

Sara Sofia Martins Aires

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Determinação de Álcool Etilico num Serviço de Química e Toxicologia Forenses” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Sara Brandão Bento, da Dra. Carla Monteiro e da Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Capa construída a partir de:

Northwestern Medicine. – How Alcohol Impacts the Brain. [Consultado em agosto de 2018]. Disponível em: <http://www.nmbreakthroughs.org/health-library/alcohol-and-the-brain>

SILVA, J. – “Operação Baco” da GNR. CentroNotícias: Maio de 2018. [Consultado em agosto de 2018]. Disponível em: <https://www.centronoticias.pt/2018/05/14/operacao-baco-da-gnr/>

RESTEK. – A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC. USA, 2000.

[Consultado em agosto de 2018]. Disponível em: <http://www.restek.com/>

Imagens provenientes do Google Images. [Consultadas em agosto de 2018]. Disponíveis em:

<https://goo.gl/images/ZBjSLu>

<https://goo.gl/images/VQAHjd>

<https://goo.gl/images/wvhUYT>

Sara Sofia Martins Aires

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Determinação de Álcool Etílico num Serviço de Química e Toxicologia Forenses” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Sara Brandão Bento, da Dra. Carla Monteiro e da Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2018

Eu, Sara Sofia Martins Aires, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2013131751, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Determinação de Álcool Etílico num Serviço de Química e Toxicologia Forense” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 5 de setembro de 2018.



(Sara Sofia Martins Aires)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa, por toda a disponibilidade, compreensão e ajuda proporcionada na realização da monografia e pelo à vontade com que sempre me recebeu.

À Coordenadora de Estágios Curriculares, Professora Doutora Isabel Vitória pela oportunidade de abraçar um novo desafio.

Ao Professor Doutor Francisco Corte Real e ao Dr. João Miguel Franco pela oportunidade de realizar o estágio curricular no Serviço de Química e Toxicologia Forenses da Delegação Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. À Professora Doutora Helena Teixeira por toda a disponibilidade demonstrada e contributo para a realização da monografia.

À Dr.^a Sara Brandão Bento, diretora técnica da Farmácia Tavares de Castro e minha orientadora do estágio em farmácia comunitária, pela oportunidade de estágio e pela transmissão de conhecimentos de carácter técnico e ético. Aos restantes membros da equipa: Dr.^a Dora Rodrigues, Dr.^a Ana Lagoa, Dr.^a Patrícia Moderno, ao Sr. Joaquim, Dr.^a Stephanie Malta, Dr.^a Jennifer Coelho e Filipa Barqueiro por toda a ajuda, ensinamentos generosamente transmitidos e por me integrarem na equipa.

À Dr.^a Carla Monteiro, Especialista Superior de Medicina Legal e minha orientadora de estágio no Serviço de Química e Toxicologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P., por toda a confiança depositada em mim, por toda a ajuda e disponibilidade para a realização da monografia e por todos os conhecimentos transmitidos, que foram essenciais à minha formação. A todos os colaboradores do Serviço de Química e Toxicologia Forenses Delegação Centro pela disponibilidade e orientação no laboratório, nomeadamente à D. Alda Claro.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pela formação académica e ética.

Aos meus pais, por me transmitirem valores como a humildade, generosidade, empenho, à minha irmã e ao meu namorado, pelo apoio incondicional.

Aos meus amigos, que adquiri ao longo deste percurso e aos de longa data, agradeço toda a ajuda, amizade e companheirismo que sempre tiveram para comigo.

A todos, um grande bem-haja!

ÍNDICE

CAPÍTULO I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

ABREVIATURAS.....	5
INTRODUÇÃO.....	6
FARMÁCIA TAVARES DE CASTRO.....	7
ANÁLISE SWOT	8
FORÇAS.....	8
FRAQUEZAS.....	11
OPORTUNIDADES.....	12
AMEAÇAS.....	14
CONCLUSÃO	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
ANEXO 1	18
ANEXO 2	19
ANEXO 3	20
ANEXO 4	21

CAPÍTULO II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO NO SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES DO INMLCF, I.P.

ABREVIATURAS.....	23
INTRODUÇÃO.....	24
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA LEGAL E CIÊNCIAS FORENSES I.P.....	25
ORGANIZAÇÃO INTERNA.....	25
SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES.....	26
ANÁLISE SWOT	28
FORÇAS.....	28
FRAQUEZAS.....	32
OPORTUNIDADES.....	33
AMEAÇAS.....	35
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXO 1	39
ANEXO 2.....	40

CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO DE ÁLCOOL ETÍLICO NUM SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES

ABREVIATURAS.....	42
RESUMO.....	43
ABSTRACT.....	44
INTRODUÇÃO AO ÁLCOOL: PERSPETIVA HISTÓRICA, EPIDEMIOLOGIA E DEFINIÇÕES.....	45
PARTE I – PROPRIEDADES DO ETANOL ENQUANTO SUBSTÂNCIA.....	47
1. CARATERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO ETANOL.....	47
2. TOXICOCINÉTICA.....	47
2.1. Absorção.....	47
2.2. Distribuição.....	47
2.3. Metabolismo.....	48
2.4. Excreção.....	49
3. TOXICODINÂMICA.....	50
3.1. Sistema Nervoso Central.....	50
PARTE II – DETERMINAÇÃO DE ETANOL NUM CONTEXTO FORENSE.....	52
4. ÂMBITO DA DETERMINAÇÃO.....	52
4.1. Avaliação do estado de influenciado pelo álcool no indivíduo vivo.....	52
4.1.1. Condução rodoviária.....	52
4.1.1.1. Determinação de etanol no ar expirado.....	53
4.1.1.2. Determinação de etanol no sangue.....	53
4.1.2. Determinação de etanol no âmbito da Atividade laboral.....	54
4.1.3. Determinação de etanol no âmbito da atividade pericial da Unidade Funcional de Clínica Forense do INMLCF, I.P.....	55
4.1.4. Tipos de amostra.....	55
4.2. Determinação de etanol em cadáver.....	56
4.2.1. Morte violenta ou de causa ignorada.....	56
4.2.2. Acidentes rodoviários fatais.....	57
4.2.3. Acidentes fatais de trabalho.....	57
4.2.4. Tipos de amostra.....	57
4.2.4.1. Sangue periférico.....	57
4.2.4.2. Humor vítreo.....	58
5. PROCEDIMENTO ANALÍTICO NUM SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES.....	58

5.1. Receção das amostras	59
5.2. Avaliação da cadeia de custódia	59
5.3. Armazenamento e conservação	59
5.4. Metodologia analítica	60
5.4.1. Preparação da amostra.....	61
5.4.2. Injeção da amostra.....	62
5.4.2.1. <i>Headspace</i>	62
5.4.3. Controlo de qualidade interno	62
5.4.3.1. Calibração.....	62
5.4.3.2. Controlos e branco de reagentes.....	63
5.4.3.3. Apresentação de resultados.....	64
CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXO 1	71
ANEXO 2.....	72
ANEXO 3.....	73
ANEXO 4.....	74
ANEXO 5.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interior da Farmácia Tavares de Castro	7
Figura 2. Folha de Aceitação de Resultados de Etanol do SQTF-C	32
Figura 3. Fórmula estrutural, molecular e tridimensional do etanol	48
Figura 4. Possíveis vias de metabolização do etanol.....	49
Figura 5. Diagrama do equilíbrio dos compostos voláteis entre as fases gasosa e líquida no <i>headspace vial</i>	63

CAPÍTULO I
RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA
COMUNITÁRIA

ABREVIATURAS

ANF	Associação Nacional de Farmácias
CCF	Centro de Conferência de Faturas
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

INTRODUÇÃO

As farmácias desempenham um papel muito importante no sistema de saúde, funcionando em articulação com os cuidados de saúde primários e constituindo o último ponto de contacto do utente com o sistema de saúde. Contudo, o utente recorre primeiramente à farmácia e ao farmacêutico, constituindo, muitas vezes, o primeiro e único ponto de contacto do utente com o sistema de saúde.

O farmacêutico exerce uma atividade de saúde com foco no utente de extrema responsabilidade, que exige uma contínua procura de conhecimento para fazer face aos desafios que surgem diariamente numa farmácia comunitária. Conseguiu conquistar relevância na área da saúde com a introdução dos cuidados farmacêuticos, agora é chegado o momento de procurar reinventar-se e adaptar-se às necessidades crescentes da profissão.

Consciente da importância e relevância da farmácia comunitária e do farmacêutico comunitário, escolhi a Farmácia Tavares de Castro para a realização do estágio curricular, pois aqui identifiquei características, aquando do estágio de verão, que considero essenciais para exercer uma atividade de saúde e de interesse público¹.

O presente relatório tem por objetivo fazer um balanço dos quatro meses de estágio em farmácia comunitária, identificando os aspetos que considero uma mais-valia para o meu estágio e que me proporcionaram experiências muito positivas, que designo por forças, e os aspetos que não tive oportunidade de desenvolver tanto quanto outros e/ou em que senti dificuldades, designados fraquezas. Identifico, ainda, situações que surgiram de forma a desenvolver capacidades e adquirir conhecimentos (oportunidades) e situações que me colocaram à prova e fizeram com que procurasse soluções, permitindo que desenvolvesse a capacidade de decisão e resiliência (ameaças).

Início o relatório com uma pequena introdução relativa à Farmácia Tavares de Castro, seguindo-se o balanço do estágio curricular propriamente dito através de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), que reúne as forças, as fraquezas, as oportunidades e as ameaças identificadas no decorrer do estágio. Ao longo da análise apresento situações que considero integrantes dos conhecimentos teóricos que haviam sido adquiridos ao longo da formação académica e que designo por “casos clínicos”.

FARMÁCIA TAVARES DE CASTRO

A Farmácia Tavares de Castro foi fundada por Salvador Tavares de Castro, farmacêutico natural de São Pedro de Castelões, concelho de Vale de Cambra. Reza a lenda que Salvador iniciou a atividade da farmácia em Oliveira do Bairro com um saco cheio de medicamentos que havia trazido em cima de um burro. O primeiro alvará, atribuído por despacho real, data de 1735 e desde então tem passado de geração em geração até aos dias de hoje, nunca tendo saído da alçada da família Tavares de Castro. Em 1965, foi atribuído novo alvará (3280), que corresponde ao atual.

Mais do que a antiguidade, é, sem dúvida, a imagem de confiança e a proximidade com os utentes que melhor caracteriza a Farmácia Tavares de Castro, fruto de uma direção técnica excelente, assente na motivação e respeito pelos colaboradores, na organização, na boa comunicação com outros profissionais de saúde e no profissionalismo e empenho de toda a equipa.

De modo a proporcionar um serviço contínuo aos utentes, a Farmácia Tavares de Castro assegura, para além do horário alargado (9 às 21 horas), um serviço de disponibilidade (atendimento por chamada), presente em Decreto-Lei n.º 53/2007 de 8 de março do Ministério da Saúde, que dita que “A farmácia de turno de regime de disponibilidade tem de assegurar que um farmacêutico ou um auxiliar legalmente habilitado está disponível para atender o público que o solicite, em caso de urgência.”². O serviço de disponibilidade não traz qualquer vantagem económica à farmácia, contudo, é sem dúvida uma mais-valia para os utentes.



Figura 1. Interior da Farmácia Tavares de Castro.

ANÁLISE SWOT

Forças

Localização central e próxima de serviços

A Farmácia Tavares de Castro localiza-se no centro da cidade de Oliveira do Bairro, estando próxima de serviços como os CTT, bancos, câmara municipal, centro de saúde, clínicas privadas, entre outros, pelo que a localização é claramente um ponto forte desta farmácia. Apesar de ser uma farmácia de grande proximidade com os utentes, sendo a maioria dos mesmos fidelizados, a sua localização torna-a, também, num local de passagem para quem necessita de usufruir dos serviços da cidade e para quem nela trabalha, aumentando o número de potenciais utentes. Adicionalmente, possui local de estacionamento, um aspeto relevante para os utentes.

A localização da Farmácia Tavares de Castro possibilitou o contacto com dois tipos de utentes: os utentes fidelizados e os utentes de passagem (não fidelizados). A interação com os utentes fidelizados permitiu que identificasse erros de prescrição, tendo por base o histórico de vendas e a ficha do utente, que realizasse um aconselhamento de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) mais correto, pois conseguia ter conhecimento da medicação habitual do utente e assim escolher o medicamento mais indicado, situação evidenciada pelo caso clínico I (Anexo I). O facto de conhecermos os utentes e as suas patologias permite-nos fornecer um aconselhamento personalizado e ajustado a cada um deles. Os utentes de passagem procuravam, maioritariamente, aconselhamento para situações agudas, pondo à prova os meus conhecimentos e fragilidades e possibilitando o desenvolvimento de competências de comunicação, isto é, ter a capacidade de colocar as questões certas para obter informações relevantes para o aconselhamento, que de outra forma não conseguiria obter pois não possuía registos daquele utente.

Conjuntura e organização da Farmácia Tavares de Castro

A conjuntura económica da Farmácia Tavares de Castro permite que haja facilidade na aquisição de medicamentos e outros produtos de saúde e rapidez na entrega dos mesmos, trabalhando com vários fornecedores e laboratórios. Deste modo, a farmácia consegue satisfazer as necessidades dos utentes prontamente, o que é extremamente importante para a satisfação do utente e possível fidelização. De igual modo, a organização de todo o *back office*, a boa gestão de *stocks* e a delegação e distribuição de funções pela equipa contribui para o bom funcionamento geral da Farmácia Tavares de Castro e contribuiu, juntamente com a facilidade de aquisição e rapidez na entrega de medicamentos, para que aprendesse boas práticas de trabalho numa farmácia comunitária.

Integração na equipa

A fase de integração foi relativamente fácil, pois tive o privilégio de integrar uma equipa forte, constituída por 8 profissionais excelentes, com percursos académicos distintos e, portanto, todos muito diferentes, dirigidos pela Dr.^a Sara Brandão Bento, que incentiva e promove a formação contínua dos colaboradores através da inscrição e promoção de formações na farmácia e formações externas. Cada um com a sua área de eleição, desde a dermocosmética à veterinária, prontamente se disponibilizaram a partilhar comigo o seu conhecimento. Depositaram, em mim, toda a confiança desde o início do estágio, o que foi determinante para a minha evolução e autoconfiança, de tal modo que me incluíram num projeto que tinham em mãos na altura. Dotada de uma excelente ética profissional, a equipa da Farmácia Tavares de Castro mostrou-me o verdadeiro papel do farmacêutico na comunidade e as suas principais responsabilidades, sendo a primeira e principal responsabilidade do farmacêutico para com a saúde e o bem-estar do doente e do cidadão em geral, devendo pôr o bem dos indivíduos à frente dos seus interesses pessoais ou comerciais e promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança³. Portanto, o foco da equipa é o aconselhamento ao utente e não apenas as vendas, e este é, sem dúvida, o principal ensinamento que levo do meu estágio curricular em farmácia comunitária.

Planificação do estágio

A fase inicial do estágio consistiu em lembrar a importância e o objetivo das atividades desenvolvidas na farmácia, assim como o seu modo de funcionamento, principalmente a receção de encomendas e o armazenamento, pois já havia desempenhado estas funções no estágio de verão realizado nesta mesma farmácia. Considero uma mais valia a realização de estágios de verão, pois esse primeiro contacto com uma farmácia e com as atividades nela desenvolvidas foi preponderante na minha formação, tendo adquirido conhecimentos que me foram muito úteis para a realização do estágio curricular, facilitando a minha integração e permitindo que despendesse mais tempo na realização de outras atividades em que me sentia menos preparada, nomeadamente o atendimento. Nesta primeira fase, realizei, sobretudo, atividades de *back office*, como a receção de encomendas, armazenamento, reposição de *stock*, controlo dos prazos de validade e organização de lineares, para me familiarizar com os medicamentos e produtos de saúde existentes na Farmácia Tavares de Castro e com os nomes comerciais. Realizei, ainda, medições da pressão arterial, determinações da glicémia capilar, colesterol total e triglicéridos, bem como, o registo dos valores obtidos.

Numa segunda fase, iniciei o atendimento a utentes com prescrição médica, realizei encomendas instantâneas e encomendas via verde, assisti ao aconselhamento farmacêutico por parte da equipa da Farmácia Tavares de Castro e fui, simultaneamente, iniciando o aconselhamento e respetivas medidas não farmacológicas a utentes sem prescrição médica. Iniciei, ainda, a preparação de medicamentos manipulados, ainda que em raras ocasiões.

Numa terceira fase, fiquei encarregue de realizar a faturação do mês de março e envio de receitas para a Associação Nacional de Farmácias (ANF), isto é, conferir as receitas manuais e materializadas, que já havia sido conferida no momento do atendimento de forma muito sumária, carimbar, datar e assinar as receitas, assim como agrupar em lotes para posterior envio para o Centro de Conferencia de Faturas (CCF), de forma a que seja efetuado o pagamento da comparticipação do Estado no preço de venda ao público dos medicamentos dispensados a beneficiários do Serviço Nacional de Saúde (SNS) e de subsistemas públicos que sejam da responsabilidade do SNS, ou que beneficiem de comparticipação em regime de complementaridade⁵. Realizei, ainda, encomendas diárias tendo em conta os *stocks* mínimos e máximos, de acordo com as necessidades dos utentes e de acordo com as vendas de medicamentos e outros produtos de saúde, de forma autónoma. Portanto, considero que, no decorrer do meu estágio curricular, fui desempenhando as diversas atividades realizadas numa farmácia comunitária de forma gradual, à medida que ia adquirindo capacidades para as desempenhar.

Serviços realizados

A possibilidade de as farmácias prestarem serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes¹, veio aumentar a proximidade entre estes e as farmácias, uma relação benéfica para ambos, pois, por um lado, os utentes usufruem dos serviços, por outro, as farmácias têm a oportunidade de acompanhar os utentes. Os serviços farmacêuticos prestados pela Farmácia Tavares de Castro incluem a utilização de meios auxiliares de diagnóstico e terapêutica⁶, isto é, medição da pressão arterial, determinação da glicémia capilar, colesterol total e triglicéridos, teste de gravidez, e a colaboração em programas de educação para a saúde. São determinações bastante solicitadas e que me deram a oportunidade de realizar uma vertente de acompanhamento do utente, pois a maioria realizava medições periodicamente.

Formação académica

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) foi concebido com vista a abranger as mais diversas áreas em que o farmacêutico está habilitado a trabalhar. Deste modo, o aluno é detentor de uma variedade de conhecimentos teóricos de forma a poder

exercer a profissão de farmacêutico em qualquer que seja a área escolhida. Em farmácia comunitária, concretamente, senti que os conhecimentos que detinha ao nível da Farmacologia, principalmente de medicamentos para as patologias mais comuns, como a Diabetes *Mellitus* e hipertensão, foi extremamente útil e que estava, maioritariamente, consolidada, pelo que saliento a importância da formação académica como instrumento de entrega de conhecimento teórico para aplicação num contexto de prática profissional.

Formação contínua

Desde logo, tive a oportunidade de participar em formações promovidas pelos laboratórios farmacêuticos, quer externas (realizadas fora da farmácia), quer internas (realizadas na farmácia) que contribuíram em muito para alargar o meu conhecimento nas mais diversas áreas, entre elas a dor muscular (Voltaren®), produtos ortopédicos, contraceção de emergência (EllaOne®), dermocosmética (Barral BabyProtect®), suplementação (MentalAction®, Bioactivo®).

SIFARMA 2000®

O SIFARMA 2000® é o *software* mais usado pelas farmácias em Portugal e reveste-se de extrema importância nos processos de gestão e atendimento⁷, pois permite gerir *stocks*, validades, receituário, encomendas, entre outros, gera alertas de interação entre medicamentos e fornece informação científica aquando do atendimento, uma ferramenta que foi bastante útil para o esclarecimento de eventuais dúvidas que iam surgindo no decorrer do estágio. Considero o SIFARMA 2000® um *software* bastante intuitivo, pois após o período de adaptação tornou-se relativamente fácil a sua utilização. Outro aspeto do *software* que considero extremamente importante, até para evitar erros de dispensa, o facto de existir uma etapa de confirmação da medicação cedida durante o atendimento (Anexo 2).

Fraquezas

Dermocosmética

A grande maioria dos utentes da Farmácia Tavares de Castro não procura produtos cosméticos e de higiene corporal na farmácia, talvez por classificarem a dermocosmética como algo acessório, algo que não é essencial para a sua saúde. Alegam, ainda, preços altos, comparativamente aos produtos dos supermercados e revistas de cosmética. Estes são alguns dos motivos que levam a que esta área não seja muito desenvolvida na Farmácia Tavares de Castro. Ainda que não me tenham solicitado muitos produtos de dermocosmética, senti que tinha um conhecimento muito limitado nesta área para conseguir realizar um aconselhamento correto.

Suplementos alimentares

Os suplementos alimentares são bastante solicitados na Farmácia Tavares de Castro e vendidos quer por indicação farmacêutica, quer por prescrição médica. Os utentes solicitaram, diversas vezes, multivitamínicos, suplementos para a fadiga física e mental, entre tantos outros, solicitação para a qual senti muitas dificuldades em dar resposta, pois considero que a minha formação académica incidiu muito levemente na área da suplementação, por esse motivo, a classifico como uma debilidade da minha formação. É uma área que considero que deveria ser mais explorada no MICEF, porque os utentes procuram estes produtos e considero que devemos saber dar resposta a esta necessidade dos utentes, caso contrário estes deixam de procurar aconselhamento na farmácia relativamente à suplementação.

Veterinários

Detetei que existe uma preocupação crescente com os animais domésticos que poderá ser explorada na farmácia comunitária. Também o facto de a Farmácia Tavares de Castro se situar num meio rural faz com que exista maior procura por produtos e medicamentos para animais que se destinam à alimentação, situação que me pôs à prova até pelas expressões que os utentes utilizam para descrever as situações de doença dos animais. Esta foi outra das áreas em que me senti pouco preparada e para a qual penso que o plano de estudos deveria incluir mais informação relativa aos medicamentos de uso veterinário, como por exemplo os desparasitantes internos.

Oportunidades

Ações de sensibilização junto da população

As ações de sensibilização e promoção da saúde junto da população são um dever geral do farmacêutico, preconizado no artigo 9º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos³, e constam dos serviços farmacêuticos que poderão ser prestados pela farmácia¹, pelo que são de importância comprovada para a farmácia e para o utente. Para além de promoverem a saúde da população, as ações de sensibilização acabam por divulgar os produtos existentes na farmácia e até aumentar a procura por estes.

VALORMED - Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos, Lda.

A Farmácia Tavares de Castro participou no projeto de sensibilização “Um dia com a VALORMED” junto das crianças do 1º ciclo do Ensino Básico do concelho de Oliveira do Bairro, com o objetivo de incentivar a correta separação e entrega de resíduos de medicamentos fora de uso e respetivas embalagens na farmácia. Projeto no qual tive uma

participação ativa, evidenciada no Anexo 3, tendo realizado apresentações em 8 escolas do concelho relativas à missão e objetivos do VALORMED, quais os resíduos a depositar no contentor de recolha, qual o destino final dos resíduos e, principalmente, fazer com que transmitissem os conhecimentos que adquiriram na apresentação aos familiares. Foi uma atividade que me permitiu desenvolver capacidades de comunicação com um público muito jovem e que permitiu que exercesse uma outra vertente da profissão farmacêutica que é a promoção da saúde junto da população. Foi, sem dúvida, uma das atividades que desempenhei no estágio que mais satisfação me deu, sobretudo, quando percebi que consegui transmitir a mensagem, como é possível constatar através do Anexo 4.

Aplicação dos conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico

O plano curricular do MICF contempla um conjunto de unidades curriculares vocacionadas para a farmácia comunitária, como a Intervenção Farmacêutica em Autocuidados de Saúde, a Farmacoterapia, entre outras, que considero de extrema importância e que transmite aos alunos uma série de conhecimentos teóricos, com o objetivo de serem transpostos para a prática profissional no estágio e no futuro. Quando confrontada com diversas situações de aconselhamento, senti que tinha os conhecimentos necessários e tinha agora a oportunidade de os aplicar, a dificuldade estava na adequação a cada utente e a cada situação. Contudo, a componente prática relativa à farmácia comunitária no curso é reduzida. Considero que seria proveitoso implementar aulas de simulação de atendimento, em que se constrói um *role-play*, que certamente iriam proporcionar maior à vontade no atendimento e, chegada a altura de aconselhar, poderemos escolher a opção mais adequada a cada situação e a cada utente. Embora não existam duas situações de atendimento iguais, creio que estas aulas iriam preparar melhor os futuros farmacêuticos.

Comunicação com outros profissionais de saúde

Na minha opinião, a comunicação entre profissionais de saúde traz um enorme benefício para o utente, pelo que deve ser incentivada em qualquer estabelecimento de saúde. Por diversas vezes, senti necessidade de contactar com um médico ou enfermeiro para esclarecer dúvidas relativas a determinado tratamento ou receituário. Penso que foi uma experiência muito positiva, de colaboração entre diferentes profissionais de saúde, centrada no utente.

Desenvolvimento de capacidades de comunicação

Questionar o utente com vista a obter informações relevantes para uma correta intervenção farmacêutica reveste-se de extrema importância no aconselhamento⁸. Considero que esta capacidade se vai adquirindo com a prática profissional e o estágio curricular fornece uma primeira abordagem, em contexto real, ao aconselhamento. Assim, destaco a importância do estágio curricular no desenvolvimento da capacidade de comunicação, isto é, colocar as questões certas, adequar o discurso a cada utente e transmitir as informações mais importantes de forma a que retenham o máximo de informação possível.

Também a capacidade de persuasão foi desenvolvida, sobretudo, quando os utentes solicitam medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) sem a respetiva receita médica. A solicitação de MSRM é uma constante na farmácia comunitária, no entanto, a Farmácia Tavares de Castro definiu uma estratégia de forma a evitar estas situações e tentar encontrar sempre uma alternativa com vista à satisfação do utente.

Heterogeneidade de utentes

Apesar de os utentes habituais da Farmácia Tavares de Castro serem, maioritariamente, idosos, verifiquei que passam pela farmácia um pouco de todas as faixas etárias, existindo alguma heterogeneidade de utentes que considero uma oportunidade para contactar com diferentes necessidades e situações de aconselhamento. Portanto, contactei com uma população heterogénea, com faixas etárias distintas e diferentes condições socioeconómicas naturalmente com necessidades distintas e, conseqüentemente, situações de aconselhamento muito diversas, desde afeções cutâneas, como a dermatite de contacto, micoses, a constipações, suplementos para perda de peso, entre muitas outras situações.

Ameaças

Venda de MNSRM e outros produtos de saúde fora das farmácias

Com o Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto do Ministério da Saúde⁹, os MNSRM passam a ser vendidos ao público fora das farmácias em locais sujeitos a registo prévio no INFARMED, o que se revelou uma ameaça para as farmácias no geral e para o farmacêutico, pois estas deixam de ter a hegemonia do mercado dos MNSRM e os utentes passam a ter acesso a estes medicamentos sem o aconselhamento de um farmacêutico. Uma ameaça que se faz sentir sobretudo na dermocosmética e alguns MNSRM devido à proximidade entre os locais de venda de MNSRM e a Farmácia Tavares de Castro. Contudo, observei que a maioria dos utentes continua a optar pelo aconselhamento farmacêutico na compra de medicamentos em detrimento dos restantes pontos de venda de MNSRM, o que vai de

encontro aos dados apresentados pelo INFARMED referentes ao ano de 2017: a venda de MNSRM fora das farmácias representa apenas cerca de 20% em volume do total de mercado destes medicamentos, sendo que uma percentagem significativa (80%) continua a ser vendida nas farmácias¹⁰, o que é indicativo da confiança que os utentes depositam nos farmacêuticos e da qualidade do aconselhamento prestado nas farmácias.

Períodos de grande afluência de utentes

Para realizar um correto aconselhamento, considero que o utente deve dispor de tempo e privacidade para ouvir as indicações do farmacêutico e colocar as questões que achar conveniente. Nos períodos de grande afluência de utentes, torna-se difícil dar a devida atenção a cada um deles e ter a privacidade necessária para falar com o utente e este apresentar as suas dúvidas.

Diferentes tipos de receituário e sistemas de participação

Atualmente, a prescrição de medicamentos realiza-se obrigatoriamente por denominação comum internacional (DCI) da substância ativa através de duas vias: a via eletrónica (materializada e desmaterializada) e a via manual⁴. Portanto, existem 3 modelos de receituário em vigor, o que se torna confuso, na minha opinião e, paralelamente ao Sistema Nacional de Saúde, existem uma série de subsistemas de saúde, criados pelos vários ministérios, empresas bancárias, seguradoras e outras instituições, para prestação de cuidados de saúde aos seus trabalhadores ou associados. O número elevado destes subsistemas de participação, que desconhecia, foi uma dificuldade acrescida ao atendimento, principalmente nas receitas manuais em que era necessário introduzir o código correspondente ao subsistema, e todo um procedimento diferente do habitual para as receitas do SNS. Contudo, com o decorrer do estágio, a ajuda de toda a equipa da Farmácia Tavares de Castro e estando em contacto com estes modelos de receita médica, consegui superar esta dificuldade inicial.

Insegurança no atendimento

Os primeiros aconselhamentos que realizei ficaram marcados pela insegurança que senti, talvez pelo facto de nunca ter tido a oportunidade de contactar com utentes numa situação profissional, pelo que não havia adquirido desenvoltura suficiente para este contacto. No entanto, com o decorrer do estágio e através da confiança que toda a equipa depositou em mim para a realização de tarefas de forma autónoma, fator que considero importante na minha evolução, consegui superar esta dificuldade inicial, ganhar confiança nas minhas capacidades e confiar nos meus conhecimentos.

CONCLUSÃO

Constatai que uma farmácia comunitária ultrapassa em muito a mera designação de “estabelecimento de saúde”, pois é um local de reencontros, convívios e desabafos, é um local a que os utentes recorrem para procurar soluções para os seus problemas de saúde e, muitas vezes, apenas porque sabem que está alguém lá simplesmente para os ouvir. O farmacêutico, como agente de saúde³, desempenha um papel vital na farmácia comunitária, na medida em que zela pela saúde do utente e promove a saúde de um modo geral. Ser farmacêutico comunitário é extremamente gratificante, pois sentimos o carinho dos utentes e a confiança que depositam em nós, mas é também uma grande responsabilidade.

Volto a salientar a importância do estágio curricular para o ingresso na atividade profissional, pois é uma forma de aplicar os conhecimentos teóricos na prática profissional e, neste sentido, reconheço o mérito do MICEF na preparação do aluno para o seu futuro profissional.

Concluindo, o balanço que faço do estágio na Farmácia Tavares de Castro é claramente positivo, pois tive a oportunidade de desempenhar uma grande parte das atividades realizadas numa farmácia comunitária à medida que estas iam surgindo. Sinto que tive uma evolução progressiva ao longo do estágio curricular e que adquiri conhecimentos e ensinamentos de grande valor, não só técnico, como ético. Por este motivo, só tenho a agradecer a toda a generosidade e disponibilidade da equipa da Farmácia Tavares de Castro, especialmente à Dr.^a Dora Rodrigues, e em particular à Dr.^a Sara Brandão Bento pela oportunidade e confiança nas minhas capacidades. Enfrentei dificuldades, mas se estas não tivessem surgido, este estágio não teria sido tão desafiante como foi. Sinto que o estágio passou demasiado rápido, mas foi, sobretudo, muito rico em experiências e conhecimentos que adquiri. Sem dúvida que superou as minhas expectativas e, por isso, parto para outra experiência com enorme vontade de ficar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto do Ministério da Saúde. - Diário da República: I série, N.º 168. [Consultado a 7 de abril de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/307/2007/08/31/p/dre/pt/html>
2. Decreto-Lei n.º 53/2007 de 8 de março do Ministério da Saúde. - Diário da República: I série, N.º 48. [Consultado a 8 de abril de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/53/2007/03/08/p/dre/pt/html>
3. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. [Consultado a 7 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>.
4. Portaria n.º 224/2015 de 27 de julho do Ministério da Saúde. - Diário da República: I série, N.º 144. [Consultado a 26 de abril de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/port/224/2015/07/27/p/dre/pt/html>
5. Portaria n.º 223/2015 de 27 de julho do Ministério da Saúde. - Diário da república: I série, N.º 144. [Consultado a 29 de abril de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/port/223/2015/07/27/p/dre/pt/html>
6. Portaria n.º 1429/2007 de 2 de novembro do Ministério da Saúde. - Diário da República: I série, N.º 211. [Consultado a 29 de abril de 2018]. Disponível em: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/629418/details/normal?jp=true/en>
7. GLINTT. - SIFARMA. 2016. [Consultado a 19 de Maio de 2018]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
8. CONSELHO NACIONAL DA QUALIDADE DA ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. - Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária. Revisão n.º 3 de 2009.
9. Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto do Ministério da Saúde. - Diário da República: I-A série, N.º 156. [Consultado a 27 de abril de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/134/2005/08/16/p/dre/pt/html>
10. INFARMED. - MEDICAMENTOS NÃO SUJEITOS A RECEITA MÉDICA (MNSRM): Monitorização das Vendas Fora das Farmácias. 2017. [Consultado a 27 de abril de 2018]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/2210525/janeiro+a+dezembro/53e03bcd-4530-42ed-9114-d>
11. Resumo das Características do Medicamento Bisoltussin® pastilhas. [Consultado a 19 de maio de 2018]. Disponível em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=51862&tipo_doc=rcm

ANEXO I

Caso clínico I

Senhor solicita, para a sua esposa de cerca de 60 anos, utente habitual da farmácia, especificamente pastilhas para a tosse. Apresenta tosse seca já persistente, pois afirma que tosse dia e noite e dura há uns 2 ou 3 dias. Após a consulta do histórico de vendas, consigo perceber que é diabética e hipertensa.

Intervenção

Começo por questionar qual o tipo de tosse que a senhora apresenta, se é realmente uma tosse seca ou se sente ou expete expetoração, ao que o senhor me diz que é seca, sem qualquer expetoração e que irrita a garganta. Tento perceber se a senhora tem histórico de alergias ou doenças respiratórias, como asma, ao que o marido responde “alergias penso que não, asma não”, e, de facto, não existe medicação para este tipo de patologias no histórico de vendas da senhora. Questiono para a existência de outros sintomas, como febre e inflamação da garganta, não apresentando nenhum deles. De seguida, pergunto se introduziu alguma medicação nova recentemente e descubro que não. Confirmando no histórico que a senhora não levantou nenhuma prescrição de captopril ou outro inibidor da enzima de conversão da angiotensina. Perante este quadro de tosse seca característica bastante incomodativa, que dura há relativamente pouco tempo, ausência de febre, inflamação ou outros sintomas característicos de síndromes gripais, seleciono o Bisoltussin[®] pastilhas moles sem açúcar, que contém 10,5 mg bromidrato de dextrometorfano, um fármaco que se destina ao tratamento sintomático de tosse seca e irritativa¹¹, através da depressão do centro da tosse a nível do sistema nervoso central. Por este motivo, alertei a senhora para o facto de poder surgir expetoração nos dias seguintes e, por esse motivo, deveria suspender a toma do Bisoltussin[®], pois ao inibir o reflexo da tosse poderia dar origem a uma infeção respiratória.

Recomendei a toma de 1 pastilha (para deixar dissolver na boca) de 4 em 4 horas ou num período mais alargado se não sentisse necessidade, num máximo de 12 pastilhas por dia¹¹ juntamente com a ingestão de bastante água. Recomendei, ainda, que a senhora monitorizasse a temperatura corporal para detetar a presença de febre e estar atenta a outros sintomas que possam surgir. Caso surjam mais sintomas, febre ou se a tosse persistir após a toma do Bisoltussin[®], num período máximo de 3 a 5 dias, recomendei a ida ao médico.

ANEXO 2

Janela de Verificação da medicação cedida do SIFARMA 2000®

Verificação

1ª REC Código : [] QD<QV QD>QV QD=QV TOT EMB. 0 / 1

Código	Descrição	Qt. Disp.	Qt. Verif.	Qt. Falta	Origem	P.V.P
3506888	Aerius, 5 mg x 20 comp revest	1	0		1ª RECEITA	4.99€

[E]

[F6]

[F:

[F2] Confirmar [F4] Reiniciar Qt.Verif. [F5] Gretha \ Código [Esc] Cancelar

0.00€
0.00€
0.00€
0.00€

an*online Pesquisa SIFOnline SARA AIRES 2.9.4 001

Sifarma 2000 Build 3790 (Service Pack 2)

ANEXO 3

Projeto de sensibilização “Um dia com a VALORMED” numa das escolas do concelho.



CAPÍTULO II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO NO SERVIÇO DE QUÍMICA
E TOXICOLOGIA FORENSES DO INMLCF, I.P.

ABREVIATURAS

FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
GC/FID	Cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama
GC/MS	Cromatografia gasosa com detetor de massas
HS-GC/FID	Cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama e sistema de injeção de <i>headspace</i>
INMLCF, I.P.	Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>
LC/MS	Cromatografia líquida com detetor de massas
LR	Limite de repetibilidade
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
SQTF-C	Serviço de Química e Toxicologia Forenses Delegação Centro

INTRODUÇÃO

O ato farmacêutico, tal como preconizado no artigo 6º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, abrange a execução e interpretação de análises toxicológicas³. Neste sentido, o papel do farmacêutico passa, essencialmente, pela execução de ensaios toxicológicos, tais como a determinação de etanol, drogas de abuso, medicamentos no sangue, entre outros, assim como pela interpretação de resultados e construção de novas metodologias analíticas, para fazer face às exigências emergentes. Deste modo, existe espaço para o farmacêutico na Toxicologia Forense, uma área da toxicologia, multidisciplinar, de características essencialmente analíticas e que tem como objetivo auxiliar no esclarecimento de questões judiciais e judiciais que possam estar relacionadas com intoxicações e suas potenciais consequências, fatais ou não, no âmbito dos diversos domínios do Direito¹².

Uma das muitas atribuições do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. (INMLCF, I.P.) consiste no desenvolvimento da atividade formação, ensino, investigação e divulgação científicas, em colaboração com as universidades, com outros estabelecimentos de ensino superior e com instituições de investigação, mediante a celebração de protocolos nas áreas do ensino, da formação e da investigação científica no domínio da medicina legal e de outras ciências forenses. É através desta atribuição, do desejo de realizar um estágio nesta instituição e através do esforço da Professora Doutora Isabel Vitória e Professora Doutora Helena Teixeira, e oportunidade concedida pelo INMLCF, I.P., que chego a esta instituição.

O presente relatório tem por objetivo dar a conhecer o INMLCF, I.P., a sua missão e atribuições, assim como os diferentes serviços que o constituem, dando especial relevo ao Serviço de Química e Toxicologia Forenses. Apresento um balanço do estágio, sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), em que identifico as forças, aspetos que considero uma mais valia para o meu estágio e que me proporcionaram experiências muito positivas, e as fraquezas, aspetos em que apresentei algumas debilidades e em que senti dificuldades. Identifico, ainda, as oportunidades, situações que me proporcionaram desenvolver capacidades e adquirir conhecimentos, e as ameaças, situações que me colocaram à prova e fizeram com que procurasse soluções, de forma a superar dificuldades. Ao longo desta análise apresento pequenas situações que considero integrantes dos conhecimentos teóricos que haviam sido adquiridos ao longo da formação académica.

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA LEGAL E CIÊNCIAS FORENSES I.P.

Desde a criação dos primeiros serviços médico-legais organizados em Portugal nos finais do séc. XIX (1899) ao atual Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses I.P. (INMLCF, I.P.), decorreu mais de um século de atuação no âmbito médico-legal, marcado por diversas alterações legislativas¹³. Atualmente, o INMLCF, I.P. é um instituto público, sujeito à superintendência e tutela do Ministério da Justiça, integrado na administração indireta do estado e que, por esse motivo, é dotado de autonomia administrativa e financeira e de património próprio¹⁴. É a instituição nacional de referência na área científica da medicina legal e de outras ciências forenses¹⁵, pelo que faz parte das suas atribuições coordenar, orientar e supervisionar a nível nacional as atividades relacionadas com as ciências forenses¹⁴. Sendo um laboratório do estado, é responsável pela prestação de serviços periciais médico-legais e forenses¹⁴ solicitados, nos termos da lei, pelas autoridades judiciárias e judiciais, nomeadamente, os tribunais, o Ministério Público, órgãos de policia criminal e outros serviços e entidades intervenientes no sistema de administração da justiça, assim como pela prestação de apoio técnico e laboratorial especializado às entidades supracitadas¹⁶. É também responsável pela promoção da formação e da investigação nesta área¹⁴, entre muitas outras atribuições. No âmbito das referidas atribuições, o INMLCF, I.P. realiza uma série de exames e perícias em indivíduos vivos e em cadáveres. De acordo com o tipo de perícia, estas são realizadas nos serviços técnicos das delegações, nomeadamente, o Serviço de Clínica e Patologia Forenses, o Serviço de Genética e Biologia Forenses, o Serviço de Tecnologias Forenses e Criminalística, responsável por assegurar a pesquisa, registo, colheita e tratamento de vestígios, e a realização de perícias nas diferentes áreas das ciências forenses não enquadráveis nas competências dos restantes serviços técnicos, tais como a análise de escrita e documentos, balística e física¹⁷, e o Serviço de Química e Toxicologia Forenses. Os seguintes serviços funcionam no âmbito das atividades das delegações e dos gabinetes médico-legais, que se encontrem na dependência das respetivas delegações, bem como a solicitação das autoridades e entidades para o efeito competentes (tribunais, policia judiciaria, PSP, GNR), ou do presidente do conselho diretivo¹⁷, sendo responsáveis pela realização de perícias a nível nacional.

ORGANIZAÇÃO INTERNA

O INMLCF, I.P., é um organismo central, com sede em Coimbra, mas que apresenta jurisdição sobre todo o território nacional. Dos serviços centrais constam o Departamento de Administração Geral, o Departamento de Investigação, Formação e Documentação e os Serviços de Genética e Biologia Forenses, Química e Toxicologia Forenses, Tecnologias

Forenses e Criminalística¹⁷. Dispõe de serviços descentralizados, designados delegações, no Porto (Delegação do Norte do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.), Coimbra (Delegação do Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I. P.) e Lisboa (Delegação do Sul do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I. P.) e de Gabinetes Médico-Legais distribuídos pelo país que funcionam na dependência das respetivas delegações¹⁴. Cada uma das delegações possui uma unidade orgânica nuclear, o Serviço de Clínica e Patologia Forenses, que por sua vez se subdivide nas Unidades funcionais de Clínica Forense e de Patologia Forense¹⁷, e um gabinete de Administração. Na Unidade de Clínica Forense realizam-se exames e perícias em indivíduos vivos para descrição e avaliação dos danos provocados na integridade psicofísica, no âmbito do Direito penal, civil e do trabalho, tais como agressões, crimes sexuais, maus tratos na relação conjugal ou em crianças e jovens, acidentes de trabalho e doenças profissionais, entre outros, assim como exames e perícias de natureza psiquiátrica e psicológica forenses¹⁶. Na Unidade de Patologia Forense os exames e perícias realizados prendem-se com a realização de autópsias médico-legais, exames de anatomia patológica forense, perícias de identificação de cadáveres e de restos humanos, embalsamamentos, estudo de peças anatómicas, entre outros¹⁷. Poderá ainda possuir o Serviço de Química e Toxicologia Forenses e o Serviço de Genética e Biologia Forenses, responsável por assegurar a realização de perícias e exames de identificação genética, nomeadamente os de investigação biológica de parentesco, de identificação individual, de criminalística biológica ou outros¹⁷.

SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES

O Serviço de Química e Toxicologia Forenses (SQTF) tem sede na delegação Sul e extensões funcionais nas delegações do Centro e do Norte. A este serviço compete a realização de perícias e exames laboratoriais químicos e toxicológicos¹⁷ para a determinação, confirmação e quantificação de substâncias com interesse forense, nomeadamente álcool etílico, drogas de abuso, medicamentos, pesticidas, monóxido de carbono, metais e outras substâncias¹⁸ em amostras biológicas e não biológicas¹⁶.

O Serviço de Química e Toxicologia Forenses Delegação Centro (SQTF-C) está dividido em três setores: o setor administrativo; a receção, registo e armazenamento de amostras e o setor de análises químicas e toxicológicas. Ao setor de receção, registo e armazenamento de amostras compete a receção e verificação de documentos e amostras recebidas para exame toxicológico, e o respetivo armazenamento, preparação e entrega de bolsas com o material para acondicionamento e transporte de amostras destinadas a exame toxicológico, limpeza e preparação de materiais utilizados nas atividades do SQTF-C¹³. O

desenvolvimento, validação e execução de procedimentos de ensaio e o desenvolvimento de projetos científicos com interesse para o SQTFC ou para os seus clientes são as competências do setor de análises químicas e toxicológicas¹³. Por sua vez, este sector está dividido em cinco subsectores, denominados equipas, de acordo com o tipo de tecnologia utilizada e conhecimentos necessários à execução dos procedimentos de ensaios¹³:

➤ Equipa I – Autoanalizadores (reações imuno-enzimáticas)

Responsável pela realização de testes de triagem de drogas de abuso (opióceos, cocaína, canabinóides, anfetaminas, metanfetaminas) e benzodiazepinas com recurso a um auto analisador CODA, cujo funcionamento se baseia em reações imuno-enzimáticas.

➤ Equipa II – GC/MS (Cromatografia gasosa com detetor de massas)

Nesta equipa são realizados ensaios de confirmação e quantificação de drogas de abuso e a triagem/confirmação de pesticidas (por exemplo organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides) através de GC/MS.

➤ Equipa III – LC/MS (Cromatografia líquida com detetor de massas)

A equipa III é responsável pela triagem/confirmação e quantificação de medicamentos de inúmeros grupos farmacoterapêuticos por LC/MS. A confirmação e quantificação de benzodiazepinas é um ensaio realizado separadamente dos restantes medicamentos após a triagem por CODA.

➤ Equipa IV – GC/FID (Cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama)

À equipa IV compete a deteção, confirmação e quantificação de substâncias voláteis, maioritariamente, etanol, por GC/FID.

➤ Equipa V – Espectrofotometria UV/VIS e de absorção atómica (AA)

A equipa IV utiliza espectrofotometria UV/Vis para a triagem/confirmação e quantificação de monóxido de carbono (determinação de carboxihemoglobina) e a absorção atómica para a confirmação e quantificação de metais, neste momento apenas de arsénio, ainda que seja uma determinação pouco solicitada atualmente.

ANÁLISE SWOT

Forças

Funcionamento e Organização do SQTF-C

A organização em equipas, de acordo com o referido anteriormente, contribui para o bom funcionamento do SQTF-C, pois cada equipa desempenha um dado número de ensaios definidos de acordo com o tipo de tecnologia utilizada e conhecimentos necessários à execução dos procedimentos analíticos, o que promove fluidez na execução do trabalho laboratorial.

Do mesmo modo que a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) nos incute rigor no trabalho laboratorial, também o SQTF-C o exige, ainda mais sendo um laboratório de referência nas ciências forenses, acreditado pelo Instituto Português de Acreditação, I.P. e de extrema relevância do ponto de vista legal. Deste modo, existe uma preocupação em manter um registo bem documentado e regulamentado em documentos internos e externos, devido à natureza das determinações aqui realizadas, assim como um controlo rigoroso dos documentos pelo responsável da qualidade¹³. A título de exemplo, em todos os procedimentos realizados é obrigatório o preenchimento de uma folha de rastreabilidade de equipamentos e materiais usados no procedimento. Existe igual preocupação com o controlo metrológico de todo o material utilizado nos ensaios, desde as balanças, pipetas, frigoríficos, entre outros, realizado pelos colaboradores do SQTF-C.

Toda a conjuntura do SQTF-C, em termos de funcionamento e organização, visam garantir a qualidade dos ensaios realizados e dos respetivos resultados, o que contribuiu para que desenvolvesse capacidade de organização, critério e rigor na execução laboratorial e proporcionou um bom ambiente de trabalho, de um modo geral.

Percurso no SQTF-C

Numa primeira fase, tive a oportunidade de passar por todas as equipas, de forma muito breve, e observar os diversos procedimentos analíticos utilizados para cada uma das determinações de rotina realizadas, iniciando o meu percurso no setor de receção, registo e armazenamento de amostras. Neste sector, observei a receção de amostras e o respetivo armazenamento, assim como a verificação da integridade das mesmas e do respetivo material de transporte. Durante a receção no SQTF-C, as amostras são novamente etiquetadas e codificadas com um código interno, no entanto, recomenda-se que estas mantenham a identificação original atribuída pelo perito que efetuou a colheita¹³. Uma vez avaliada a conformidade da amostra e garantida a sua integridade, o colaborador da receção, registo e armazenamento de amostras insere no software utilizado pelo INMLCF, I.P. os

respetivos procedimentos a serem realizados para aquela amostra, de acordo com o solicitado na Requisição de Análises Toxicológicas Forenses¹³. Por exemplo, quando é requerida a determinação toxicológica de etanol no sangue, o colaborador atribui no software o procedimento denominado PE-STF-C-401 à respectiva amostra recebida. Seguiram-se as restantes equipas, em que acompanhei a preparação das amostras e respetivo procedimento analítico de algumas determinações, após o estudo dos conceitos teóricos que lhe estão subjacentes. Esta primeira fase teve por objetivo conhecer a forma como o SQTf-C está organizado, adquirir um conhecimento geral do tipo de determinações que o SQTf-C realiza, assim como, conhecer o percurso das amostras num SQTf, desde que chegam ao serviço até que são analisadas e novamente armazenadas.

Numa segunda fase, colaborei numa área específica de trabalho do SQTf-C, integrando a equipa IV, que é responsável pela triagem e quantificação de substâncias voláteis por cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama e injeção por *headspace* (HS-GC/FID). Esta segunda etapa subdividiu-se em dois momentos: uma primeira fase de formação inicial e uma segunda fase de trabalho autónomo. Inicialmente, realizei uma componente maioritariamente de observação e aprendizagem, pois recebi uma introdução acerca do procedimento de deteção e quantificação de etanol no sangue, observei a execução prática da preparação da amostra e respetiva análise e obtenção e interpretação de resultados. De seguida, iniciei a componente prática através da execução do procedimento de rotina de deteção e quantificação de etanol em sangue periférico *post-mortem* correspondente a amostras fora do prazo legal. A partir deste momento adquiri autonomia e comecei a contactar com o HS-GC/FID e amostras biológicas. Logo, considero o meu percurso no SQTf-C uma mais valia e, simultaneamente, uma oportunidade de conhecer o funcionamento geral de um SQTf, passando por todas as equipas, e de adquirir prática laboratorial, fixando-me, durante um período de tempo mais longo, numa só equipa e num só procedimento.

Integração na equipa IV

A integração na equipa IV foi, sem dúvida, um ponto forte do estágio curricular, pois, para além das atividades desenvolvidas, tive a oportunidade de trabalhar com duas profissionais excelentes, nomeadamente a Dr.^a Carla Monteiro e a D. Alda. A confiança depositada em mim e no meu trabalho e a permissão para que trabalhasse em total autonomia por parte da Dr.^a Carla Monteiro foram extremamente importantes na minha evolução ao longo do estágio. Apesar de trabalhar de forma autónoma, fui auxiliada, sempre que necessário, por ambas, mostrando-se sempre disponíveis para quaisquer dúvidas que

surgissem, o que foi essencial para o sucesso do estágio. Ambas contribuíram muito para a minha aprendizagem ao nível laboratorial e do aparelho em si. A capacidade de coordenação com os restantes colaboradores do serviço, uma vez que partilhámos o mesmo local de preparação de amostras e o mesmo aparelho de medição, foi igualmente desenvolvida.

Adicionalmente, as atividades desenvolvidas estiveram relacionadas com o tema da minha monografia, pelo que tive a oportunidade de esclarecer dúvidas e conhecer os procedimentos realizados em Portugal, nomeadamente, no INMLCF, I.P.

Atividades desempenhadas

A primeira fase de trabalho laboratorial consistiu numa componente maioritariamente de observação, uma vez que a realização de ensaios de rotina acreditados está restrita a colaboradores acreditados para a realização dos mesmos. Contudo, de modo a poder ter uma participação ativa na execução de análises toxicológicas, realizei determinações forenses de etanol por HS-GC/FID, de forma a dar continuidade ao estudo comparativo da utilização de diferentes padrões internos na quantificação do etanol, nomeadamente do n-propanol, acetonitrilo e t-butanol. Assim, procedi à construção da curva de calibração, que fica gravada no *software*, sendo apenas construída novamente quando se prepara nova solução de padrão interno¹⁹, seguindo-se a quantificação de etanol em amostras de sangue periférico *post-mortem*, referentes ao ano de 2012, de acordo com o procedimento analítico estabelecido no SQTFC e utilizando as condições cromatográficas apresentadas no Anexo I. De forma resumida, o procedimento analítico passa por:

1. Diluição da amostra com uma solução contendo o padrão interno.
2. Passagem do etanol para o *headspace* através de aquecimento.
3. Injeção de um volume do vapor formado.
4. Análise da amostra por GC/FID¹⁹.

Obtido o cromatograma, procede-se à deteção da presença de etanol através da comparação dos tempos de retenção relativos do etanol e do padrão interno, numa margem estabelecida pelo SQTFC de $\pm 7\%$, e à quantificação, mediante o cálculo da média aritmética das duas alíquotas (Capítulo III). O procedimento analítico estabelecido no SQTFC dita a utilização de um limite de repetibilidade (LR) de $\pm 6\%$ para as determinações sanguíneas, limite estabelecido aquando da validação do método. Quando a amplitude entre as duas determinações é superior ao LR do método, devem ser preparadas e analisadas duas novas alíquotas através do mesmo procedimento adotado anteriormente. Se a amplitude destas quatro determinações for inferior ao LR do método, o resultado final corresponderá à média aritmética das quatro determinações, se for superior, o resultado final corresponderá

à mediana destes quatro valores, ou seja, à média aritmética dos dois valores centrais¹⁹. Este processo de obtenção de resultados realiza-se recorrendo a folhas de Excel previamente construídas de modo a facilitar os cálculos e agilizar o trabalho de rotina (Fig. 2).

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA		REGISTO										Pág. 1/1			
INML, IP • CENTRO		Aceitação de Resultados de Etanol													
TOXICOLOGIA FORENSE															
Procedimento:		PE-STF-C-401													
Série:												r (n = 2) = 6,0%			
Data:												r (n = 4) = 6,0%			
Operador:															
Observações:															
#	ID	x1	x2	x3	x4	x5	x6	n	X	Máx	min	-	X * r	Teste	Result.
1	P****	0,97	1,00					2	0,984	0,997	0,972	0,025	0,059		0,98
2	P****	0,86	0,85					2	0,852	0,855	0,849	0,006	0,051		0,85
3	P****	0,33	0,36	0,35	0,36			4	0,351	0,365	0,334	0,031	0,021	med	0,35
4															

Figura 2. Folha de Aceitação de Resultados de Etanol do SQTF-C.

Atualmente, no SQTF-C, como forma de controlo de qualidade interno, utilizam-se controlos positivos (0,20; 0,49; 1,19 gramas por litro) preparados internamente em solução aquosa e cartas controlo para suportar critérios de aceitação/rejeição de controlos¹⁹.

As atividades desempenhadas proporcionaram o desenvolvimento de autonomia e espírito crítico em relação ao meu trabalho, assim como, o contacto com a rotina de um laboratório de análises toxicológicas, nomeadamente com a determinação toxicológica de etanol. Assim, considero que as atividades que desenvolvi enriqueceram o meu estágio e contribuíram em muito para a minha formação, especialmente ao nível laboratorial. Por um lado, adquiri uma série de conhecimentos, por outro tive a oportunidade de dar o meu contributo pessoal ao SQTF-C, gerando dados importantes e de possível aplicação futura num estudo de maiores dimensões, relativo aos padrões internos mais adequados para a quantificação de etanol em amostras biológicas *post-mortem*.

Formação académica

Considero que a formação académica foi extremamente relevante no decorrer deste estágio. Apesar da área forense não ser uma área que domine particularmente, senti-me preparada em termos de conhecimento teórico subjacente ao funcionamento geral dos aparelhos e das práticas laboratoriais. Esta familiarização com os aparelhos/instrumentos e técnicas utilizados facilitou a compreensão dos procedimentos realizados no SQTF-C, evidenciado pelo caso integrante apresentado de seguida. Por exemplo, a triagem de opiáceos, cocaína, canabinóides, anfetaminas, metanfetaminas e benzodiazepinas é realizada num auto analisador CODA, cujo funcionamento se baseia em reações imuno-enzimáticas, concretamente, no *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), conceito previamente

estudado no MICF que me permitiu compreender mais facilmente o funcionamento do CODA. Recorrendo a um autoanalisador, a triagem de drogas de abuso e benzodiazepinas torna-se mais rápida e permite poupar recursos e agilizar o processo de determinação, pois obtido um resultado positivo no ensaio de triagem, prossegue-se para um ensaio de confirmação e, posteriormente, para um ensaio de quantificação.

Portanto, considero que o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), particularmente, as Unidades curriculares de Métodos Instrumentais de Análise apresentam conteúdos adequados aos métodos que se utilizam atualmente e são extremamente importantes na área laboratorial, pois uma vez adquiridos os conhecimentos teóricos, torna-se relativamente mais fácil compreender os procedimentos práticos realizados, por isso, destaco a importância da formação académica na posterior aplicação num contexto de prática profissional.

Fraquezas

Manuseamento de amostras biológicas

O manuseamento de amostras biológicas, concretamente a pipetagem de sangue, foi uma das principais dificuldades que senti, pois no trabalho que desenvolvi (quantificação de etanol em sangue *post-mortem*) era essencial que as medições cumprissem o LR do método, de forma a obter um resultado¹⁹, caso contrário teria de repetir todo o procedimento realizado anteriormente, o que implicaria um gasto adicional de tempo e de recursos. A pouca prática no manuseamento deste tipo de amostras e o facto de se tratarem de amostras armazenadas há seis anos (colhidas no ano de 2012), com a agravante de se tratarem de amostras provenientes de cadáveres, muitas delas com a presença de coágulos e/ou pouco volume disponível contribuíram para a dificuldade que senti na execução desta atividade, pelo que considero esta situação, simultaneamente, uma ameaça ao meu estágio. Considero que deveria ser explorado no MICF o manuseamento de amostras biológicas, apesar de conhecer as dificuldades na implementação desta medida, devido ao elevado número de alunos e à perigosidade associada ao manuseamento deste tipo de amostras.

De facto, a técnica de pipetagem é crucial na quantificação de etanol, de modo a garantir que o volume de amostra e de padrão interno pipetado é sempre o mesmo. As boas práticas de pipetagem ditam que se deve emergir o menos possível a ponta da pipeta, para evitar a transferência de líquido adsorvido na parte exterior da ponta²⁰. Neste caso, para pipetar 100 microlitros deve emergir-se a ponta da pipeta cerca de dois a três milímetros²⁰. Igualmente importante é manter a pipeta na vertical durante a pipetagem e realizar a descarga do volume encostando a ponta da pipeta na parte lateral do recipiente²⁰, realizando a pipetagem de forma lenta para evitar a introdução de ar na ponta. Para pipetar amostras

biológicas, tais como o sangue, o SQTFC utiliza a técnica indicada no anexo 2. Inicialmente faz-se uma pré-lavagem da ponta, aspirando a amostra uma primeira vez e desperdiçando-a, pois durante a primeira descarga parte da amostra fica adsorvida ao interior da ponta e, conseqüentemente, o volume dispensado é inferior ao pretendido²¹.

Pouca formação académica ao nível da parte forense e legal

A unidade curricular Toxicologia e Análises Toxicológicas consta do plano curricular do MICEF, contudo, pela diversidade de assuntos que podem ser abordados neste âmbito e por se tratar de uma unidade curricular correspondente a um semestre, torna-se difícil dar especial destaque à Toxicologia Forense. Contudo, os conhecimentos que detinha sobre os princípios gerais de Toxicologia adquiridos nesta unidade curricular foram uma mais valia no decorrer do estágio curricular.

As dificuldades que senti prendem-se sobretudo com a parte legal e forense subjacente às determinações realizadas e respetivo âmbito, tipos de amostras analisadas, entre outros aspetos. Assim, senti necessidade de ir à procura de informação em diversos artigos e documentos do SQTFC, de forma a colmatar as minhas dificuldades, o que acaba por ser positivo, pois desenvolvi capacidade de resiliência e de ir à procura de respostas de forma autónoma. Considero que este ponto fraco foi simultaneamente uma oportunidade de aprender conceitos na área forense.

Oportunidades

Contacto com um laboratório acreditado

Num instituto que se pauta pelo rigor, qualidade e imparcialidade²², é essencial garantir a qualidade dos resultados analíticos obtidos e, por este motivo, os laboratórios do INMLCF, IP devem dispor de um programa de garantia da qualidade²³. Neste sentido, o SQTFC possui um manual da qualidade interno, aplicado à atividade analítica aí desenvolvida, de modo a cumprir os requisitos da norma portuguesa NP EN ISO/IEC 17025:2005 e as boas práticas laboratoriais¹³. Do manual da qualidade constam todo um conjunto de procedimentos a cumprir com vista a uma melhoria contínua e qualidade dos serviços prestados¹³, tais como os procedimentos relativos ao controlo interno da qualidade. Neste sentido, os laboratórios do SQTFC encontram-se acreditados pelo Instituto Português de Acreditação, I.P., de acordo com a norma internacional EN ISO/IEC 17025:2005.¹⁸ A acreditação é uma forma de reconhecimento da competência técnica do laboratório para efetuar atividades de avaliação da conformidade, no caso dos laboratórios, para realizar ensaios e calibrações²⁴. Desta forma, a acreditação confirma a existência de um nível de

competência técnica mínimo reconhecido internacionalmente nas atividades técnicas desempenhadas pelo laboratório²⁴.

Outra forma complementar e essencial de garantir a qualidade dos resultados é a participação em ensaios interlaboratoriais e em programas de *proficiency-test*, pois para além de demonstrar a competência do laboratório para a realização de determinada análise, aumenta a qualidade das determinações toxicológicas *post-mortem*²⁵, garantindo a exatidão e validade dos métodos utilizados¹³. O SQTF-C participa em ensaios interlaboratoriais¹³ organizados por entidades como o Instituto Nacional de Toxicologia y Ciências Forenses (Ministério da Justiça de Espanha) e a Arvecon GMGH (Alemanha)¹³.

Estar em contacto com um laboratório acreditado e desta importância em termos legais foi sem dúvida uma mais valia, pois adquirir novos conhecimentos no âmbito da gestão da qualidade e das boas práticas laboratoriais.

Oportunidade de integrar um estudo em decurso no SQTF-C

Pelo facto de o INMLCF, I.P. colaborar na realização de trabalhos e estudos de pesquisa e investigação científica, por si e em colaboração com outras entidades¹⁶, tive a oportunidade de colaborar na geração de dados relevantes para o SQTF-C, dando continuidade a um estudo comparativo da utilização de diferentes padrões internos na quantificação do etanol em amostras *post-mortem*. Esta atividade permitiu que desenvolvesse capacidades técnicas ao nível laboratorial e possibilitou que desse a minha contribuição pessoal ao SQTF-C, num estudo que poderá contribuir para o esclarecimento futuro de qual o padrão interno que mais se adequa a este tipo de matrizes biológicas.

Expansão dos conhecimentos ao nível de metodologias e procedimentos analíticos

O estágio no SQTF-C possibilitou que enriquecesse os meus conhecimentos ao nível dos procedimentos e metodologias analíticas utilizados, principalmente de HS-GC/FID. Apesar de deter os conhecimentos teóricos subjacentes ao funcionamento dos instrumentos analíticos, são poucas as oportunidades a nível académico de trabalhar autonomamente e por um longo período de tempo com os instrumentos. Apesar de conhecer o princípio teórico de funcionamento da cromatografia gasosa, desconhecia todo o procedimento analítico a realizar para a quantificação de etanol, desde a preparação da amostra ao funcionamento com o *software* acoplado ao GC/FID, o que exigiu que adquirisse novos conhecimentos e que aplicasse os conhecimentos teóricos previamente adquiridos ao longo do percurso académico à execução prática num contexto real, isto é, ao ensaio de quantificação de etanol num laboratório de análises toxicológicas.

Adquiri conhecimentos ao nível de alguns procedimentos, como por exemplo a derivatização química, geralmente aplicada na quantificação de drogas de abuso. A derivatização química consiste numa reação química caracterizada pela substituição de hidrogénios livres ativos, realizada com a finalidade de melhorar o desempenho cromatográfico de determinados compostos¹⁹.

Desenvolvimento de capacidades técnicas ao nível laboratorial

As atividades desempenhadas, principalmente na segunda fase do estágio, permitiram que desenvolvesse capacidades técnicas de execução laboratorial, como a pipetagem de amostras biológicas e o manuseamento de um doseador Multipette[®], e que ganhasse autonomia, quer no procedimento de quantificação, como na organização do trabalho a realizar de acordo com a disponibilidade do GC/FID e de tempo.

Ameaças

Insegurança na execução laboratorial

Sinto que a insegurança, que é uma característica da minha personalidade, acabou por interferir com as tarefas que executei inicialmente, apesar de considerar que tenho todas as ferramentas teóricas para poder executar as atividades laboratoriais realizadas no SQTf-C, faltando um pouco de prática laboratorial no manuseamento de amostras biológicas, de acordo com o referido anteriormente. Com o decorrer do estágio fui ganhando confiança e desenvoltura na execução laboratorial, o que se refletiu nos resultados obtidos. De facto, só a experiência e a execução repetida dos procedimentos conseguem vencer esta adversidade inicial, que considero que foi superada.

Curto período de estágio

Considero o curto período de estágio uma ameaça na medida em que não permitiu que alargasse o número de amostras analisadas no estudo da utilização de diferentes padrões internos na quantificação de etanol a que dei continuidade. Esta ameaça fez com que desenvolvesse capacidade de organização, isto é, organizar as determinações de acordo com o pouco tempo disponível. Contudo, o estágio foi claramente vantajoso pela diversidade de conhecimentos que adquiri, ainda que de forma muito ligeira, pois o período de estágio não permitiu que ocorresse de outra forma.

CONCLUSÃO

Vulgarmente associado a perícias realizadas em cadáveres, o INMLCF, I.P. reveste-se de extrema importância no “mundo dos vivos”, sobretudo no âmbito legal e para o indivíduo em questão. Ao SQTf compete a realização de perícias e exames laboratoriais químicos e toxicológicos para a determinação, confirmação e quantificação de substâncias com interesse forense, sendo um dos serviços técnicos do INMLCF, I.P. mais relevantes.

Após três curtos meses de estágio, faço um balanço muito positivo, com inúmeras oportunidades de aprender, de tomar conhecimento da realidade de um laboratório de Toxicologia Forense acreditado, de extrema importância em termos legais, e das determinações aí realizadas, assim como das metodologias utilizadas e respetivos procedimentos. Considero que foi um estágio extremamente enriquecedor, não só pelos conhecimentos adquiridos, pelas novas experiências vividas e responsabilidades que me foram incumbidas, como pelos profissionais com que trabalhei e convivi durante o período de estágio. Em todas as equipas por onde passei fui extremamente bem-recebida e todos foram generosos ao partilhar o conhecimento e experiência de muitos anos de trabalho no SQTf comigo. Sei que ficaria certamente bem entregue em qualquer uma das equipas. Em particular na equipa IV, sinto que consegui superar-me a todos os níveis, quer profissionalmente, quer pessoalmente, pois ganhei, sobretudo, autonomia e organização.

Concluindo, o estágio curricular no SQTf-C fica marcado pela aprendizagem e crescimento pessoal, pois sinto que termino esta etapa mais confiante em mim e nas minhas capacidades, fruto da confiança em mim depositada pela Dr.^a Carla Monteiro que agradeço desde já. Por este motivo, destaco a importância da realização de estágios curriculares que a Universidade de Coimbra e, mais concretamente a FFUC, proporciona e a importância de nos desafiarmos, escolhermos novos locais fora da nossa zona de conforto, que nos desafiem e que, simultaneamente, nos proporcionem novos conhecimentos e experiências, independentemente das maiores ou menores capacidades que tenhamos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. [Consultado a 7 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>
12. DINIS-OLIVEIRA, R.J.; MAGALHÃES, T.; CARVALHO, F.D. - Introdução à Toxicologia Forense. In: DINIS-OLIVEIRA, R.J.; T.; CARVALHO, F.D.; BASTOS, M.L. Toxicologia Forense. Lisboa: Pactor, 2015. ISBN: 978-989-693-045-5.
13. Manual da qualidade (MQ-SQTF-C Rev05) - documento interno aprovado para o Serviço de Química e Toxicologia Forenses Delegação Centro do INMLCF, I.P.
14. Decreto-Lei n.º166/2012 de 31 de Julho do Ministério da Justiça. Diário da República: I série, N.º147. [Consultado a 25 de junho de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/166/2012/07/31/p/dre/pt/html>
15. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. - Visão. [Consultado a 19 de junho de 2018]. Disponível em: http://www.inmlcf.mj.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=121&Itemid=287
16. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. - Missão. [Consultado a 3 de julho de 2018]. Disponível em: http://www.inmlcf.mj.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=122&Itemid=288
17. Portaria n.º19/2013 de 21 de janeiro dos Ministérios das Finanças e da Justiça. Diário da República: I série, N.º14. [Consultado a 15 de maio de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/port/19/2013/01/21/p/dre/pt/html>
18. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. - Serviço de Química e Toxicologia Forenses. [consultado a 30 de junho de 2018]. Disponível em: http://www.inmlcf.mj.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=129:servico-de-quimica-e-toxi
19. Documentos internos aprovados para o Serviço de Química e Toxicologia Forense do INMLCF, I.P.: Procedimento de Ensaio de Quantificação de Etanol no sangue (PE-SQTF-C-401 Rev02); Procedimento Operacional Controlo de Qualidade Interno (PO-SQTF-C-008 Rev02); Procedimento Operacional Avaliação, Cálculo e Expressão de Resultados (PO-SQTF-C-009 Rev02).
20. EpServices. - Poster Pipetting Techniques. Alemanha: Eppendorf AG, 2014. [Consultado a 30 de julho de 2018]. Disponível em: www.eppendorf.com
21. ThermoFisherScientific. - Proven Steps to Improve your Pipetting Accuracy. [Consultado a 30 de julho de 2018]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/products-and-services/promotions/life-science/lab-essentials.html>

22. INMLCF, I.P. - Valores. [Consultado a 3 de julho de 2018]. Disponível em: http://www.inmlcf.mj.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=123&Itemid=289
23. Despacho n.º3652/99 (2ª série) de 9 de fevereiro do Secretário de Estado da Justiça - Ministério da Justiça. Diário da República: II série, N.º45. [Consultado a 14 de maio de 2018]. Disponível em: <http://www.inmlcf.mj.pt>
24. INSTITUTO PORTUGUÊS DE ACREDITAÇÃO. - A Acreditação. [Consultado a 6 de agosto de 2018]. Disponível em: <http://www.ipac.pt/ipac/funcao.asp>
25. JICKELLS, S.; NEGRUSZ, A. - Clarke's Analytical Forensic Toxicology. London: Pharmaceutical Press, 2013. ISBN: 978 0 85369 705 3. p.191, 202-211, 309-313, 505-506.

ANEXO I

Condições cromatográficas utilizadas na quantificação de etanol em amostras de sangue *post-mortem*. In: MONTEIRO, C.; PROENÇA, P.; TAVARES, C.; CASTAÑERA, A.; CORTE REAL, F. - Interference of anesthetics in blood alcohol analysis by HS-GC/FID: A case report. *Forensic Sci. Int.* 265, (2016) 65–69.

Table 1
HS-GC-FID conditions.

Instrument control parameters	
<i>Headspace</i>	
Oven temperature	40 °C
Loop temperature	80 °C
Transfer line temperature	90 °C
Vial pressurization	0.50 min
Equilibration time	20 min
<i>GC/FID</i>	
Injector temperature	150 °C
Split ratio	4:1
Columns temperature	Isothermal at 40 °C
Detectors temperature	150 °C
H ₂ flow	40 mL/min
Air flow	450 mL/min
Makeup flow	45 mL/min

ANEXO 2

Forward pipetting technique. Adaptado de: EpServices - Poster Pipetting Techniques. Alemanha: Eppendorf AG, 2014. [Consultado a 30 de julho de 2018]. Disponível em: www.eppendorf.com.

Transfer	Forward pipetting
Liquid uptake	1. Press operating button down to 1st stop 2. Let operating button move up completely
Liquid discharge	3. Press operating button via 1st stop down to 2nd stop
Observation	4. No liquid is left in tip after action



The diagram illustrates the four steps of forward pipetting:

- 1.** BEST POSITION: The pipette is held vertically. A blue dotted line indicates the '1st STOP' position, and a red dotted line indicates the '2nd STOP' position.
- 2.** The operating button is pressed down to the 1st stop.
- 3.** The operating button is released, moving back up to its original position.
- 4.** The pipette tip is inserted into a microcentrifuge tube, and the operating button is pressed down to the 2nd stop to dispense the liquid.

CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO DE ÁLCOOL ETÍLICO NUM SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES

ABREVIATURAS

ADH	Álcool desidrogenase
ALDH	Aldeído desidrogenase
ANSR	Autoridade Nacional de Segurança Rodoviária
g/L	Gramas por litro
GABA_A	Recetor A do ácido gama-aminobutírico
GC/FID	Cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama
GNR	Guarda Nacional Republicana
HS	<i>Headspace</i>
HS-GC/FID	Cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama e sistema de injeção de <i>headspace</i>
INMLCF, I.P.	Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.
NAD⁺	Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NADP⁺	Fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido
NMDA	Recetor N-metil-D-aspartato
OMS	Organização Mundial de Saúde
PSP	Polícia de Segurança Pública
SNC	Sistema Nervoso Central
SQTF	Serviço de Química e Toxicologia Forenses
TAS	Taxa de álcool no sangue
Vd	Volume de distribuição

RESUMO

Em virtude das suas propriedades físico-químicas, o etanol é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, distribuindo-se por todo o organismo em função do conteúdo hídrico dos órgãos e tecidos. Difunde-se através da corrente sanguínea até ao fígado, onde é maioritariamente metabolizado por mecanismos oxidativos, sendo o restante excretado na forma inalterada pela urina, suor e ar expirado. Afeta um grande número de sistemas fisiológicos, contudo, atinge rapidamente o SNC, onde exerce um efeito depressor. O etanol é uma substância psicoativa que interfere com a capacidade de discernimento, capacidades cognitivas, capacidade de decisão, provocando, desta forma desinibição comportamental. Como tal, está associado a comportamentos de risco, tais como a condução sob influência do álcool, e comportamentos desviantes, tais como atos de violência, suicídios, acidentes fatais, entre outros, sobretudo em situações de intoxicação alcoólica aguda. Na sequência das situações enumeradas, surge a necessidade da sua determinação forense de acordo com o contexto legal, quer *in vivo* como em cadáver (*post-mortem*), a qual se pode processar em diferentes tipos de amostras biológicas, sendo realizada no SQTf do INMLCF, I.P., à exceção da determinação de etanol no ar expirado, que é da responsabilidade das entidades fiscalizadoras (GNR e PSP). O procedimento analítico realizado no SQTf tem início na receção das amostras, seguida do seu armazenamento e determinação através da metodologia analítica instituída, mantendo a cadeia de custódia de amostras durante todo o procedimento. A HS-GC/FID é o método *standard* utilizado na determinação forense de etanol. É uma técnica que permite dar um resultado quantitativo e qualitativo no mesmo procedimento analítico, possibilitando a deteção e quantificação simultânea de etanol. Durante a execução do ensaio são realizados procedimentos que constituem o controlo de qualidade interno, extremamente relevantes para a validação dos resultados analíticos, que uma vez obtidos conduzem à elaboração do relatório da determinação toxicológica.

Palavras-chave: etanol, intoxicação alcoólica aguda, determinação forense, cromatografia gasosa, *headspace*.

ABSTRACT

Due to its physicochemical properties, ethanol is quickly absorbed by the gastrointestinal tract, distributing itself throughout the body according to the water content of the organs and tissues. It diffuses through the bloodstream to the liver, where it is mostly metabolized by oxidative mechanisms. The remainder is excreted in the unaltered form in urine, sweat and exhaled air. It affects a large number of physiological systems, however it quickly arrives to the CNS, where it exerts a depressor effect. Ethanol is a psychoactive substance that interferes with judgement, cognitive abilities, decision-making capacity and causes behavioural disinhibition. Consequently, is associated with risk behaviours, such as driving under the influence of alcohol, and deviant behaviours, such as acts of violence, suicides, fatal accidents, among others, especially during acute alcohol intoxication. Following the mentioned situations, the necessity of ethanol forensic determination arises according to the legal context, whether *in vivo* as in corpse (*post-mortem*), which can be processed in different kinds of biological samples, being performed in the SQTf of the INMLCF, I.P., except for the determination of ethanol in the exhaled air, which is the responsibility of the surveillance authorities (GNR and PSP). The analytical procedure performed in the SQTf begins at the reception of the samples, followed by its storage and determination through the analytical methodology instituted, maintaining a chain of custody of samples throughout the procedure. The HS-GC/FID is the standard method used in the forensic determination of ethanol. It is a technique that provides a quantitative and qualitative result in the same analytical procedure, enabling simultaneous detection and quantification of ethanol. The internal quality control procedures are carried out during the assay and are extremely relevant for the validation of the analytical results, which once obtained led to the preparation of the toxicological report.

Keywords: ethanol, acute alcohol intoxication, forensic analysis, gas chromatography, headspace.

INTRODUÇÃO AO ÁLCOOL: PERSPETIVA HISTÓRICA, EPIDEMIOLOGIA E DEFINIÇÕES

Produzido e consumido desde os primórdios da história da Humanidade, o etanol, álcool etílico ou simplesmente, em linguagem popular, álcool, está presente nas mais diversas culturas espalhadas pelo mundo²⁶. O consumo documentado de etanol remonta, no mínimo, ao ano 10 000 A.C., tendo-se disseminado pelas diversas civilizações, nomeadamente as civilizações grega e romana, que utilizavam o etanol em cerimónias religiosas, mas também pelo prazer, por facilitar a socialização, como fonte de nutrição e como prática medicinal²⁶. Com a descoberta da destilação pelos árabes e seu desenvolvimento industrial pelos países cristãos do mediterrâneo a partir do século XII, as bebidas destiladas foram um dos primeiros mercados mundiais. A industrialização, o desenvolvimento das comunicações e tecnologias, no século XIX, e, o desenvolvimento de uma sociedade de consumo, no século XX, garantiram a expansão do mercado destas bebidas. Com o aumento do consumo de etanol surgem os problemas relacionados com o álcool e, conseqüentemente, problemas de saúde individual, familiar, laboral e social²⁷. Conscientes desta problemática, os Estados Unidos proibem a ingestão de bebidas alcoólicas, na década de 1920, e outros países desenvolvidos lançam campanhas de prevenção na tentativa de colmatar os problemas associados ao consumo de bebidas alcoólicas²⁸. Atualmente, o etanol é uma das substâncias lícitas mais consumidas a nível mundial²⁹.

O etanol ou álcool etílico está presente em diferentes concentrações nas mais variadas bebidas alcoólicas devido ao processo de produção, que leva a que as diferentes bebidas alcoólicas possuam diferentes graduações³⁰. A graduação alcoólica de uma bebida corresponde à percentagem volumétrica de álcool puro contido na mesma. Deste modo, um vinho de 10° significa que um litro contém 10% de álcool, que corresponde a 100 mL ou 79 gramas de álcool²⁷. Do mesmo modo, a quantidade de álcool ingerido, em gramas, será também ela distinta. Portanto, podemos falar, quanto à sua origem, em bebidas alcoólicas fermentadas (vinho, cerveja, cidra), obtidas por fermentação alcoólica de produtos de origem vegetal por ação das leveduras e, em bebidas destiladas (*whisky, vodka, licores*), que resultam da destilação do álcool anteriormente obtido por fermentação²⁷. A destilação consiste num processo de evaporação das bebidas fermentadas seguido de condensação, o que permite obter bebidas de maior graduação alcoólica²⁷.

O etanol afeta um grande número de sistemas fisiológicos²⁹, constituindo um fator de risco para múltiplas doenças. É, igualmente, responsável por outras tantas patologias que advêm do consumo crónico, e de comportamentos despoletados pelo consumo agudo, pelo que o consumo excessivo de etanol constitui um problema de saúde pública^{27,31}. O consumo

excessivo de etanol é a terceira causa de doença e morte prematura a nível mundial, sendo responsável, em 2012, por 3,3 milhões de mortes, o que perfaz 5,9% do total de mortes e, o terceiro principal fator de risco de morbimortalidade na Europa^{32,33}. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Europa é a região que apresenta o valor mais elevado de consumo de álcool registado e não registado *per capita* (indivíduos com idade igual ou superior a 15 anos) do mundo³⁴. Quanto a Portugal, a OMS aponta para um consumo de álcool registado e não registado *per capita* de 10,6 litros de álcool puro, correspondendo a 23 gramas de álcool puro por dia³⁴, um valor próximo ao da Europa (10,3 litros de álcool puro por dia em 2016) e que excede a quantidade máxima diária recomendada (10-20 gramas de álcool puro)³⁰.

Devido à implicação do consumo excessivo de etanol em acidentes de viação, atos de violência, acidentes de trabalho, suicídios, entre tantas outras situações, a determinação e interpretação da concentração sanguínea de etanol é a determinação mais representativa ao nível de laboratórios de ciências forenses e de toxicologia do mundo³⁵.

A condução sob influência de álcool é expressamente proibida³⁶ e constitui um comportamento de risco³⁵, que põe em causa quer a segurança do condutor, quer a segurança de outrem. Em Portugal, no ano de 2016, registaram-se 20 849 crimes por condução com taxa de álcool no sangue (TAS) igual ou superior a 1,20 gramas por litro (g/L), representando 48% do total de crimes contra a sociedade e 6% da criminalidade registada em 2016³⁴. Por este motivo, e sendo a determinação de etanol no âmbito da fiscalização da condução rodoviária uma das mais solicitadas³⁷, irei focar-me particularmente na determinação do estado de influenciado pelo álcool na condução rodoviária, ainda que a determinação toxicológica de etanol no âmbito laboral, da clínica forense e a determinação *post-mortem* apresentem igual relevância.

PARTE I – PROPRIEDADES DO ETANOL ENQUANTO SUBSTÂNCIA

I. Caracterização física e química do etanol

O etanol (Fig.3) é um composto de fórmula molecular C_2H_6O , fórmula química CH_3CH_2OH e peso molecular 46,07 g/mol. É um líquido incolor, límpido, volátil, de odor agradável e sabor que queima. Miscível com água e muitos líquidos orgânicos, é inflamável, apresenta ponto de ebulição de 78,5°C, ponto de fusão -114,1°C, índice de refração a 20°C (n_D^{20}) 1,361, densidade (d_4^{20}) 0,789 g/cm³ e dose letal (DL₅₀) em ratos jovens e idosos de 10,6 e 7,06 g/kg, respectivamente, quando administrado por via oral³⁸.

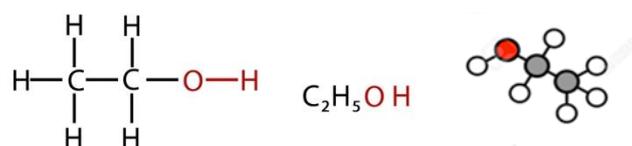


Figura 3. Fórmula estrutural, molecular e tridimensional do etanol. Adaptado de [39].

2. Toxicocinética

2.1. Absorção

Devido à sua elevada hidrossolubilidade e ao baixo peso molecular, o etanol é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, por difusão passiva, geralmente atingindo a concentração sanguínea máxima até cerca de hora e meia após a ingestão^{27,29,40,41}. Cerca de 20% do etanol ingerido é absorvido no estômago e o restante na porção proximal do intestino delgado, sendo a velocidade de absorção no estômago inferior à velocidade de absorção no intestino, devido à reduzida superfície de absorção do estômago comparativamente ao duodeno e jejuno⁴². Por este motivo, a velocidade de esvaziamento gástrico é um fator preponderante na regulação da absorção do etanol no trato gastrointestinal²⁹. A velocidade de absorção do etanol depende da concentração de etanol ingerido e, naturalmente, do tipo de bebida alcoólica ingerida, pois quanto maior a concentração de etanol ingerida, maior o gradiente de concentração resultante e, conseqüentemente, maior a rapidez da absorção^{29,43}.

2.2. Distribuição

Após a absorção, o etanol atinge a corrente sanguínea, sem que ocorra ligação às proteínas plasmáticas, sofrendo uma rápida distribuição, por difusão simples, através dos tecidos e fluidos corporais, de acordo com o conteúdo hídrico dos mesmos e vascularização (fígado, rins, cérebro, coração, músculos, saliva, sangue, líquido cefalorraquídeo, suor, leite materno, urina)^{27,40,41,43}. Pelo mesmo motivo, o volume de distribuição (Vd) do etanol

corresponde aproximadamente ao volume total de água do organismo, cerca de 0,5 a 0,7 L/kg⁴¹. Por este motivo, as diferenças de proporção tecido adiposo/água corporal verificadas entre diferentes indivíduos leva a variações da concentração sanguínea de etanol após a ingestão de uma mesma dose de etanol por unidade de peso corporal⁴³. Esta discrepância verifica-se, sobretudo, entre o sexo feminino e o sexo masculino, pois a mulher, geralmente, possui menor quantidade de água corporal e maior quantidade de tecido adiposo relativamente ao homem, isto é, um Vd inferior na mulher e, conseqüentemente, concentrações sanguíneas de etanol superiores para uma dose equivalente de etanol ingerida^{41,43}.

2.3. Metabolismo

O etanol é metabolizado através de mecanismos oxidativos, os mais representativos na sua eliminação, e mecanismos não oxidativos. O fígado é responsável por 90 a 95% do metabolismo oxidativo do etanol, sendo os restantes 10 a 5% da metabolização oxidativa desempenhada pelo estômago, intestino e rim³¹. As vias oxidativas da metabolização do etanol incluem álcool desidrogenase (ADH), o citocromo P450 (CYP2E1) e a catalase (Fig.4). A principal via responsável pelo metabolismo oxidativo hepático ocorre em três etapas, sendo as 2 primeiras etapas saturáveis, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) dependentes e catalisadas pelas enzimas ADH e aldeído desidrogenase (ALDH), respetivamente³¹. No entanto, também o citocromo P450, nomeadamente a isoenzima CYP2E1, tem a capacidade de oxidar o etanol a acetaldeído, na presença de NADP⁺, ainda que em menor extensão. Contudo, esta via de oxidação ganha relevância quando as concentrações sanguíneas de etanol são mais elevadas^{29,43}.

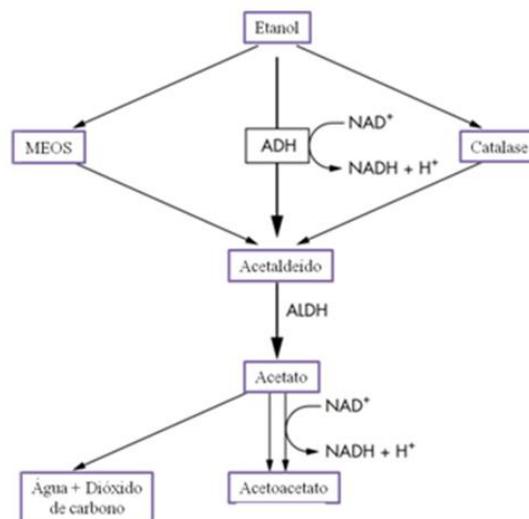


Figura 4. Possíveis vias de metabolização do etanol. Adotado de [44].

Numa primeira etapa, a ADH catalisa a oxidação do etanol a acetaldeído, utilizando o NAD^+ como cofator, que aceita equivalentes redutores provenientes do etanol, dando origem ao NADH, numa reação reversível, pelo que podemos concluir que o rácio NAD^+/NADH limita a taxa de metabolismo do etanol^{26,31,43}. De facto, a capacidade de metabolizar etanol num indivíduo depende de diversos fatores, no entanto, o fator limitante na oxidação do etanol é, geralmente, a capacidade metabólica da ADH^{29,43}. Parte do etanol ingerido sofre metabolismo de primeira passagem, isto é, é oxidado no estômago pela ADH, fazendo com que não atinja a corrente sanguínea e, assim, afetando a biodisponibilidade do etanol⁴³. Este mecanismo ocorre em maior extensão no homem comparativamente à mulher, logo a mulher apresenta menor atividade da ADH gástrica e consequente biodisponibilidade do etanol aumentada em relação ao homem^{26,29}.

Numa segunda etapa, o acetaldeído resultante da etapa anterior é oxidado a acetato e consequentemente, o NAD^+ é reduzido a NADH, numa reação de caráter irreversível catalisada pela ALDH⁴³. Geralmente, as concentrações sanguíneas de acetaldeído são baixas, devido à capacidade de metabolização da ALDH ser superior à capacidade de síntese de acetaldeído pelas diferentes vias de metabolização⁴³. No entanto, a existência de cerca de 10 isoformas da ALDH é responsável pela variação da suscetibilidade ao etanol, pois algumas isoformas fazem com que a metabolização do acetaldeído não seja tão eficiente e este se acumule na corrente sanguínea, provocando náuseas, sudorese, vômitos e taquicardia^{31,43}.

Numa terceira e última etapa, o acetato difunde-se, através da corrente sanguínea, até aos tecidos periféricos onde, na sua maioria, é combinado com a coenzima A para formar acetilcoenzima A, ou é oxidado a dióxido de carbono e água nos tecidos periféricos de determinados órgãos, como músculos, coração e cérebro, dependendo de condições nutricionais e hormonais^{31,43}.

Os mecanismos não oxidativos, apesar de apresentarem pouca relevância na eliminação do etanol, são de extrema importância a nível biológico. Conduzem à formação de metabolitos que funcionam como biomarcadores, permitindo a deteção do consumo crónico de álcool através do sangue, urina e cabelos, por exemplo³¹.

2.4. Excreção

O metabolismo oxidativo é o principal responsável pela eliminação do etanol do organismo, representando cerca de 90% do etanol ingerido. O restante é excretado através do ar expirado, urina e suor⁴³. O etanol excretado através do ar expirado constitui um método de deteção do estado de influenciado pelo álcool utilizado pelas entidades fiscalizadoras³¹.

3. Toxicodinâmica

O etanol exerce uma ação tóxica aguda, principalmente sobre o sistema nervoso central (SNC), resultante de um consumo episódico excessivo/agudo, designado alcoolismo agudo, intoxicação alcoólica aguda ou embriaguez, e uma ação tóxica crônica sobre o organismo, resultante do consumo prolongado de elevadas quantidades de etanol, afetando a função de vários órgãos vitais, o que se reflete nas inúmeras patologias atualmente associadas ao consumo desta substância^{27,30,41}. É, igualmente, responsável pelo desenvolvimento de neurotoxicidade, tolerância e dependência física e psicológica⁴¹. A tolerância diz respeito à redução das respostas comportamentais ou fisiológicas à mesma dose de etanol, sendo um processo complexo relacionado com alterações pouco conhecidas no SNC e alterações metabólicas^{26,41}. A dependência física de etanol manifesta-se através da síndrome de abstinência, onde a dose, a frequência e a duração do consumo de etanol são fatores determinantes na sua manifestação^{40,41}. Adicionalmente, estes indivíduos apresentam um desejo compulsivo de vivenciar os efeitos que advêm da ingestão de etanol e um desejo de evitar os sintomas da síndrome de abstinência, num fenómeno designado por dependência psicológica⁴¹.

As manifestações agudas da intoxicação alcoólica advêm da ação direta do etanol sobre o SNC e são muito variáveis, dependendo da quantidade e tipo de bebida alcoólica e de fatores intrínsecos ao indivíduo²⁷. Para além dos efeitos verificados no SNC, o consumo agudo de etanol provoca, ainda, diurese, como consequência da inibição da libertação de hormona antidiurética pela hipófise posterior, e sensação de calor, devido ao aumento da irrigação sanguínea da pele e estômago²⁶. Este efeito vasodilatador, aliado à diminuição do mecanismo central de regulação térmica faz com que a temperatura corporal interna diminua, o que deixa o indivíduo mais vulnerável à hipotermia, particularmente quando a temperatura ambiente é baixa^{26,41}.

3.1. Sistema Nervoso Central

Devido à capacidade de atravessar facilmente as membranas biológicas e devido ao elevado fluxo sanguíneo do cérebro, o etanol atinge rapidamente o SNC, atuando como um depressor do mesmo⁴¹. O efeito depressor do etanol no SNC é dose-dependente, isto é, para concentrações sanguíneas entre os 0,5-1,0 g/L verificam-se sinais e sintomas clínicos como a desinibição comportamental, a euforia, o fluxo verbal incrementado, a diminuição do tempo de reação, a hiperatividade motora, uma diminuição do grau de correlação entre o que o indivíduo é capaz de fazer e o que julga poder executar⁴⁰, designado prejuízo do discernimento^{27,29,40,41}. Com o aumento crescente da dose, para concentrações entre 1,0-2,0

g/L, verifica-se fala arrastada, descoordenação motora (marcha instável), desatenção crescente para os estímulos do meio exterior, alívio da ansiedade, ataxia, náuseas e vômitos, que progride para diminuição da atividade motora, estado de confusão e discurso incoerente, para concentrações entre 2,0-3,0 g/L^{40,45}. Em concentrações sanguíneas mais elevadas, na ordem dos 3,0-4,0 g/L, o etanol provoca sedação e coma, e para concentrações superiores, a 4,0 g/L, depressão respiratória e, eventualmente, morte⁴⁰. Para além da dose, este efeito depressor depende, ainda, de fatores como a idade, composição corporal, *clearance* intrínseca do etanol, dieta e agentes que possam interagir com o etanol, tais como fármacos depressores do SNC (benzodiazepinas, antidepressivos, opióides e barbitúricos) que podem potenciar os efeitos do etanol²⁹. Alguns autores consideram que existe desinibição comportamental e uma diminuição da capacidade de diversificar a atenção para valores entre os 0,3-0,5 g/L⁴⁵.

O etanol afeta uma diversidade de proteínas de membrana envolvidas em vias de sinalização, nomeadamente os recetores dos principais neurotransmissores excitatórios e inibitórios do SNC. O consumo agudo de etanol provoca a libertação de GABA, aumentando a sua ação nos recetores A do ácido gama-aminobutírico (GABA_A), que são os principais mediadores da neurotransmissão inibitória do SNC^{26,41}. Uma vez estimulada a neurotransmissão inibitória no SNC, o indivíduo irá vivenciar sensação de sonolência e relaxamento muscular²⁶. A capacidade do glutamato promover a abertura dos canais catiónicos associados aos recetores N-metil-D-aspartato (NMDA) é inibida na presença de etanol, resultando em inibição da ativação destes recetores⁴¹. Desta inibição pode resultar a ocorrência de *blackouts*, isto é, períodos de perda de memória, pois, estes recetores estão envolvidos em funções cognitivas, como a aprendizagem e a memória⁴¹. Adicionalmente, o consumo agudo de etanol promove a libertação de neurotransmissores, tais como a acetilcolina, β-endorfinas, serotonina, entre outros, conduzem ao aumento de dopamina no núcleo accumbens e nas sinapses, um neurotransmissor que está intimamente ligado às sensações de gratificação e desejo nos circuitos de gratificação do SNC (sistema de recompensa)²⁶.

PARTE II – DETERMINAÇÃO DE ETANOL NUM CONTEXTO FORENSE

O etanol é, sem dúvida, uma das substâncias mais determinadas em contexto forense, em virtude do consumo de bebidas alcoólicas, sobretudo, consumo excessivo de etanol, estar associado a comportamentos de risco e comportamentos desviantes^{35,46}.

4. Âmbito da determinação

De um modo geral, podemos falar em determinações de etanol *in vivo/ante-mortem*, para a avaliação do estado de influenciado pelo álcool no indivíduo vivo, através da determinação da taxa de álcool no sangue (TAS), no âmbito da condução rodoviária, no contexto laboral e de diversos crimes, e determinações de etanol em cadáver (*post-mortem*), de forma a determinar se o etanol causou ou contribuiu para a morte do indivíduo, na sequência da autópsia médico-legal^{25,47}.

4.1. Avaliação do estado de influenciado pelo álcool no indivíduo vivo

4.1.1. Condução rodoviária

A deteção do estado de influenciado pelo álcool é realizada na sequência da fiscalização da condução sob influência do álcool por entidades fiscalizadoras, nomeadamente a Guarda Nacional Republicana (GNR) e a Polícia de Segurança Pública (PSP), que se realiza a todos os condutores, pessoas que se propuserem iniciar a condução ou que tenham sido intervenientes em acidentes de viação e peões intervenientes em acidente³⁶. É realizada mediante a deteção e quantificação da TAS⁴⁸. O Regulamento de Fiscalização da Condução sob Influência do Álcool ou Substâncias Psicotrópicas dita que a deteção da presença de etanol no sangue é efetuada mediante um teste em ar expirado através de um analisador qualitativo⁴⁸. Uma vez obtido um resultado positivo no analisador qualitativo, o examinando é submetido a novo teste, desta vez um teste de quantificação da TAS, que poderá ser realizado através de teste no ar expirado em analisador quantitativo, num intervalo entre os dois testes igual ou inferior a trinta minutos, ou, na impossibilidade de realização deste teste, por análise de sangue⁴⁸. A análise sanguínea é realizada quando o examinando não consegue expelir ar em quantidade suficiente após três tentativas sucessivas no analisador quantitativo ou quando as condições físicas em que se encontra não permitem a realização do teste no ar expirado⁴⁸. Contudo, qualquer indivíduo fiscalizado durante a condução e quando o resultado do teste no ar expirado é positivo, pode requerer a realização de contraprova através de novo exame no ar expirado ou através de análise de sangue, de acordo com a sua vontade, sendo que o resultado da contraprova prevalece sobre o resultado do exame realizado inicialmente³⁶. De igual modo, os condutores e peões intervenientes em acidentes

de trânsito devem ser submetidos ao exame de pesquisa de etanol no ar expirado³⁶. Na impossibilidade da realização da pesquisa, por motivos de saúde ou por morte do condutor e/ou peão, realiza-se a quantificação da TAS no sangue³⁶.

Considera-se sob influência do álcool, o condutor que apresente uma TAS igual ou superior a 0,5 g/L ou que seja considerado como tal mediante relatório médico³⁶. Para condutores em regime probatório e condutores de veículo de socorro ou de serviço urgente, de transporte coletivo de crianças e jovens até aos 16 anos, de táxi, de automóvel pesado de passageiros ou de mercadorias ou de transporte de mercadorias perigosas, considera-se sob influência do álcool quando apresenta uma TAS igual ou superior a 0,2 g/l ou que seja considerado como tal mediante relatório médico³⁶.

4.1.1.1. Determinação de etanol no ar expirado

A amostra biológica mais usada na deteção do estado de influenciado pelo álcool durante a fiscalização rodoviária é, sem dúvida, o ar expirado²⁵. É um método muito utilizado pelas entidades fiscalizadoras pois é um método de deteção não invasivo, de determinação rápida e resultados imediatos⁴⁹. Os analisadores não exigem grande técnica de manuseamento e são relativamente baratos²⁵. Esta determinação é possível devido à boa correlação entre a concentração de etanol no ar expirado e a concentração sanguínea de etanol, ainda que se verifique alguma variabilidade. Durante uma inalação profunda, o etanol difunde-se dos capilares sanguíneos pulmonares para o ar alveolar e atinge uma concentração de equilíbrio²⁶.

Os analisadores quantitativos são instrumentos de medição da concentração de etanol no ar alveolar expirado, apresentando um resultado final em gramas de etanol por litro de sangue (g/L)⁴⁷, determinado de acordo com o fator de conversão estabelecido no artigo 81º do Código da Estrada³⁶, que é baseado no coeficiente de partição do etanol entre o ar alveolar e o sangue de 2300:1 mg/L, ou seja, 1mg de etanol por litro de ar expirado é equivalente a 2,3g de etanol por litro de sangue^{26,36}.

4.1.1.2. Determinação de etanol no sangue

A quantificação de etanol no sangue efetua-se quando existe incapacidade do examinando, e em situação de contraprova, prevalecendo o resultado do exame sanguíneo sobre o resultado do teste no ar expirado⁴⁸. A colheita de sangue periférico deve ser realizada o mais rapidamente possível após a fiscalização ou ocorrência do acidente num estabelecimento da rede pública de saúde a que o examinando é conduzido pelo agente de autoridade ou, em caso de acidente de viação, no estabelecimento onde dá entrada e enviada para o Serviço de Química e Toxicologia Forenses (SQTF) da delegação respetiva do

Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. (INMLCF, I.P.), instituição responsável pela determinação da TAS no sangue^{47,48}. Inicialmente, o agente da autoridade entrega nesse mesmo estabelecimento o impresso de “Análise Para Quantificação Da Taxa de Álcool No Sangue” (Anexo I) juntamente com uma bolsa selada de modelo aprovado pela Autoridade Nacional de Segurança Rodoviária (ANSR), que contém o material de recolha e acondicionamento da amostra⁴⁷. O médico atribuído ao examinado é responsável por providenciar a colheita de sangue venoso de acordo com os procedimentos habituais, pelo preenchimento do impresso, do qual deve constar a vinheta de identificação profissional (nas três vias), pela entrega do original ao agente da autoridade que requisitou a determinação, do duplicado ao examinado ou, quando não seja possível, ao agente da autoridade que requisitou o exame para que, posteriormente, o entregue ao examinado ou a quem legalmente o represente⁴⁷ e colocação do triplicado e amostra devidamente acondicionada na bolsa, que deve ser selada e enviada pelo estabelecimento de saúde de imediato à respetiva delegação do INMLCF, I.P., ao seu SQTF⁴⁷.

4.1.2 Determinação de etanol no âmbito da Atividade laboral

A ingestão de bebidas alcoólicas durante o período laboral tem enormes repercussões a nível da atividade profissional e ao nível das seguradoras e respetivos seguros de acidentes de trabalho. A nível laboral, a ingestão de bebidas alcoólicas põe em risco a integridade física dos trabalhadores⁵⁰, diminui o rendimento laboral e pode estar na origem do aumento do absentismo, acidentalidade e reformas prematuras²⁷. Segundo a Organização Internacional do Trabalho, 40% dos acidentes de trabalho envolvem ou estão relacionados com o consumo de álcool⁵⁰. Por este motivo, a entidade empregadora poderá optar pela realização de testes de deteção do etanol como parte integrante da política de segurança e saúde da instituição ou empresa, uma vez que em Portugal não existe legislação que estabeleça a obrigatoriedade da determinação de etanol num contexto laboral. Portanto, a determinação do etanol poderá ser requerida na sequência de acidentes de trabalho e como forma de controlo do eventual consumo no decorrer da atividade laboral, geralmente, mediante determinação no ar expirado, do mesmo modo que é realizado no âmbito do Código da Estrada (ponto 4.1.1), ou através de determinação sanguínea. Não existem valores legalmente definidos para a TAS no âmbito laboral, contudo, recomenda-se que estes devem ser adequados a cada profissão e tarefas realizadas, não se aplicando os limites definidos pelo Código da Estrada indiscriminadamente⁵⁰.

4.1.3 Determinação de etanol no âmbito da atividade pericial da Unidade Funcional de Clínica Forense do INMLCF, I.P.

A determinação de etanol poderá ser requerida no âmbito das perícias médico-legais e forenses realizadas na Unidade Funcional de Clínica Forense que, entre outras atribuições, tem por função a realização de exames e perícias em pessoas, efetuados em sede de Direito penal relativos a crimes contra a integridade física, como agressões, abusos sexuais facilitados pela ingestão de álcool e/ou drogas e maus-tratos na relação conjugal (violência doméstica) ou em crianças e jovens⁵¹. De facto, a ingestão de bebidas alcoólicas está intimamente ligada a episódios de violência despoletados sobretudo durante episódios de intoxicação alcoólica aguda. A título de exemplo, em 2016, 41% das participações de violência doméstica registadas pelas forças de segurança apresentavam sinalização de problemas relacionados com o consumo de álcool por parte do/a denunciado/a³⁴. A determinação toxicológica do etanol poderá, ainda, ser requerida por entidades públicas e privadas, assim como particulares, mediante requerimento por escrito dirigido ao Presidente do INMLCF, I.P. ou aos Diretores das suas Delegações, estando sujeito a apreciação prévia no plano jurídico¹³.

4.1.4 Tipos de amostra

O etanol pode ser determinado em qualquer fluido corporal que contenha água, tal como o líquido cefaloraquídeo, saliva, suor, urina, entre outros⁵². No entanto, a amostra de eleição para a determinação de etanol em indivíduos vivos, no âmbito das situações referidas anteriormente, é o sangue periférico colhido, geralmente, da veia cubital mediana, para um tubo devidamente identificado contendo conservante e anticoagulante adequados. A presença de um conservante nos tubos de colheita, nomeadamente o fluoreto de sódio numa concentração de 1 a 5%, impede a conversão da glucose em etanol pelos microrganismos que poderão estar presentes⁴⁹. Deve preencher-se o mais possível o tubo de colheita e este apenas deve ser aberto aquando da determinação, de modo a evitar que ocorram oxidações devido ao ar que fica retido no espaço livre do tubo de colheita⁴⁹. Recomenda-se a colheita antes da administração de qualquer tratamento, nomeadamente fluidos intravenosos, assim como a utilização de desinfetantes isentos de álcool na desinfeção cutânea que antecede a colheita⁵³.

Os tubos de colheita devem ser devidamente etiquetados, inseridos nos respetivos contentores e transportados em sacos selados para o SQTF, de forma a garantir a inviolabilidade durante o período de transporte e conservação^{23,53}. Para uma correta identificação das amostras colhidas, a etiqueta deve conter o número institucional do

processo ou número da requisição, o nome da vítima, tipo de amostra e local anatômico da colheita, assinatura do perito que fez a colheita e a respectiva data e hora da colheita⁴⁹.

As amostras devem ser enviadas para o SQTf no próprio dia da colheita ou, se não for possível, no dia útil imediatamente a seguir à colheita²³. Até serem enviadas e durante o transporte devem ser mantidas entre os 2 e os 8°C e congeladas, quando não for possível a entrega num prazo de 48 horas. Recomenda-se, ainda, que o número de pessoas que manuseia as amostras (colheita e transporte) seja o mais reduzido possível, para garantir a integridade das mesmas⁵³. Todo este processo constitui parte da cadeia de custódia de amostras.

4.2. Determinação de etanol em cadáver

Na sequência de uma autópsia médico-legal, poderá ser solicitada a análise toxicológica de determinação de etanol ao SQTf, sendo as amostras que se destinam a esta determinação selecionadas, colhidas e acondicionadas, no decorrer da autópsia médico-legal, de acordo com normas previamente estabelecidas⁵³. Em situações de morte violenta ou de causa ignorada, procede-se à realização de autópsia médico-legal, podendo ser dispensada quando esta não se revela necessária, de acordo com o estabelecido no *art. 18º* do regime jurídico das perícias médico-legais e forenses⁵⁴. Em situações de morte violenta na sequência de acidente de trabalho ou acidente de viação das quais tenha resultado morte imediata é obrigatória a realização de autópsia médico-legal⁵⁴. As autópsias médico-legais destinam-se a esclarecer a causa da morte e as circunstâncias em que esta ocorreu, estabelecendo-se o diagnóstico diferencial entre morte natural, suicídio, homicídio e acidente¹⁶.

4.2.1. Morte violenta ou de causa ignorada

Em situações de morte violenta ou de causa ignorada, onde se enquadram os homicídios, suicídios, acidentes fatais, como a queda de edifícios, trucidamentos, afogamentos, entre outros, a determinação *post-mortem* de etanol realiza-se nos mais variados tipos de amostra e é extremamente importante para esclarecer se o etanol causou ou contribuiu para a morte do indivíduo²⁵.

O consumo episódico excessivo de etanol apresenta uma relação próxima com a ocorrência de suicídios e acidentes diversos. Dados relativos ao ano de 2016 apontam para 17% dos óbitos com resultado positivo para a presença de etanol com causa de morte atribuída a suicídio e 33% atribuída a acidente, incluindo os acidentes de viação. Aliás, da totalidade dos óbitos, são os suicídios e os acidentes diversos que apresentam os valores de TAS mais elevados, à exceção dos óbitos devidos a intoxicação alcoólica⁵⁵.

4.2.2. Acidentes rodoviários fatais

Em acidentes de trânsito dos quais resulte morte do condutor e/ou do peão, é extremamente relevante a determinação da TAS³⁶, para determinar o estado de influenciado pelo álcool, por questões legais e de seguradoras, uma vez que a ingestão de bebidas alcoólicas continua a ser um dos fatores responsáveis pela sinistralidade rodoviária em Portugal. Em 2016 registaram-se 163 vítimas mortais de acidentes de viação sob a influência do álcool (TAS \geq 0,5g/l), sendo que a maioria das vítimas mortais eram condutores (69%) com idades superiores a 34 anos (75%) e apresentavam uma TAS igual ou superior a 1,20 g/L (71%)⁵⁵.

4.2.3. Acidentes fatais de trabalho

A determinação de etanol poderá ser requerida na sequência de acidentes fatais de trabalho, devido às repercussões ao nível da entidade empregadora e a nível das seguradoras.

4.2.4. Tipos de amostra

Em determinações *post-mortem*, a concentração de etanol pode ser determinada em diferentes amostras, sendo o sangue periférico e o humor vítreo as mais frequentemente utilizadas⁵². O sangue cardíaco, colhido preferencialmente da cavidade direita, pode também ser utilizado, quando o volume de sangue periférico é insuficiente para uma determinação correta, contudo é mais suscetível a alterações *post-mortem*^{25,52}. Muitas outras amostras poderão ser utilizadas quando as anteriores não estão disponíveis, tais como a bÍlis, líquido sinovial, cérebro, músculo, fÍgado, baço, contudo, são pouco utilizadas devido à maior complexidade do processamento analítico e ao facto de o estudo de correlação entre a concentração nestas amostras e a concentração sanguínea ser pouco fidedigna^{49,52}. Quando determinada noutros fluidos corporais, a concentração de etanol obtida é geralmente convertida à concentração equivalente no sangue, contudo, o sangue é a única amostra que permite afirmar que o indivíduo está/esteve sob a influência do álcool⁵⁶.

Para o acondicionamento de amostras *post-mortem*, são fornecidos *kits*, que contêm o material de acondicionamento, juntamente com uma Requisição de Análises Toxicológicas Forenses (Anexo 2) a ser preenchida pelo perito que realiza a colheita e, posteriormente, enviada juntamente com as amostras colhidas, através do mesmo procedimento realizado para as amostras *ante-mortem*⁴⁹.

4.2.4.1. Sangue periférico

O sangue periférico, geralmente proveniente da veia femoral ou subclÁvia, é a amostra de eleição para a realização do exame toxicológico de quantificação do etanol, pois é menos

suscetível a alterações *post-mortem*, tais como a difusão *post-mortem*^{52,53}. A difusão *post-mortem* ocorre: quando existe uma elevada concentração de etanol no estômago de um cadáver, que pode, eventualmente, difundir-se a partir do conteúdo estomacal para o coração e imediações dos vasos sanguíneos pulmonares e cardíacos após a morte do indivíduo; após trauma severo que provoque rutura do estômago e diafragma e quando ocorre movimento do conteúdo gástrico para a traqueia e pulmões^{25,52}. Por este motivo, é recomendada a determinação num segundo tipo de amostra²⁵. O sangue periférico é colhido no início da autópsia para evitar contaminações e a determinação é realizada em sangue total, o que se torna mais complexo, devido à presença em maiores quantidades de compostos endógenos, tais como colesterol e ácidos gordos, comparativamente ao soro e ao plasma^{25,53}.

4.2.4.2. Humor vítreo

A determinação de etanol em humor vítreo é extremamente importante na distinção da ingestão de etanol *ante-mortem* da eventual formação *post-mortem*⁵³. A formação *post-mortem* de etanol a ocorrer, é muito mais difícil no humor vítreo, uma vez que a sua localização (interior do globo ocular) permite que este se mantenha estéril durante dias após a morte, o que torna esta amostra uma boa opção para realizar uma segunda determinação, quando o cadáver está em avançado estado de decomposição ou quando foi sujeito a trauma^{25,52}. Outra das vantagens do humor vítreo é o facto da concentração de etanol aí presente estar em equilíbrio com a concentração de etanol presente na corrente sanguínea²⁵. Apesar da formação *post-mortem* de etanol no sangue, urina e tecidos ser conhecida, não existe, ainda, correlação entre este fenómeno e o grau de putrefação do cadáver²⁵.

5. Procedimento analítico num Serviço de Química e Toxicologia Forenses

O art. 6º da Portaria n.º19/2013 de 21 de janeiro estabelece que a realização de perícias e exames laboratoriais químicos e toxicológicos, a nível nacional, compete ao SQTF do INMLCF, I.P.¹⁷. Deste modo, a análise toxicológica do etanol, no âmbito das situações referenciadas anteriormente, é realizada pelo SQTF da delegação respetiva, à exceção da determinação da TAS no ar expirado. A determinação de etanol inicia-se com a receção da amostra no SQTF, seguida do seu armazenamento, de forma a preservar as suas propriedades, até que é sujeita ao procedimento analítico estabelecido. Por fim, são obtidos os resultados e verificada a sua exatidão e validade através de uma série de procedimentos implementados durante a execução do ensaio, que constituem o controlo de qualidade interno²⁵. Durante todo este processo, para garantir a inviolabilidade das amostras, é

mantida uma cadeia de custódia das mesmas. Elaborado o relatório, as amostras são novamente armazenadas até que termine o seu prazo legal, sendo posteriormente destruídas.

5.1. Receção das amostras

A receção de amostras passa pela verificação do estado de acondicionamento das mesmas, deteção de eventuais sinais de adulteração, verificação da identificação das mesmas e a conformidade das informações presentes na Requisição de Análises Toxicológicas Forenses (Anexo 2), onde consta a descrição das análises toxicológicas solicitadas, comparativamente às amostras recebidas^{23,53}. Caso se detete alguma não conformidade, esta é comunicada à entidade requisitante e a determinação não se realiza até que a situação seja devidamente esclarecida²³.

5.2. Avaliação da cadeia de custódia

Como as determinações realizadas têm repercussões legais/judiciais, é essencial existir uma cadeia de custódia de amostras, isto é, manter um registo referente a todo o ciclo de vida das amostras, de forma a garantir a sua integridade e segurança. Com este mesmo objetivo, as amostras devem ser mantidas num local seguro, de acesso limitado e reservado aos colaboradores do SQTF, num contentor, frigorífico ou congelador selado. Da cadeia de custódia de amostras constam o registo dos peritos que realizaram a colheita, o transporte e a receção da amostra e respetiva data⁴⁹. Pelo mesmo motivo, o SQTF mantém uma cadeia de custódia intralaboratorial, que consiste no registo atualizado das amostras recebidas, das determinações realizadas, da comunicação dos resultados e do armazenamento das amostras²³. Portanto, sempre que as amostras são manuseadas, os colaboradores do SQTF registam as principais atividades realizadas e o respetivo consumo da amostra, sendo que durante o período em que as amostras ou alíquotas estão na sua posse, o colaborador é responsável por assegurar a sua integridade¹³.

5.3. Armazenamento e conservação

As condições e a duração do manuseamento e do armazenamento podem afetar a concentração da substância em análise. Por este motivo, é essencial definir estes parâmetros para garantir a exatidão dos resultados da determinação. Não existem recomendações de carácter obrigatório para o armazenamento de amostras. Geralmente, são armazenadas a cerca de 4°C por um período curto de tempo, quando não é possível analisar as amostras de imediato, e se necessário, pode ser adicionado um conservante adequado. Quando as amostras se destinam a ser armazenadas por um longo período de tempo, o armazenamento é realizado a cerca de -80°C⁴⁹.

As amostras colhidas no âmbito das perícias médico-legais são mantidas no SQTf por um período de dois anos⁵⁴, enquanto as amostras colhidas no âmbito do Código da Estrada, são armazenadas no INMLCF, I.P. até: à comprovação de testes negativos; ou até ao final do prazo para interposição de impugnação contenciosa; ou até ao trânsito em julgado da sentença no caso de ação judicial⁴⁸. Após este período, o INMLCF, I.P. procede à destruição das amostras, salvo ordem judicial em contrário^{48,54}.

5.4. Metodologia analítica

Devido à elevada volatilidade do etanol, a cromatografia gasosa (GC) acoplada a detetor de ionização de chama (GC/FID) com injeção por *headspace* (HS-GC/FID) é um dos métodos analíticos mais utilizados na determinação do etanol e de outras substâncias voláteis com interesse forense, como o metanol e a acetona^{46,56,57}. A HS-GC/FID é uma técnica facilmente automatizada, sensível, precisa, relativamente específica, extremamente reprodutível e compatível com vários tipos de amostras, vantagens que fazem deste método um método *standard* na determinação forense *in vivo* e *post-mortem* de etanol^{25,35,58}. É uma técnica que permite obter resultados rapidamente, pois o facto de o forno ser mantido a uma temperatura constante permite que o tempo de análise seja curto, demorando cerca de 2 a 3 minutos após a injeção no GC, comparativamente a determinações que exigem um programa de temperatura com aquecimento e arrefecimento do forno³⁵. De forma a aumentar a especificidade, deve utilizar-se duas colunas cromatográficas de polaridades distintas acopladas a dois detetores FID, de modo a alterar o tempo de retenção e eluição do etanol, isto é, de modo a obter tempos de retenção do etanol diferentes em cada uma das colunas cromatográficas^{52,59,60}. Assim, a identificação/deteção do etanol é rápida e inequívoca, minimizando-se a possibilidade de co-eluição do etanol com outros compostos voláteis^{46,61}. Resumindo, a amostra é injetada através de um *headspace sampler* e separada para duas colunas cromatográficas de polaridades distintas, acopladas a dois detetores FID, obtendo desta forma, dois cromatogramas para uma só amostra⁶⁰ (Anexo 3).

Permite, ainda, fornecer um resultado qualitativo e quantitativo no mesmo procedimento analítico, isto é, a deteção/identificação e quantificação do etanol são realizadas em simultâneo⁵⁸. A análise qualitativa efetua-se através da comparação dos tempos de retenção de uma substância desconhecida (neste caso, o etanol) e de um padrão de referência certificado ou preparado internamente no SQTf³⁵. A análise quantitativa realiza-se através da integração da área do pico no cromatograma, que é diretamente proporcional à quantidade de substância presente na amostra³⁵. Esta quantificação é feita aplicando o método de padrão interno²⁵ e, passa pela construção de uma curva de calibração, pela

preparação de controlos e amostras brancas, que constituem o controlo de qualidade interno, essencial para a validação do método e dos resultados.

O procedimento analítico é estabelecido no laboratório, de acordo com investigação própria e/ou baseado em artigos científicos, aquando da construção do método analítico, pois qualquer método que se destine a ser utilizado em determinações de rotina em Toxicologia Forense tem de ser validado, de forma a provar que os resultados obtidos são exatos para as amostras analisadas e que é suficientemente robusto para ser utilizado por diferentes analistas²⁵. No momento da construção do método analítico, são definidas as condições cromatográficas do GC e do *headspace* (HS), os controlos e calibradores a ser utilizados, a fórmula de cálculo dos resultados e os respetivos critérios de aceitação/rejeição²⁵. Contudo, o procedimento analítico segue sempre o mesmo princípio, isto é, pressupõe a prévia construção de uma curva de calibração, para a posterior quantificação de etanol da amostra, seguida da preparação da amostra e posterior injeção por HS no GC/FID.

5.4.1. Preparação da amostra

A preparação da amostra é rápida e simples, pois não exige a realização de um processo extrativo, devido à injeção por HS, o que constitui, claramente, uma vantagem para um laboratório que analise um grande número de amostras⁴⁶. Antes de iniciar a preparação da amostra propriamente dita, as amostras devem ser homogeneizadas durante algum tempo³⁵. A preparação da amostra, realizada em duplicado, em alíquotas independentes, consiste na diluição, num rácio 1:10, de uma alíquota da amostra numa solução aquosa de padrão interno de concentração entre 0,05 e 0,10g/L, num recipiente de vidro, fechado com uma tampa de alumínio revestida de teflon na parte superior, designado *headspace vial*^{35,46,62}. Por fim, o *vial* é fechado e posteriormente colocado no HS *sampler* (Anexo 4). Do mesmo modo, são preparados os calibradores, controlos e branco de reagentes⁴⁶. Todas as alíquotas e amostras devem estar devidamente identificadas, de modo a assegurar a integridade dos resultados⁶².

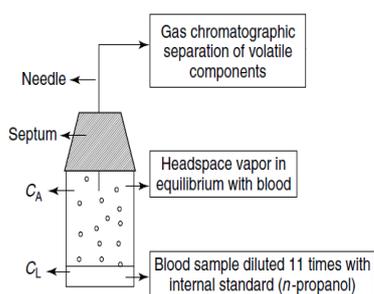
Um dos parâmetros mais relevantes para a deteção e quantificação de etanol é a escolha de um padrão interno adequado, de forma a minimizar o efeito de matriz^{25,52}. Este deve ter propriedades cromatográficas semelhantes ao analito, preferencialmente com um tempo de retenção mais longo que o analito e não pode estar naturalmente presente na amostra analisada ou ser produzido na mesma^{25,35}. Atualmente, o n-propanol é o padrão interno mais utilizado na deteção e quantificação de etanol⁶³. Existem, ainda, autores que sugerem a utilização simultânea de dois padrões internos distintos, por exemplo o n-propanol e t-butanol, na quantificação de etanol, sobretudo em amostras *post-mortem*⁵².

5.4.2. Injeção da amostra

As duas alíquotas da amostra são posteriormente injetadas juntamente com o branco de reagentes e três controlos positivos (0,20; 0,49; 1,19 g/L), escolhidos de acordo com os valores definidos legalmente para a condução sob influência do álcool em Portugal⁴⁶. Os controlos positivos e o branco de reagentes são parte integrante do controlo de qualidade interno e devem ser incluídos em determinados intervalos na sequência analítica³⁵. Ao conjunto de amostras, branco e controlos injetados contemporaneamente, designa-se sequência analítica¹⁹.

5.4.2.1. Headspace

A injeção por HS baseia-se no equilíbrio dos compostos voláteis entre as fases gasosa e líquida, que é atingido 20 a 30 minutos após o aquecimento do *vial* que contém a amostra, sendo mantido a uma temperatura constante de 50 ou 60°C, num ambiente hermético^{35,52}. Atingido o equilíbrio entre fases, é retirada uma alíquota da fase gasosa para injetar no GC, onde ocorre a separação dos componentes da amostra e, posteriormente, a deteção através de detetor FID³⁵. A injeção por HS é automatizada e permite aumentar o tempo de vida da coluna cromatográfica, uma vez que evita a injeção direta na coluna cromatográfica de



constituíntes não voláteis presentes nas amostras biológicas, preservando a coluna e o injetor^{31,52,61}. Apresenta, ainda, maior reprodutibilidade comparativamente à injeção direta e elimina substancialmente o efeito de matriz, apesar de requer maior volume de amostra⁶¹.

Figura 5. Diagrama do equilíbrio dos compostos voláteis entre as fases gasosa e líquida no *headspace vial*. Adaptado de [35].

5.4.3. Controlo de qualidade interno

De modo a garantir a qualidade dos resultados analíticos obtidos, os laboratórios do INMLCF, I.P. devem dispor de um programa de garantia da qualidade, do qual constam procedimentos sob a forma escrita, nomeadamente os procedimentos relativos ao controlo de qualidade interno, que inclui: a calibração, os controlos e o branco de reagentes^{19,23}.

5.4.3.1. Calibração

Da relação linear entre as áreas relativas, que corresponde ao rácio área do pico correspondente ao etanol vs. área do pico correspondente ao padrão interno, obtidas para os diferentes calibradores e a concentração de etanol dos mesmos, surge uma reta de calibração essencial à quantificação de etanol^{35,46}. A construção da reta de calibração realiza-

se através da preparação de calibradores, pelo mesmo procedimento indicado anteriormente, e posterior injeção por HS-GC/FID³⁵. Os calibradores são soluções aquosas de concentrações de etanol conhecidas preparados com padrões de referência de álcool etílico ou preparados internamente no laboratório^{23,35,46}.

Recomenda-se a construção de uma reta de regressão linear, constituída por 5 ou mais pontos, cujo coeficiente de correlação seja superior a 0,98, numa gama de concentrações de 0,1 a 5,0 g/L, pois a maioria dos valores de concentração de etanol encontrados em casos forenses situam-se neste intervalo^{25,35}. Geralmente, a reta tem início no ponto 0,1 g/L, que corresponde ao valor abaixo do qual um resultado é considerado negativo, ainda que alguns métodos analíticos usados em alguns laboratórios consigam quantificar valores inferiores³⁵. Não é necessário proceder à construção da reta de calibração em cada determinação, pois trata-se de uma calibração estável, reprodutível e linear dentro do intervalo de valores definido e são utilizados controlos para validar a calibração durante a análise das amostras²⁵.

5.4.3.2. Controlos e branco de reagentes

Do controlo de qualidade do procedimento de quantificação de etanol, consta a preparação de controlos internos de qualidade, soluções de concentração de etanol conhecida, que são analisados simultaneamente com as amostras, para verificar, em cada sequência analítica, a exatidão da calibração²⁵. Os controlos podem ser soluções de material de referência certificado ou soluções preparadas internamente no laboratório, através da adição de quantidades conhecidas de etanol a sangue total isento do respetivo analito ou a soluções aquosas^{19,25}. A preparação dos controlos deve ser realizada por um colaborador distinto daquele que realiza a determinação e a partir de matérias-primas distintas das utilizadas na preparação dos calibradores, ou quando não for possível, de pesagens independentes do mesmo material, de modo a garantir que os controlos e os calibradores são preparados de forma independente²⁵.

As concentrações dos controlos obtidas na quantificação são usadas para definir os critérios de aceitação/rejeição dos resultados, isto é, se o resultado obtido para os controlos estiver dentro dos valores de tolerância definidos, podemos aceitar e considerar os resultados das amostras exatos. Os critérios de aceitação/rejeição dos controlos são definidos por cada laboratório, contudo, para a determinação de etanol recomenda-se um intervalo de $\pm 10\%$ de variação em relação ao valor nominal (definido). Uma vez desrespeitados os critérios, deve desencadear-se uma ação corretiva e, se necessário, deve repetir-se o ensaio²⁵. Simultaneamente, é preparado um branco de reagentes, através do mesmo procedimento de preparação das amostras substituindo a toma de amostra por uma porção equivalente de solvente, como por exemplo água desionizada¹⁹. No branco de

reagentes não deve ser detetada a presença da substância pesquisada (etanol), nem outros sinais interferentes significativos¹⁹.

5.4.3.3. Apresentação de resultados

A deteção e confirmação da presença de etanol efetuam-se através da comparação do tempo de retenção relativo, que diz respeito ao rácio tempo de retenção do etanol vs. tempo de retenção do padrão interno, do sinal obtido no GC/FID com o tempo de retenção relativo de um controlo positivo analisado simultaneamente e sob as mesmas condições⁴⁶. A amostra é considerada positiva quando revela a presença de um sinal cujo tempo de retenção relativo é idêntico ao controlo, numa margem previamente estabelecida pelo laboratório durante a validação do método^{19,46}.

A concentração de etanol é calculada por interpolação da área relativa obtida para a amostra na curva de calibração previamente construída⁴⁶. O resultado é expresso em g/L, mediante o cálculo da média aritmética das duas determinações correspondentes às duas alíquotas preparadas de forma independente²³. Apenas os valores que constem da reta de calibração são aceites, os restantes são reportados como maior ou menor do que o respetivo valor da reta de calibração²⁵, pois não se deve extrapolar valores quando se pretende obter um resultado quantitativo, uma vez que não podemos garantir a exatidão dos resultados extrapolados²⁵.

Um resultado é reportado como positivo quando apresenta um tempo de retenção relativo idêntico ao controlo e quando apresenta concentração sanguínea de etanol igual ou superior a 0,1 g/L³⁵ (Anexo 5). As amostras consideradas positivas são submetidas ao ensaio de confirmação da presença de etanol, através do mesmo procedimento utilizado na deteção e quantificação referido anteriormente²⁵. Contudo, utiliza-se apenas uma alíquota, independente da utilizada na deteção e quantificação¹³.

Após a obtenção do resultado, o SQTf elabora um relatório da análise toxicológica em que descreve os resultados obtidos, com as respetivas unidades de medida, bem como outras informações relevantes de modo a permitir a identificação do processo, amostra analisada, entidade que requisitou a determinação, procedimento e método analítico utilizado. Quando relevante ou solicitado, pode ainda incluir observações e/ou interpretações dos resultados de forma a facilitar a interpretação dos mesmos. O relatório deve ser elaborado de forma clara e objetiva e, se possível, indicando a incerteza associada ao método⁴⁹. No âmbito do Código da Estrada, a determinação de etanol conduz à elaboração de um relatório de modelo aprovado em regulamentação, que se destina ao envio do documento original à entidade fiscalizadora requisitante, o duplicado à ANSR e o

triplicado arquivado na delegação do INMLCF, I.P. onde é efetuada a determinação, num prazo máximo de 30 dias a contar da data da receção da amostra^{47,48}.

CONCLUSÃO

A determinação forense de etanol é solicitada, maioritariamente, no âmbito do Código da Estrada, isto é, na sequência da fiscalização da condução por entidades fiscalizadoras, em contraprova solicitada pelo indivíduo em questão ou na sequência de acidente de viação. Poderá, ainda, ser solicitada no âmbito da atividade laboral, caso esta determinação conste da política de segurança e saúde da entidade empregadora, ou na sequência da atividade pericial da Unidade Funcional de Clínica Forense, que envolve a avaliação do estado de influenciado pelo álcool em situações que constituem crime no âmbito do direito penal, nomeadamente agressões, violência doméstica, abusos sexuais, entre outros. A determinação *post-mortem* de etanol é particularmente relevante em situações de morte violenta ou de causa ignorada, em acidentes fatais rodoviários e de trabalho, de forma a determinar a relevância da TAS na etiologia da morte do indivíduo. Contudo, apresenta dificuldade acrescida na interpretação dos resultados obtidos, devido à eventual formação *post-mortem* de etanol por fermentação, degradação do etanol por microrganismos e difusão *post-mortem*^{25,35}.

O etanol é o agente responsável pela intoxicação, logo os efeitos patológicos estão, naturalmente, relacionados com a sua concentração nos tecidos. Esta situação aliada à capacidade de se distribuir rapidamente pela água total do organismo, permitindo a colheita do mesmo em diversos fluidos, e a elevada sensibilidade e especificidade das medições constituem as vantagens da utilização do etanol como objeto da determinação. No entanto, o etanol apresenta um tempo de semivida curto, pois é rapidamente metabolizado, e as suas concentrações variam nos diferentes fluidos e tecidos do organismo⁵⁶.

O sangue periférico é a amostra de eleição para a determinação forense de etanol *in vivo* e *post-mortem* e o HS-GC/FID o método *standard* neste tipo de determinação, pois é um método cuja preparação é simples e rápida, e que permite a deteção e quantificação simultânea do etanol. Do procedimento analítico constam: a preparação da amostra, a preparação de uma curva de calibração, preparação de controlos e branco de reagentes. A incorporação dos controlos na sequência analítica permite definir critérios de aceitação de resultados e avaliar a exatidão da calibração. A preparação e escolha dos calibradores, controlos e branco, assim como a seleção dos critérios de aceitação dos resultados e respetivo cálculo é definido pelo laboratório que realiza o ensaio, variando de laboratório para laboratório, de acordo com o procedimento de ensaio instituído, mantendo sempre por base o mesmo princípio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

13. Manual da qualidade (MQ-SQTF-C Rev05) - documento interno aprovado para o Serviço de Química e Toxicologia Forenses Delegação Centro do INMLCF, I.P.
16. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. - Missão. [Consultado a 3 de julho de 2018]. Disponível em: http://www.inmlcf.mj.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=122&Itemid=288
17. Portaria n.º19/2013 de 21 de janeiro dos Ministérios das Finanças e da Justiça. Diário da República: I série, N.º14. [Consultado a 15 de maio de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/port/19/2013/01/21/p/dre/pt/html>
19. Documentos internos aprovados para o Serviço de Química e Toxicologia Forense do INMLCF, I.P.: Procedimento de Ensaio de Quantificação de Etanol no sangue (PE-SQTF-C-401 Rev02); Procedimento Operacional Controlo de Qualidade Interno (PO-SQTF-C-008 Rev02); Procedimento Operacional Avaliação, Cálculo e Expressão de Resultados (PO-SQTF-C-009 Rev02).
23. Despacho n.º3652/99 (2ª série) de 9 de fevereiro do Secretário de Estado da Justiça - Ministério da Justiça. Diário da República: II série, N.º45. [Consultado a 14 de maio de 2018]. Disponível em: <http://www.inmlcf.mj.pt>
25. JICKELLS, S.; NEGRUSZ, A. - Clarke's Analytical Forensic Toxicology. London: Pharmaceutical Press, 2013. ISBN: 978 0 85369 705 3. p.191, 202-211, 309-313, 505-506.
26. SCHUCKIT, M. A. - Ethanol and methanol. In: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMAN, B. C. - Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2011. ISBN: 9780071624428. p. 629–641.
27. MELLO, M.L.M. DE; BARRIAS, J.C.; BREDÁ, J. J. - Álcool e Problemas Ligados ao Álcool em Portugal. Lisboa: DGS, 2001. ISBN: 972-9425-93-0. p.11-80.
28. SERVIÇO DE INTERVENÇÃO NOS COMPORTAMENTOS ADITIVOS E NAS DEPENDÊNCIAS (SICAD). - Álcool: Resumo. Lisboa: SICAD, [Consultado a 29 de junho de 2018]. Disponível em: <http://www.sicad.pt>
29. CHAN, L.N.; ANDERSON, G.D. - Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Drug Interactions with Ethanol (Alcohol). Clin. Pharmacokinet. 53, (2014) 1115–1136.
30. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. - Detecção Precoce e Intervenção Breve no Consumo Excessivo de Álcool. Norma da Direção-Geral da Saúde n.º30/2012 de 28 de Dezembro de 2012 atualizada a 18 de Dezembro de 2014.

31. GOULLÉ, J.P.; GUERBET, M. - Éthanol: pharmacocinétique, métabolisme et méthodes analytiques. *Ann. Pharm. Fr.* 73, (2015) 313–322.
32. ANDERSON, P.; MOLLER, L.; GALEA, G. - Alcohol in the European Union: Consumption, harm and policy approaches. World Health Organization (2012).
33. WORLD HEALTH ORGANIZATION. - Management of substance abuse: Alcohol. WHO, [Consultado a 29 de julho de 2018]. Disponível em: http://www.who.int/substance_abuse/facts/alcohol/en/.
34. SERVIÇO DE INTERVENÇÃO NOS COMPORTAMENTOS ADITIVOS E NAS DEPENDÊNCIAS (SICAD); DIREÇÃO DE SERVIÇOS DE MONITORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO (DMI); DIVISÃO DE ESTATÍSTICA E INVESTIGAÇÃO (DEI). - SINOPSE ESTATÍSTICA 2016 - Álcool. Lisboa: SICAD, DMI, DEI (2016).
35. JONES, A.W. - Alcohol: Analysis. In: JAMIESON, A.; MOENSSENS, A. - Wiley Encyclopedia of Forensic Science. John Wiley & Sons, Ltd, 2009. ISBN: 9780470061589.
36. Lei n.º72/2013 de 3 de setembro da Assembleia da República. Diário da república: I série, N.º 169. Procede à décima terceira alteração ao Código da Estrada, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 114/94, de 3 de maio, e primeira alteração ao Decreto-Lei n.º 44/2005.
37. DINIS-OLIVEIRA, R.J.; NUNES, R.; CARVALHO, F.; SANTOS, A.; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, D.N.; MAGALHÃES, T. - Procedimentos Técnicos, Éticos e Legais da Competência do Médico no Cumprimento da Lei da Fiscalização da Condução Rodoviária sob Influência do Álcool e Substâncias Psicotrópicas. *Acta Med Port* 2010; 23: 1059-1082.
38. O'NEIL, M.J. - The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 14th Edition. Whitehouse Station NJ: Merck, 2006. ISBN: 978-0-911910-00-1. p.3758-3761.
39. Nutrients Review.com. - Alcohol (Ethanol) Chemical and Physical Properties. e <https://goo.gl/images/Qeu1MU> [Consultado em agosto de 2018]. Disponível em: <http://www.nutrientsreview.com/alcohol/definition-physical-chemical-properties.html>.
40. MOURA, D. - ETANOL. In: GUIMARÃES, S.; MOURA, D.; SILVA, P.S.DA. - Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas. 6ª edição. Porto Editora, S.A., 2006. ISBN: 978-972-0-01794-9. p. 148-153.
41. MASTERS, S.B. - Alcohols. In: KATZUNG, B.G.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. - Basis and Clinical Pharmacology. 12th edition. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2012. ISBN: 9780071764018. p.390-395.

42. PERRY, P.J.; DOROUDGAR, S.; VAN DYKE, P. - Ethanol Forensic Toxicology. *J. Am. Acad. Psychiatry Law.* 45, (2017) 429–438.
43. CEDERBAUM, A.I. - Alcohol Metabolism. *Clin. Liver Dis.* 16, (2012) 667–685.
44. VIEIRA, J.M.F. – Metabolismo do Etanol. Tese de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade Ciências da Saúde. Porto, 2012.
45. JONES, A.W. - Alcohol. In: JAMIESON, A.; MOENSSENS, A. - *Wiley Encyclopedia of Forensic Science.* John Wiley & Sons, Ltd, 2009. ISBN: 9780470061589.
46. MONTEIRO, C.; PROENÇA, P.; TAVARES, C.; CASTAÑERA, A.; CORTE REAL, F. - Interference of anesthetics in blood alcohol analysis by HS-GC-FID: A case report. *Forensic Sci. Int.* 265, (2016) 65–69.
47. Portaria n.º902-B/2007 de 13 de agosto dos Ministérios da Administração Interna, da Justiça e da Saúde. *Diário da República: I série, N.º155* [Consultado a 24 de março de 2018]. Disponível em: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/507612/details/norma>.
48. Lei n.º18/2007 de 17 de maio da Assembleia da República. *Diário da República: I série, N.º95.* [Consultado a 24 de março de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/lei/18/2007/05/17/p/dre/pt/html>
49. DINIS-OLIVEIRA, R.J.; CARVALHO, F.; DUARTE, J.A; REMIÃO, F.; MARQUES, A.; SANTOS, A.; MAGALHÃES, T. - Collection of biological samples in forensic toxicology. *Toxicol. Mech. Methods.* 20, 7 (2010), 363–414.
50. CASTRO, M.F.; CLETO, C.R.; SILVA, N.T. - Segurança e saúde no trabalho e a Prevenção do consumo de substâncias psicoativas: Linhas orientadoras para intervenção em meio laboral. Lisboa: Instituto da Droga e da Toxicodependência (IDT) e Autoridade para as Condições no Trabalho (ACT). Lisboa, Novembro 2011. ISBN: 978-989-8076-76-2.
51. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. - Clínica Forense. [Consultado a 26 de junho de 2018]. Disponível em: http://www.inmlcf.mj.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=181:clinica-forense&catid=45&Itemid=299
52. KUGELBERG, F.C.; JONES, A.W. - Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature. *Forensic Sci. Int.* 165, 2007, 10–29.
53. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. - Norma Procedimental: Recomendações para Colheita e Acondicionamento de Amostras em Toxicologia Forense (NP-INMLCF-009-Rev.01). 2013. [Consultado a 14 de Maio de 2018]. Disponível em: <http://www.inmlcf.mj.pt>

54. Lei n.º45/2004 de 19 de agosto da Assembleia da República. Diário da República: I série-A, N.º195. [Consultado a 14 de maio de 2018]. Disponível em: <http://data.dre.pt/eli/lei/45/2004/08/19/p/dre/pt/html>
55. Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências (SICAD); Direção de Serviços de Monitorização e Informação (DMI); Divisão de Estatística e Investigação (DEI). - Relatório Anual 2016: A Situação do País em Matéria de Álcool. Lisboa: SICAD, 2017. [Consultado a]. Disponível em: <http://www.sicad.pt>
56. OPPOLZER, D.; BARROSO, M.; GALLARDO, E. - Bioanalytical procedures and developments in the determination of alcohol biomarkers in biological specimens. *Bioanalysis* 8, (2016) 229–251.
57. SCHLATTER, J.; CHIADMI, F.; GANDON, V.; CHARLOT, P. - Simultaneous determination of methanol, acetaldehyde, acetone, and ethanol in human blood by gas chromatography with flame ionization detection. *Hum. Exp. Toxicol.* 33, (2013) 74–80.
58. JONES, A. W. Blood-alcohol analysis by gas chromatography: Fifty years of progress. in *TIAFT: our first 50 years* (Academia Press, 2018). 145–164.
59. BOSWELL, H., DORMAN, F., LYNAM, K. - Determine Blood Alcohol With Dual Column/Dual FID For Precision and Reproducibility. USA: Agilent Technologies Inc. (2013)1-8.
60. TISCIONE, N.B.; ALFORD, I.; YEATMAN, D.T.; SHAN, X. - Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection. *Journal of Analytical Toxicology.* 35, (2011) 501–511.
61. TAGLIARO, F.; LUBLI, G.; GHIELMI, S.; FRANCHI, D.; MARIGO, M. - Chromatographic methods for blood alcohol determination. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 580, (1992) 161–190.
62. COMMITTEE OF SYSTEMATIC TOXICOLOGICAL ANALYSIS, TIAFT. - Laboratory Guidelines. [Consultado a 28 de junho de 2018]. Disponível em: <http://www.tiaft.org/tiaft-guidelines.html>
63. O'NEAL, C.L.; WOLF II, C.E.; LEVINE, B.; KUNSMAN, G.; POKLIS, A. - Gas chromatographic procedures for determination of ethanol in postmortem blood using t-butanol and methyl ethyl ketone as internal standards. *Forensic Sci. International.* 83, (1996) 31–38.

ANEXO 2

Requisição de Análises Toxicológicas Forenses (gentilmente cedido pelo SQTf-C).



INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA LEGAL E CIÊNCIAS FORENSES, I.P.
 DELEGAÇÃO DO CENTRO
 SERVIÇO DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSES

REQUISIÇÃO DE ANÁLISES TOXICOLÓGICAS FORENSES

Instituição requisitante: _____

SACO DE TRANSPORTE N.º A B

IDENTIFICAÇÃO

Processo n.º _____ Nome Sem informação - teste _____ Desc.

Sexo M F Idade _____ Data da morte _____ Profissão _____

ETIOLOGIA MÉDICO-LEGAL PRESUMIDA

Ac.viação Condutor Passageiro Peão Desconhecido

Ac.doméstico ou de lazer Ac.trabalho Homicídio Suicídio Desconhecida Outra _____

CAUSA PROVÁVEL DE MORTE

Suspeita de intoxicação (Indique, sempre que possível, as substâncias envolvidas)

Asfixia mecânica Lesão traumática Morte natural Desconhecida

RISCO INFECTO-CONTAGIOSO

Sida Hepatite Tuberculose Ignorado

OUTRAS INFORMAÇÕES

Toxicod dependência Sim Não Ignorado Intern. Hospitalar: Sim Não Duração: _____

Medicação _____

INFORMAÇÕES DA AUTÓPSIA

AMOSTRAS ENVIADAS

Sangue da cav. cardíaca Sangue periférico Urina Humor vítreo Cont. gástrico Bólis

Órgãos Quais? _____

ANÁLISES PRETENDIDAS

Álcool etílico Monóxido de carbono Drogas de abuso (1) Medicamentos (1) Pesticidas (1)

(1) Mencione, sempre que possível, o composto ou grupos de compostos pretendidos Outras. Quais? _____

IDENTIFICAÇÃO DO PERITO

Nome _____ Rubrica _____ Data _____ 2 0 _____

CONTACTO

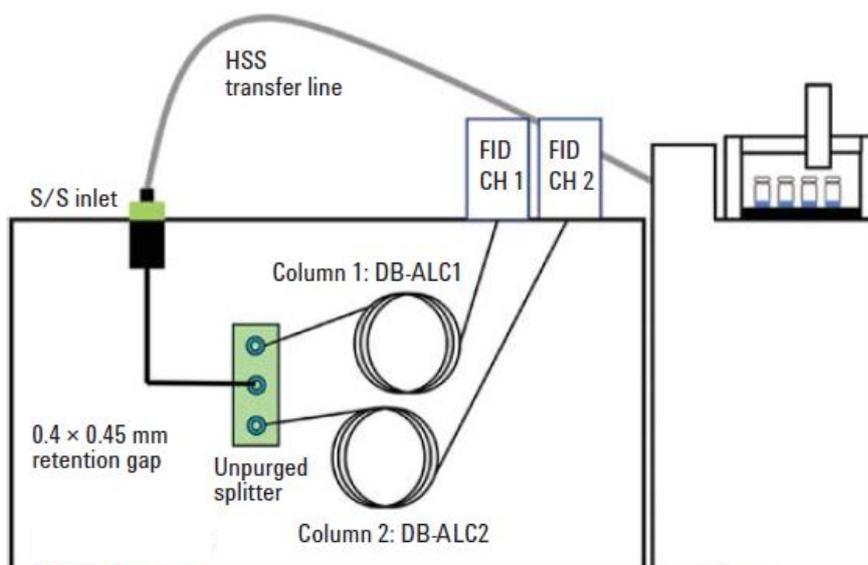
Endereço _____

Telefone (extensão interna) _____ Fax _____ Email _____

Contém informações no verso. (Acrecente no verso desta folha informações sobre o caso que considere relevantes)

ANEXO 3

Configuração do HS-GC-FID com duas colunas cromatográficas e dois detetores FID. Adaptado de: BOSWELL, H., DORMAN, F., LYNAM, K. - DETERMINE BLOOD ALCOHOL WITH DUAL COLUMN/DUAL FID FOR PRECISION AND REPRODUCIBILITY. USA: AGILENT TECHNOLOGIES INC. (2013)1-8.



ANEXO 4

Esquema de preparação da amostra.



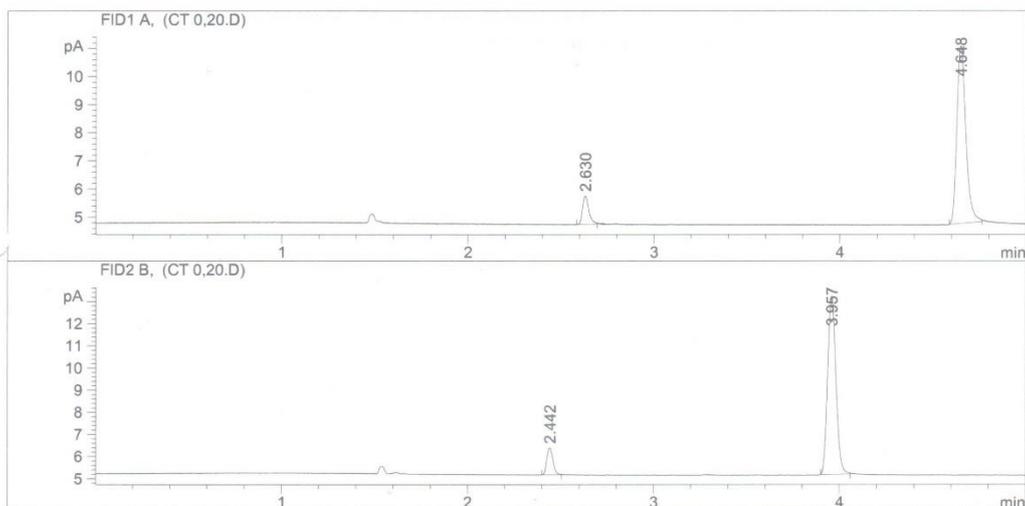
ANEXO 5

Cromatograma com resultado positivo (obtido no SQTf-C).

Data File C:\CHEM32\1\DATA\TRABALHO SARA\ROTINA_TSARA 2018-06-11 11-17-40\CT 0,20.D
 Sample Name: Ct 0.20

```

=====
Acq. Operator   : SARA                      Seq. Line :    1
Acq. Instrument : Instrument 1              Location  : Vial 1
Injection Date  : 11-Jun-18, 11:29:08      Inj       :    1
                                           Inj Volume: Manually
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\TRABALHO SARA\ROTINA_TSARA 2018-06-11 11-17-40\
                ROTINA_TSARA.S
Method          : C:\Chem32\1\DATA\TRABALHO SARA\ROTINA_TSARA 2018-06-11 11-17-40\
                PE-401-02.M
Last changed    : 6/6/2018 10:21:15 AM by Carla
Method Info     : Split = 20 ml/min + HSS 26 ml/min
=====
  
```



Internal Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 6/6/2018 10:20:52 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
 Sample ISTD Information:

ISTD #	ISTD Amount [g/L]	Name
1	1.00000	PIB
2	1.00000	PIA

1	1.00000	PIB
2	1.00000	PIA

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [g/L]	Grp	Name
2.630	BB	2	2.36765	1.80852	2.03078e-1		EtanolA
4.648	BB	I 2	21.08520	1.00000	1.00000		PIA

Totals without ISTD(s) : 2.03078e-1

Data File C:\CHEM32\1\DATA\TRABALHO SARA\ROTINA_TSARA 2018-06-11 11-17-40\CT 0,20.D
Sample Name: Ct 0.20

Signal 2: FID2 B,

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [g/L]	Grp	Name
2.442	BB	1	2.79050	1.77501	1.97509e-1		EtanolB
3.957	BB	I 1	25.07821	1.00000	1.00000		PIB

Totals without ISTD(s) : 1.97509e-1

=====
*** End of Report ***