesta revisão.

Referência	Analito (s)	Método
ARES <i>et al.</i> (2017)in combination with a sample pretreatment based on microextraction by packed sorbent (MEPS)	Catinonas, Opiáceos, Cocaína e Escopolamina	UPLC-MS/MS
ARES-FUENTES <i>et al.</i> (2022)	Fentanil	GC-MS
AVCIOGLU <i>et al.</i> (2021)	Cannabis, Opiáceos, Anfetamina, Metanfetaminas, MDMA, Cocaína e Benzodiazepinas	LC-MS/MS
AXELSSON <i>et al.</i> (2022) <sup>34</sup> (mitragynine, flualprazolam, 3F/4F- $\alpha$ -P(i	NPS	LC-HRMS
BAHMANABADI <i>et al.</i> (2017)	Metanfetamina	GC-MS
BASSOTTI <i>et al.</i> (2020)in a single chromatographic run, was developed and validated. Cocaine, benzoylecgonine (BEG	Cocaína, BEG, THC, 6AM, morfina, codeína, meradona, EDDP, MDMA, MDA, MDE, MBDB	LC-MS/MS
CAO <i>et al.</i> (2018)	Meperdina e normeperidina	GC-MS
CHEN <i>et al.</i> (2018)	Selegilina, R-metanfetamina, R-anfetamina e desmetilselegilina	LC-MS/MS
CHINAGLIA <i>et al.</i> (2022)the analog ethylphenidate and their metabolite ritalinic acid in oral fluid, using micro-QuEChERS extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS	Metilfenidato, etilfenidato e ácido retalínico	LC-MS/MS
DESHARNAIS <i>et al.</i> (2020)	Cocaína, benzoilecgonina, anfetaminas, benzodiazepinas, THC e outros	LC-MS/MS
FENG <i>et al.</i> (2017)selective and sensitive LC-MS-MS method with a post-column addition of acetonitrile was developed and fully validated for the quantitative determination of zolpidem and its major metabolite, zolpidem phenyl-4-carboxylic acid (ZPCA	Zolpidem e ZPCA	LC-MS/MS
FENG <i>et al.</i> (2019)	Zolpidem e ZPCA	LC-MS/MS

**Quadro 1 – Métodos analíticos empregados para detecção de drogas (analitos) em fluido oral utilizados pelos estudos incluídos nesta revisão (cont.).**

FERNÁNDEZ <i>et al.</i> (2019) and their consumption constitutes a significant risk to public health and road safety. The development of an analytical methodology to confirm the intake of illicit drugs in biological fluids is required for an effective control of these substances. An ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method (UPLC-MS/MS	Morfina, metilona, escopolamina, butilona, cocaína e outros	UPLC-MS/MS
GERACE <i>et al.</i> (2021)	CBD e THC	UHPLC-MS
GORZIZA <i>et al.</i> (2020)	Anfetamina, metanfetamina, cetamina, benzoilecgonina e mitraginina	LC-MS/MS
GRUMANN <i>et al.</i> (2019)	3-FPM	LC-ESI-MS/MS
JACQUES; SANTOS; LIMBERGER (2019)	Cocaína, benzoilecgonina, cocaetileno, anfetamina e MDMA	LC-MS
KAHL <i>et al.</i> (2021) methamphetamine, ecstasy (MDMA	Anfetaminas, metanfetaminas, MDMA, MDE e MDA	LC-MS/MS
KROTULSKI <i>et al.</i> (2018a)	Dibutilona e butilona	LC-MS/MS
KROTULSKI <i>et al.</i> (2018b)	Efilona	LC-MS/MS LC-QTOF
KROTULSKI <i>et al.</i> (2018c)	MDMA e NPS	LC-MS/MS LC-QTOF
LA MAIDA <i>et al.</i> (2020)	Canabinóides sintéticos (JWH-122, JWH-210 e UR-144)	GC-MS UHPLC-MS
LIUT <i>et al.</i> (2022)	THC, codeína, dihidrocodeína, benzodiazepinas, metadona e EDDP	GC-MS LC-MS/MS
LIN <i>et al.</i> (2022) including (-	$\Delta 8$ -THC, THC, CBD, $\Delta 9$ -THCA- A, CBDA, 11-OH- $\Delta 9$ - THC, $\Delta 9$ -THCCOOH, THCV, CBDV, CBD-C1, CBC, CBN e CBG	HPLC-MS/MS
LOOD <i>et al.</i> (2018)	Testosterona	GC-MS
MARCHEI <i>et al.</i> (2020)	Morfina, codeína, 6-MAM, cocaína, benzoilecgonina, THC, CBD, anfetamina, MDMA, cetamina, 4-MMC e 5F-APINACA	UHPLC-MS/MS
MILLER; KIM; CONCEIRO (2017)	Catinona, metacatinona, bufedrona, mefedrona, 4-metilecatinona, MDPV, metilona, nafirona, PVP e N-etilcatinona	UHPLC-MS/MS
PACIFICI <i>et al.</i> (2018) some manufacturers started producing and selling "light cannabis": dried flowering tops containing the psychoactive principle $\Delta$ -9-tetrahydrocannabinol (THC	THC e CBD	GC-MS
PALMQUIST; SWORTWOOD (2019)	Análogos de fentanil (fentanil, alfentanil, acetil fentanil, butiril fentanil, remifentanil, carfentanil, cis-3-metilfentanil, 4-ANPP, furanil fentanil, isobutiril fentanil, norcarfentanil, valeril fentanil, norfentanil e sufentanil	LC-QTOF-MS
PALMQUIST; SWORTWOOD (2021)	Análogos de fentanil	LC-QTOF-MS
PASCALI <i>et al.</i> (2022) synthetic cannabinoid receptor agonists (SCRA	Canabinóides sintéticos (JWH019, JWH081, JWH122, JWH200, JWH250, AM2201, HU211, UR144, CP47497-C7, CP47497-C8)	LC-MS/MS



**Quadro 1 – Métodos analíticos empregados para detecção de drogas (analitos) em fluido oral utilizados pelos estudos incluídos nesta revisão (cont.).**

REISINGER <i>et al.</i> (2019)	THC, Alprazolam, anfetamina, diazepam, fentanil, metanfetamina, morfina, metadona e outros	LC-MS/MS
RISOLUTI <i>et al.</i> (2019) the use of non-destructive and easy-to-use analytical techniques deserves remarkable attention, especially in those situations involving public health and security. In addition, the miniaturization and portability of one-touch devices for the detection of specific threats is required more and more. In this study, a novel on-site MicroNIR/Chemometric platform was developed to perform a real-time prediction of cocaine and its metabolites in non pre-treated oral fluid. Simulated oral fluids were prepared in water in order to calibrate the instrumental response and the matrix effect was consequently evaluated by processing spiked oral fluids collected from volunteers. The procedure was optimized using a proper experimental design taking into account the equilibrium between cocaine and benzoylecgonine in the range 10-100 ng-ml and validated by comparing results with the reference official method (GC-MS)	Cocaína e benzoilecgonina	GC-MS
RUBIO <i>et al.</i> (2019b)	Cocaína, benzoilecgonina, cocaetileno, éster metílico de ecgonina, éster metílico de anidroecgonina, tropococaína, transcinamoilcocaína, cuscohigrina e higrina	HPLC-MS/MS
RUBIO <i>et al.</i> (2019a)	Cocaína, benzoilecgonina, éster metílico de ecgonina, tropococaína, transcinamoilcocaína, cuscohigrina e higrina	HPLC-MS/MS
SMITH; SWORTWOOD, (2022)	Metilfenidato, etilfenidato, lisdexanfetamina e anfetamina	LC-MS/MS
SOARES <i>et al.</i> (2021)	fluoxetina, venlafaxina, Odesmetilvenlafaxina, citalopram, sertralina e paroxetina	GC-MS/MS
TRUVER; PALMQUIST; SWORTWOOD, (2019) drugs are detected more frequently in fatally injured drivers than alcohol. Due to the variety of drugs (prescribed and/or illicit)	THC, opiáceos, anfetamina, cocaína, metanfetamina, metadona, fenciclidina, benzodiazepinas e oxicodona	LC-QTOF/MS
VINCENTI <i>et al.</i> (2021)	Fentanil e metabólitos	LC-HRMS/MS

Fonte: Elaborado pelos autores, 2023.

Dirigir sob a influência de drogas (DUID) é razão para preocupação em todo o mundo. Portanto, há uma necessidade constante de testes de triagem de uso de drogas no local que sejam confiáveis para identificar motoristas sob efeito de substâncias durante fiscalizações nas estradas. Alguns testes imunoquímicos de triagem para detecção de drogas em fluido oral estão disponíveis no mercado comercial, contudo apresentam resultados controversos. O estudo de Avcioglu *et al.* (2021) avaliou o desempenho de um dispositivo imunoquímico (Kite Biotechnology), que teve um bom desempenho para opióides, cocaína e anfetaminas porque, segundo os autores, atendem aos critérios para avaliar DUID, que é apresentar sensibilidade maior que 80%. Para metanfetamina/MDMA, o dispositivo de teste de triagem OF não teve bom desempenho, considerando a sensibilidade de 66,7%, e não pôde detectar benzodiazepínicos e Cannabis. Um outro estudo (LIUT *et al.*, 2022) avaliou o desempenho de RapidSTAT® e DrugWipe®, dois testes imunoquímicos de triagem de OF, e concluíram que nenhum



dos dispositivos de teste atingiu os critérios estabelecidos pelo estudo ROSITA-1 (sensibilidade e especificidade superior a 90% com uma precisão superior a 95%) para todas as substâncias analisadas neste estudo.

Diante desse cenário, diversos trabalhos publicados se propuseram a desenvolver métodos analíticos mais sensíveis e seguros de detecção de drogas de abuso clássicas e/ou novas substâncias psicoativas em fluido oral para contribuir com a identificação de indivíduos sob o efeito de drogas em fiscalizações de vias públicas de trânsito e/ou local de trabalho (ARES *et al.*, 2017; ARES-FUENTES *et al.*, 2022, p.; BAHMANABADI *et al.*, 2017; BASSOTTI *et al.*, 2020; DESHARNAIS *et al.*, 2020; FENG *et al.*, 2017, 2019; FERNÁNDEZ *et al.*, 2019; GERACE *et al.*, 2021; PALMQUIST; SWORTWOOD, 2019, 2021; RISOLUTI *et al.*, 2019; RUBIO *et al.*, 2019a, 2019b; TRUVER; PALMQUIST; SWORTWOOD, 2019; VINCENTI *et al.*, 2021).

Dada a complexidade que envolve o uso de drogas, a superação do abuso de substâncias e a dependência química exige a combinação de diferentes intervenções direcionadas conforme o perfil e a necessidade de cada indivíduo. Programas de tratamento de drogas, clínicas de reabilitação, laboratórios forenses e até mesmo clínicos se utilizam de testes de drogas como uma das ferramentas de intervenção para identificar o uso de drogas e monitoramento. Trabalhos como os de Axelsson *et al.* (2022); Chen *et al.* (2019); Chinaglia *et al.* (2022); Kahl *et al.* (2021); Krotulski *et al.* (2018); Lin *et al.* (2022); Pacifici *et al.* (2018); Pascali *et al.* (2022) descrevem métodos analíticos de detecção de drogas em OF que podem ser úteis nesses casos.

Estudar e compreender o caminho percorrido por substâncias no organismo, desde a sua administração, absorção, distribuição e metabolismo, até a sua excreção; medir os perfis de concentrações de uma droga e seus metabólitos são importantes para se obter dados farmacocinéticos da droga em questão. Trabalhos utilizando métodos analíticos de detecção de drogas em fluidos oral para este tipo de contribuição científica foram publicados recentemente (CAO *et al.*, 2018; GRUMANN *et al.*, 2019; KROTULSKI *et al.*, 2018a, 2018b; LA MAIDA *et al.*, 2020).

Alguns medicamentos têm sido cada vez mais prescritos nos últimos anos, como os medicamentos para depressão e transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH). Para que o monitoramento do uso dessas medicações seja possível – e também porque se verifica o uso e abuso excessivo dessas drogas, culminando em casos clínicos e forenses de overdose acidental ou voluntária – é de extrema importância que metodologias analíticas sejam desenvolvidas e disponibilizadas para a identificação dessas medicações e seus metabólitos em fluidos biológicos. Os estudos de Soares *et al.* (2021) e Smith e Swortwood (2022) descrevem métodos analíticos usando fluido oral para detecção de antidepressivos e estimulantes cognitivos, respectivamente.

A terapia de reposição de testosterona a longo prazo é monitorada principalmente por níveis mínimos de testosterona no sangue, enquanto a testosterona urinária é usada pela toxicologia forense para avaliar o doping de testosterona. A testosterona na saliva pode fornecer informações adicionais para estes casos ou ainda ser uma alternativa simples. Lood *et al.* (2018) sugerem que a testosterona na saliva tem potencial para ser um biomarcador útil na avaliação da terapia de reposição de testosterona, oferecendo uma amostragem fácil e não invasiva e também pode adicionar informações à urina sobre os níveis circulantes de testosterona no uso não médico de testosterona em casos forenses.

A estabilidade da droga no fluido oral é um fator crucial na interpretação da análise toxicológica forense, principalmente porque as amostras podem não ser analisadas imediatamente após a coleta, podendo alterar as concentrações da droga. A estabilidade da droga no OF depende das condições de armazenamento, que incluem tampões estabilizadores/preservativos e temperatura. Os resultados dos estudos de Marchei *et al.* (2020) e Miller; Kim e Concheiro (2017) demonstraram que, se não forem analisadas imediatamente, as amostras de OF devem ser armazenadas e transportadas em temperatura refrigerada (4 a 20°C). O trabalho ainda de Marchei *et al.* (2020) complementa sugerindo que se isso não for possível, as amostras podem ser estabilizadas com tampão conservante (M3 Reagent Buffer®) e armazenadas em temperatura ambiente por até 2 semanas, ou de 4 a 20°C por até um ano.





O papel filtro pode reter os principais componentes de uma matriz biológica, permitindo a fácil extração do analito alvo. Esta técnica apresenta muitas vantagens, como fácil transporte, pequeno volume de amostra, melhor estabilidade do analito. Um método que permite a análise em manchas de fluido oral seco (MFOS) pode ser uma boa alternativa para a preparação de amostra tradicional comumente usada para detectar ou quantificar substâncias abusadas em análises toxicológicas, economizando custos e tempo. O grupo de Jacques; Santos e Limberger (2019) e de Gorziza *et al.* (2020) avaliaram a eficácia de MFOS utilizando métodos analíticos para o isolamento e quantificação de um conjunto de drogas de interesse para toxicologia forense e clínica e concluíram que esta matriz pode ser também satisfatória para detecção de uso recente de drogas.

Historicamente, as análises toxicológicas forenses post mortem sistemáticas têm se baseado na análise de múltiplas matrizes tradicionais, como sangue, urina, bile e amostras de fígado. O estudo de Reisinger *et al.* (2019) indicou que a utilização de OF da cavidade oral em toxicologia post mortem foi adequada e prática em comparação com amostras biológicas convencionais, particularmente em cadáveres em decomposição, onde o número de amostras viáveis é limitado.

### Conclusão

O fluido oral tem muitas vantagens sobre outras amostras biológicas convencionais, pois a coleta de amostras é fácil e menos invasiva à privacidade do doador, evitando manipulação e adulteração da amostra devido à supervisão direta, além de oferecer informações sobre abuso recente de droga. Se trata de uma amostra realmente útil quando é necessária uma resposta qualitativa e também para medições quantitativas, particularmente por haver uma correlação estável com os níveis plasmáticos de diversas drogas.

O reconhecimento de estudos de OF como uma matriz biológica eficiente e segura para detecção de diversas drogas, torna esta matriz cada vez mais importante nesse cenário. Dado isso, o fluido oral está progressivamente sendo mais utilizado para testes de drogas de abuso em laboratórios de toxicologia forense e em outros ambientes, incluindo clínicas de reabilitação de drogas, locais de trabalho, fiscalizações de trânsito e outros locais onde há evidências de abuso de drogas. O OF também se mostrou uma matriz biológica funcional para detecção de testosterona em casos de doping ou reposição hormonal, como também foi uma amostra promissora para toxicologia *post mortem*. No entanto, os testes utilizando esta matriz biológica ainda são bem menores em comparação com o sangue e a urina.

Apesar do avanço de métodos analíticos recentes, as técnicas mais prevalentes na toxicologia forense para identificação de substâncias continuam sendo a GC-MS e a LC-MS/MS.

Podemos concluir que estudos adicionais são necessários antes de considerar a introdução de OF como padrão ouro para uso clínico e forense na toxicologia, incluindo avaliação de faixas de referência das principais drogas de abuso já relatadas.

### Referências

AMARATUNGA, P.; LORENZ LEMBERG, B.; LEMBERG, D. Quantitative Measurement of Synthetic Cathinones in Oral Fluid. *Journal of Analytical Toxicology*, v. 37, n. 9, p. 622–628, 1 nov. 2013.

ANVISA. **Novas Substâncias Psicoativas (NSP)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/novas-substancias/novas-substancias>>. Acesso em: 19 nov. 2022.

ARES, A. M. *et al.* A fast bioanalytical method based on microextraction by packed sorbent and UP-LC-MS/MS for determining new psychoactive substances in oral fluid. *Talanta*, v. 174, p. 454–461, 1 nov. 2017.

ARES-FUENTES, A. M. *et al.* Determination of synthetic opioids in oral fluid samples using fabric phase sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*.



A, v. 1663, p. 462768, 25 jan. 2022.

AVCIOGLU, G. *et al.* Evaluation of the diagnostic performance of an oral fluid screening test device for substance abuse at traffic controls. **Clinical Biochemistry**, v. 93, p. 112–118, 1 jul. 2021.

AXELSSON, M. A. B. *et al.* Retrospective identification of new psychoactive substances in patient samples submitted for clinical drug analysis. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 131, n. 5, p. 420–434, nov. 2022.

BAHMANABADI, L. *et al.* Quantitative determination of methamphetamine in oral fluid by liquid-liquid extraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Hum Exp Toxicol**, p. 195–202, 2017.

BASSOTTI, E. *et al.* A new LC-MS/MS confirmation method for the determination of 17 drugs of abuse in oral fluid and its application to real samples. **Forensic Science International**, v. 312, p. 110330, jul. 2020.

BUENO, L. H. P. *et al.* Oral fluid as an alternative matrix to determine ethanol for forensic purposes. **Forensic Science International**, v. 242, p. 117–122, 1 set. 2014.

BUSARDÒ, F. P.; JONES, A. W. Interpreting  $\gamma$ -hydroxybutyrate concentrations for clinical and forensic purposes. **Clinical Toxicology (Philadelphia, Pa.)**, v. 57, n. 3, p. 149–163, mar. 2019.

CAO, J. *et al.* Pharmacokinetics of meperidine (pethidine) in rabbit oral fluid: correlation with plasma concentrations after controlled administration. **Die Pharmazie**, v. 73, n. 6, p. 324–328, 1 jun. 2018.

CHEN, H. *et al.* Alcohol consumption or contamination: A preliminary study on the determination of the ethanol origin by stable carbon isotope analysis. **Forensic Sci Int**, p. 374–380, 2018.

CHEN, L. *et al.* Pharmacokinetics of selegiline, R-methamphetamine, R-amphetamine, and desmethyleselegiline in oral fluid after a single oral administration of selegiline. **Drug Testing and Analysis**, v. 11, n. 6, p. 898–905, jun. 2019.

CHINAGLIA, K. DE O. *et al.* Development of analytical method for the determination of methylphenidate, the analog ethylphenidate and their metabolite ritalinic acid in oral fluid samples by micro-QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1205, p. 123330, 1 ago. 2022.

CONCHEIRO, M. *et al.* Determination of MDMA, MDA, MDEA and MBDB in oral fluid using high performance liquid chromatography with native fluorescence detection. **Forensic Science International, Detection of Drugs in Oral Fluid**. v. 150, n. 2, p. 221–226, 10 jun. 2005.

CONCHEIRO, M.; SHAKLEYA, D. M.; HUESTIS, M. A. Simultaneous analysis of buprenorphine, methadone, cocaine, opiates and nicotine metabolites in sweat by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 400, n. 1, p. 69–78, abr. 2011.

DAMS, R. *et al.* Oral fluid as an alternative matrix to monitor opiate and cocaine use in substance-abuse treatment patients. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 87, n. 2, p. 258–267, 16 mar. 2007.

DE CAMPOS, E. G. *et al.* Alternative matrices in forensic toxicology: a critical review. **Forensic Toxicology**, v. 40, n. 1, p. 1–18, 1 jan. 2022.

DESHARNAIS, B. *et al.* A threshold LC-MS/MS method for 92 analytes in oral fluid collected with the



Quantisal® device. **Forensic Science International**, v. 317, p. 110506, dez. 2020.

DESROSIERS, N. A.; HUESTIS, M. A. Oral Fluid Drug Testing: Analytical Approaches, Issues and Interpretation of Results. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 43, n. 6, p. 415–443, 24 jul. 2019.

FENG, X. *et al.* LC-MS-MS with Post-Column Reagent Addition for the Determination of Zolpidem and its Metabolite Zolpidem Phenyl-4-carboxylic Acid in Oral Fluid after a Single Dose. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 41, n. 9, p. 735–743, 1 nov. 2017.

FENG, X. *et al.* Zolpidem and zolpidem phenyl-4-carboxylic acid pharmacokinetics in oral fluid after a single dose. **Drug Testing and Analysis**, v. 11, n. 7, p. 1076–1082, jul. 2019.

FERNÁNDEZ, P. *et al.* Simultaneous determination of 20 drugs of abuse in oral fluid using ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 1, p. 193–203, jan. 2019.

GERACE, E. *et al.* Determination of cannabinoids in urine, oral fluid and hair samples after repeated intake of CBD-rich cannabis by smoking. **Forensic Science International**, v. 318, p. 110561, 1 jan. 2021.

GJERDE, H. *et al.* Detection of illicit drugs in oral fluid from drivers as biomarker for drugs in blood. **Forensic Science International**, v. 256, p. 42–45, nov. 2015.

GORZIZA, R. *et al.* Extraction of dried oral fluid spots (DOFS) for the identification of drugs of abuse using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Forensic Chemistry**, v. 19, p. 100254, 1 jun. 2020.

GORZIZA, R. P. *et al.* A systematic review of quantitative analysis of cannabinoids in oral fluid. **Journal of Forensic Sciences**, v. 66, n. 6, p. 2104–2112, 2021.

GRUMANN, C. *et al.* Method validation and preliminary pharmacokinetic studies on the new designer stimulant 3-fluorophenmetrazine (3-FPM). **Drug Testing and Analysis**, v. 11, n. 7, p. 1009–1017, jul. 2019.

JACQUES, A. L. B.; SANTOS, M. K. D.; LIMBERGER, R. P. Development and Validation of a Method Using Dried Oral Fluid Spot to Determine Drugs of Abuse. **Journal of Forensic Sciences**, v. 64, n. 6, p. 1906–1912, nov. 2019.

KAHL, J. M. M. *et al.* Quantification of amphetamine and derivatives in oral fluid by dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 196, p. 113928, 20 mar. 2021.

KROTULSKI, A. J. *et al.* Dibutylone (bk-DMBDB): Intoxications, Quantitative Confirmations and Metabolism in Authentic Biological Specimens. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 42, n. 7, p. 437–445, 1 set. 2018a.

KROTULSKI, A. J. *et al.* N-Ethyl Pentylone (Ephylone) Intoxications: Quantitative Confirmation and Metabolite Identification in Authentic Human Biological Specimens. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 42, n. 7, p. 467–475, 1 set. 2018b.

KROTULSKI, A. J. *et al.* The Detection of Novel Stimulants in Oral Fluid from Users Reporting Ecstasy, Molly and MDMA Ingestion. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 42, n. 8, p. 544–553, 1 out. 2018c.

LA MAIDA, N. *et al.* Determination of the Synthetic Cannabinoids JWH-122, JWH-210, UR-144 in Oral



Fluid of Consumers by GC-MS and Quantification of Parent Compounds and Metabolites by UH-PLC-MS/MS. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. E9414, 10 dez. 2020.

LANGEL, K. *et al.* Comparison of drug concentrations between whole blood and oral fluid. **Drug Testing and Analysis**, v. 6, n. 5, p. 461–471, 2014.

LIN, L. *et al.* Quantitation of  $\Delta^8$ -THC,  $\Delta^9$ -THC, Cannabidiol and 10 Other Cannabinoids and Metabolites in Oral Fluid by HPLC-MS-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 46, n. 1, p. 76–88, 14 fev. 2022.

LIUT, J. *et al.* Evaluation of RapidSTAT<sup>®</sup>, DrugWipe<sup>®</sup> 6S, DrugScreen<sup>®</sup> 5TK and DrugScreen<sup>®</sup> 7TR for on-site drug testing in German police roadside traffic patrol. **Drug Testing and Analysis**, v. 14, n. 8, p. 1407–1416, ago. 2022.

LOOD, Y. *et al.* Relationship between testosterone in serum, saliva and urine during treatment with intramuscular testosterone undecanoate in gender dysphoria and male hypogonadism. **Andrology**, p. 86–93, 2018.

MARCHEI, E. *et al.* Stability and Degradation Pathways of Different Psychoactive Drugs in Neat and in Buffered Oral Fluid. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 570–579, 31 jul. 2020.

MILLER, B.; KIM, J.; CONCHEIRO, M. Stability of synthetic cathinones in oral fluid samples. **Forensic Science International**, Special Issue on the 54th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT) Brisbane from August 28 to September 1, 2016. v. 274, p. 13–21, 1 maio 2017.

MORTIER, K. A. *et al.* Simultaneous, quantitative determination of opiates, amphetamines, cocaine and benzoylecgonine in oral fluid by liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 779, n. 2, p. 321–330, 5 nov. 2002.

MOZANER BORDIN, D. *et al.* Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. **Scientia Chromatographica**, v. 7, p. 125–143, 1 jan. 2015.

NICOLAOU, A. G. *et al.* Analysis of cannabinoids in conventional and alternative biological matrices by liquid chromatography: Applications and challenges. **Journal of Chromatography. A**, v. 1651, p. 462277, 16 ago. 2021.

PACIFICI, R. *et al.* Determination of cannabinoids in oral fluid and urine of “light cannabis” consumers: a pilot study. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 57, n. 2, p. 238–243, 19 dez. 2018.

PALMER, K. L.; KRASOWSKI, M. D. Alternate Matrices: Meconium, Cord Tissue, Hair, and Oral Fluid. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v. 1872, p. 191–197, 2019.

PALMQUIST, K. B.; SWORTWOOD, M. J. Data-independent screening method for 14 fentanyl analogs in whole blood and oral fluid using LC-QTOF-MS. **Forensic Science International**, v. 297, p. 189–197, abr. 2019.

PALMQUIST, K. B.; SWORTWOOD, M. J. Quantification of fentanyl analogs in oral fluid using LC-QTOF-MS. **Journal of Forensic Sciences**, v. 66, n. 5, p. 1871–1878, 2021.

PASCALI, J. P. *et al.* Oral fluid analysis to monitor recent exposure to synthetic cannabinoids in a high-risk subpopulation. **Journal of Forensic Sciences**, v. 67, n. 5, p. 1932–1937, set. 2022.



PUCKETT, J. **Zotero: A Guide for Librarians, Researchers and Educators**. 1st edition ed. Chicago: Assoc of College & Research Libraries, 2011.

PUJADAS, M. *et al.* A simple and reliable procedure for the determination of psychoactive drugs in oral fluid by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Hyphenated Techniques in Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2006. v. 44, n. 2, p. 594–601, 28 jun. 2007.

REISINGER, A. J. *et al.* Oral Cavity Fluid as an Investigative Approach for Qualitative and Quantitative Evaluations of Drugs in Postmortem Subjects. **J Anal Toxicol**, p. 444–451, 2019.

RISOLUTI, R. *et al.* Miniaturized analytical platform for cocaine detection in oral fluids by MicroNIR/ Chemometrics. **Talanta**, v. 202, p. 546–553, 1 set. 2019.

RUBIO, N. C. *et al.* Perfil de alcaloides de la hoja de coca en el fluido oral de un mascarador de hoja de coca y un bebedor de té de coca: Estudio preliminar. **Acta toxicol. argent**, p. 72–80, 2019a.

RUBIO, N. C. *et al.* Development of a Reliable Method for Assessing Coca Alkaloids in Oral Fluid by HPLC-MS-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 43, n. 3, p. 196–202, 1 abr. 2019b.

SCHERER, J. N. *et al.* Reliability of point-of-collection testing devices for drugs of abuse in oral fluid: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 143, p. 77–85, 5 set. 2017.

SMITH, C. R.; SWORTWOOD, M. J. Analysis of methylphenidate, ethylphenidate, lisdexamfetamine, and amphetamine in oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Forensic Sciences**, v. 67, n. 2, p. 669–675, mar. 2022.

SOARES, S. *et al.* New Method for the Monitoring of Antidepressants in Oral Fluid Using Dried Spot Sampling. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 14, n. 12, p. 1284, 8 dez. 2021.

TRUVER, M. T.; PALMQUIST, K. B.; SWORTWOOD, M. J. Oral Fluid and Drug Impairment: Pairing Toxicology with Drug Recognition Expert Observations. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 43, n. 8, p. 637–643, 10 set. 2019.

UNODC, U. N. O. ON D. AND C. **World drug report 2013 :New Psychoactive Substances: Concepts and Definitions**. Vienna, Austria: [s.n.].

UNODC, U. N. O. ON D. AND C. **World drug report 2017: Global Overview of Drug Demand and Supply**. Vienna, Austria: [s.n.].

VINCENTI, F. *et al.* Simultaneous Quantification of 25 Fentanyl Derivatives and Metabolites in Oral Fluid by Means of Microextraction on Packed Sorbent and LC-HRMS/MS Analysis. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 26, n. 19, p. 5870, 28 set. 2021.

YONAMINE, M. *et al.* Solid-phase micro-extraction–gas chromatography–mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol, amphetamine, methamphetamine, cocaine and ethanol in saliva samples. **Journal of Chromatography B**, 40th Annual International Meeting of The International Association of Forensic Toxicologists. v. 789, n. 1, p. 73–78, 5 jun. 2003.