



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Alcoolemia em vítimas fatais de acidentes de trânsito no
Rio Grande do Norte empregando cromatografia em fase
gasosa - head space**

EDNA DE FARIAS SANTIAGO

NATAL

2008

EDNA DE FARIAS SANTIAGO

**Alcoolemia em vítimas fatais de acidentes de trânsito no
Rio Grande do Norte empregando cromatografia em fase
gasosa - head space**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Bioanálises.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vitória de Moura

NATAL
2008

EDNA DE FARIAS SANTIAGO

**Alcoolemia em vítimas fatais de acidentes de trânsito no
Rio Grande do Norte empregando cromatografia em fase
gasosa - head space**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Bioanálises.

Aprovado em : ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria de Fátima Vitória de Moura – UFRN

Prof. Dr. José Melo de Carvalho – UFRN

Profa. Dra. Aline Schwarz – UFRN

Profa. Dra. Maria Beatriz Abreu Glória - UFMG

NATAL
2008

Aos meus pais

Antônio Felipe Santiago e Tereza de Farias Santiago,

Por me mostrarem o caminho ao longo da vida, guiando meus passos e me conduzindo pelos caminhos corretos.

Ao meu esposo

Aldsmythys Pinheiro da Costa Cruz,

Por compreender a minha ausência e mesmo distante está sempre presente ao meu lado, me apoiando, me incentivando e contribuindo de forma significativa para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, que me deu forças e me fez superar as dificuldades, sem sua ajuda, nada seria possível;

A minha **família**, pela confiança, pelo incentivo e amor incondicional em todos os momentos;

A **Teresa Cristina Epifânio Diógenes Rego**, minha AMIGA e parceira, por sua força, amizade e companheirismo, compartilhando comigo os bons e os maus momentos na realização deste trabalho;

À **Profa. Dra. Maria de Fátima Vitória de Moura**, por orientar este estudo e conduzir seu desenvolvimento com coragem e paciência, e pelo apoio e incentivo ao longo do trabalho;

Ao **Prof. Ms. George Queiroz de Brito**, pelo apoio constante, importantes sugestões e revisão do trabalho escrito;

À **Profa. Dra. Teresa Neuma de Castro Dantas**, por sua valiosa contribuição, disponibilizando o equipamento para realização das análises, assim como a toda a sua equipe, pelo o acolhimento e apoio, em especial à Kalline, Alcides, Rafaela, Cláudia, Kátia, Elaine, Keila e Verônica;

Ao **Prof. Dr. José Melo de Carvalho**, pelo incentivo, apoio e compartilhamento dos conhecimentos;

A **Thyrone Barbosa Domingos**, pela transmissão de conhecimentos, apoio técnico e disposição em orientar no uso do equipamento;

Aos responsáveis pelo Laboratório Integrado de Análises Clínicas (LIAC) – DACT/UFRN, pela disponibilização da sala de coleta;

Ao **Prof. Cícero Flávio Soares de Aragão**, pela disponibilização do Laboratório de Controle de Qualidade para a preparação das soluções de trabalho;

Ao **Prof. Marcos Eugênio Cury de Medeiros**, do Departamento de Estatística, pelo auxílio na análise estatística dos dados;

Ao Bibliotecário **João Bosco de Medeiros**, pela normalização deste trabalho e importantes recomendações;

A **Ângela** e toda equipe de alunos da Química Analítica, pela amizade e pela colaboração;

Às famílias das vítimas que perderam suas vidas nos acidentes de trânsito, por autorizarem a utilização das amostras para a realização desta pesquisa. Que elas não sejam apenas números compondo as estatísticas, mas um exemplo do efeito devastador do álcool sobre a vida, conscientizando a população da trágica combinação álcool e direção.

Ao **Dr. Múcio Pereira de Oliveira**, coordenador de Medicina Legal, por autorizar a utilização de amostras coletadas no ITEP;

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho;

Meus agradecimentos.

“Deus permitiu a existência das quedas d'água para aprendermos quanta força de trabalho e renovação podemos extrair de nossas próprias quedas”.

(Autor desconhecido)

RESUMO

O álcool é uma das poucas drogas psicotrópicas que tem seu consumo admitido legalmente e, às vezes, incentivado pela sociedade. Estudos mostram o álcool como a droga de maior consumo entre os jovens e na sociedade de forma geral, provavelmente devido à sua disponibilidade e fácil acesso. O uso abusivo provoca problemas de saúde pública, estando ele estreitamente relacionado com a violência, problemas sócio-econômicos e com o elevado número de acidentes automobilísticos. O trânsito é um dos principais setores afetados pelos efeitos do álcool, observando-se alta incidência nos estudos realizados. Aproximadamente metade dos acidentes automobilísticos ocorre após o consumo de bebida alcoólica, estando a grande maioria dos casos relacionados com altas concentrações de álcool na circulação sanguínea. A relação da embriagues com os acidentes de trânsito é fato notório em toda parte do mundo, inclusive no Brasil, onde estudos demonstraram uma alta relação entre o consumo de álcool e os acidentes de trânsito. Este trabalho determinou a alcoolemia em vítimas fatais de acidente de trânsito no Estado do Rio Grande do Norte e estabeleceu o perfil desta população comparando com aqueles encontrados no Brasil e em outros países. Foram utilizadas amostras de sangue adicionadas de etanol para realização da padronização das condições cromatográficas e dos procedimentos de análise, sendo empregado na determinação da alcoolemia em amostras de sangue de 277 vítimas de acidente de trânsito, coletadas no Instituto Técnico Científico de Polícia do Rio Grande do Norte (ITEP) no ano de 2007. O nível de alcoolemia determinado nestas amostras foi correlacionado com o sexo, idade e estado civil da vítima e com a localização, dia da semana e mês em que os acidentes ocorreram, fazendo-se uma análise estatística e traçando um perfil das vítimas de acidente de trânsito no estado do Rio Grande do Norte. Os parâmetros de padronização estudados asseguraram a qualidade do método analítico e, conseqüentemente, a obtenção de resultados laboratoriais confiáveis. Sendo determinado as melhores temperaturas para injetor (150°C), detector (250°C) e coluna (50°C), com um fluxo de gás na coluna de 2mL/minutos e tempo de análise de 12 minutos. O método foi linear no intervalo de 0,01 a 3,2 g/L ($r^2 = 0,9989$), com recuperação média de 100,2% e precisão com coeficiente de variação menor que 15%. As análises realizadas em vítimas fatais de acidente de trânsito, detectaram etanol no sangue em 66,43% das vítimas e destas, 96% apresentaram concentração $\geq 0,2$ g/L; 87,73% das vítimas eram do sexo masculino, enquanto que 12,27% do sexo feminino. A faixa etária jovem (15-35 anos) foi a mais envolvida (52,35%) sendo a maioria solteira (55,60%). Os acidentes aconteceram com maior prevalência nos dias de segunda-feira (27%), seguido do domingo (24,19%) e sábado (15,52%) e constatou-se que a prevalência de acidentes oscilou entre os diferentes meses do ano, sendo fevereiro (14,4%) e abril (10,47%) os meses que apresentaram um maior número de acidentes, contudo esta oscilação não apresentou diferença estatisticamente significativa. Também não foi observado diferença significativa entre as faixas de concentração encontradas nos homens e nas mulheres. O método padronizado demonstrou-se eficiente, atendendo satisfatoriamente aos objetivos deste trabalho; e os níveis elevados de alcoolemia encontrados nas vítimas fatais de acidente de trânsito são coincidentes com vários estudos da literatura, sendo o perfil da vítima também compatível, apresentando-se em sua maioria adultos jovens, do sexo masculino e solteiros.

Palavra-chave: acidentes de trânsito, alcoolemia, Cromatografia em fase gasosa.

ABSTRACT

Alcohol is one of the few psychotropic drugs that their consumption has admitted legally and sometimes encouraged by the society. Studies show alcohol as the highest consumption of drugs among young people and society in general, probably because of its availability and easy access. The abuse causes public health problems, which was closely related to the violence, socio-economic problems and the high number of automobile accidents. Transit is one of the main sectors affected by the effects of alcohol, observing a high incidence in the studies. About half of automobile accidents occurs after the consumption of alcoholic beverage, and the vast majority of cases related to high concentrations of alcohol in the bloodstream. The relationship of drunk with traffic accidents is in fact evident everywhere in the world, including Brazil, where studies have shown a high relationship between alcohol consumption and traffic accidents. This study determined the alcohol in fatal victims of traffic accidents in the state of Rio Grande do Norte and established the profile of this population compared with those found in Brazil and other countries. Samples of blood of ethanol added to fulfillment of the standardization of chromatographic conditions and procedures for the analysis, being employed in the determination of alcohol in blood samples of 277 victims of traffic accidents, collected at the Institute of Scientific Technical Police of Rio Grande do North (ITEP) in the year 2007. The blood alcohol level was determined in these samples correlated with the sex, age and marital status of the victim and the location, day of week and month when the accident occurred, is doing a statistical analysis and outlining a profile of the victims of an accident at transit in the state of Rio Grande do Norte. The parameters of standardization studied ensured the quality of the analytical method and, consequently, to obtain reliable laboratory results. Being given the best temperature for injector (150 °C), detector (250 °C) and column (50 °C) with a flow of gas in the column of 2mL/minutos and analysis of time of 12 minutes. The method was linear in the range of 0.01 to 3.2 g / L ($r^2 = 0.9989$) with average recovery of 100.2% and precision with coefficient of variation less than 15%. The analysis carried out on victims of fatal road traffic accidents, ethanol detected in the blood in 66.43% of the victims and these, 96% showed concentration ≥ 0.2 g / L, 87.73% of victims were male, while 12.27% female. The younger age group (15-35 years) was the most involved (52,35%) and most single (55.60%). The accidents occurred with greater prevalence in the day on Monday (27%) followed by Sunday (24,19%) and Saturday (15,52%) and it was found that the prevalence of injuries varied between the different months of the year, and in February (14.4%) and April (10.47%) the months that had a higher number of accidents, however this oscillation showed no statistically significant difference. Also no significant difference was observed between the tracks of concentration found in men and women. The standardized method showed to be efficient, given satisfactorily to the goals of this work, and the high levels of alcohol found in victims of fatal road traffic accidents are consistent with several studies of literature, and the profile of the victim also supported by presenting in its most young adults, male and single.

Key Words: Traffic accidents, Blood alcohol concentration, Gas chromatography

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Vias de biotransformação do etanol no organismo humano -----	22
FIGURA 2 – Cromatograma obtido com a análise por CG-FID-HS de sangue adicionado de etanol a 0,2 g/L e t-butanol a 0,3 g/L -----	47
FIGURA 3 – Representação gráfica da linearidade entre concentração de etanol e relação de área dos picos cromatográficos (Etanol/t-butanol) -----	48
FIGURA 4 – Representação gráfica da curva de calibração -----	49
FIGURA 5 – Gráfico de distribuição das alcoolemias positivas e negativas em vítimas fatais de acidente de trânsito, RN, Brasil, 2007 -----	51
FIGURA 6 – Gráfico dos níveis de alcoolemia dos casos positivos considerando dois níveis de concentração, RN, Brasil, 2007 -----	52
FIGURA 7 – Gráfico de frequência dos casos positivos em relação aos níveis de alcoolemia, RN, Brasil, 2007 -----	53
FIGURA 8 – Gráfico de frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais de acordo com o sexo, RN, Brasil, 2007 -----	54
FIGURA 9 – Gráfico da frequência de vítimas fatais de acidente de trânsito em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007 -----	55
FIGURA 10 – Gráfico de frequência de acidente de trânsito com vítimas fatais em relação ao estado civil, RN, Brasil, 2007 -----	56
FIGURA 11 – Gráfico de frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007 -----	57
FIGURA 12 – Gráfico de frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao dia da semana, RN, Brasil, 2007 -----	58
FIGURA 13 - Gráfico de frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao local de ocorrência -----	59
FIGURA 14 – Gráfico da frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação à alcoolemia positiva e negativa, RN, Brasil, 2007 -----	60
FIGURA 15 – Gráfico de frequência do estado civil das vítimas em relação à alcoolemia, RN, Brasil, 2007 -----	61
FIGURA 16 – Gráfico de frequência das alcoolemias positivas e negativas em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007 -----	62
FIGURA 17 – Gráfico de frequência do estado civil das vítimas em relação ao sexo, RN,	

Brasil, 2007 -----	63
FIGURA 18 – Gráfico de freqüência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação as diferentes concentrações, RN, Brasil, 2007-----	64
FIGURA 19 – Gráfico de freqüência das vítimas do sexo masculino e feminino em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007 -----	65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Efeitos do consumo de álcool em um indivíduo que não desenvolveu tolerância -----	24
TABELA 2 – Condições cromatográficas padronizadas -----	47
TABELA 3 – Recuperação de etanol adicionado em amostras de sangue empregando as condições cromatográficas e o procedimento analítico padronizado -----	49
TABELA 4 – Coeficiente de variação intra-ensaios das concentrações sanguíneas de etanol em amostras adicionadas -----	50
TABELA 5 – Coeficiente de variação intra-ensaios das concentrações sanguíneas de etanol em amostras adicionadas -----	50
TABELA 6 – Frequência dos resultados com alcoolemia positiva e negativa em vítimas fatais de acidente de trânsito, RN, Brasil, 2007 -----	50
TABELA 7 – Frequência dos casos com alcoolemia positiva considerando dois níveis de concentração, RN, Brasil, 2007 -----	51
TABELA 8 – Frequência dos casos com alcoolemia positiva considerando os diferentes níveis de concentração, RN, Brasil, 2007 -----	52
TABELA 9 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação sexo, RN, Brasil, 2007 -----	53
TABELA 10 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007 -----	54
TABELA 11 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao estado civil, RN, Brasil, 2007 -----	55
TABELA 12 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007 -----	57
TABELA 13 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao dia da semana, RN, Brasil, 2007 -----	58
TABELA 14 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao local de ocorrência, RN, Brasil, 2007 -----	59
TABELA 15 – Frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação à alcoolemia positiva e negativa, RN, Brasil, 2007-----	60

TABELA 16 – Idade média das vítimas do sexo masculino e feminino com relação à alcoolemia ao sexo, RN, Brasil, 2007 -----	60
TABELA 17 – Frequência do estado civil das vítimas em relação à alcoolemia RN, Brasil, 2007 -----	61
TABELA 18 – Frequência das alcoolemias positivas e negativas em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007, RN, Brasil, 2007 -----	62
TABELA 19 – Frequência do estado civil das vítimas em relação ao sexo, RN, Brasil, 2007 -----	63
TABELA 20 – Frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação as diferentes faixas de concentrações, RN, Brasil, 2007 -----	64
TABELA 21 – Frequência das vítimas do sexo masculino e feminino em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007 -----	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- **ADH:** álcool Desidrogenase
- **ALDH:** aldeído Desidrogenase
- **ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- **ATP:** Adenosina Trifosfato
- **CG:** Cromatografia em Fase Gasosa
- **CG-FID-HS:** Cromatografia em fase Gasosa acoplada ao Detector de Ionização de Chama utilizando a técnica de separação por *Head Space*
- **CID:** Classificação Internacional de Doença
- **CTB:** Código de Trânsito Brasileiro
- **CV:** Coeficiente de Variação
- **DENATRAN:** Departamento Nacional de Trânsito
- **DL₅₀:** Dose Letal Média
- **GABA:** Ácido Gama-Aminobutírico
- **HS:** *Head Space*
- **ICH:** International Conference on Harmonization
- **ITEP:** Instituto Técnico Científico de Polícia
- **SNC:** Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	175
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. ETANOL.....	19
2.1.1. Toxicocinética	20
2.1.2. Mecanismo de ação.....	22
2.1.3. Toxicidade.....	23
2.1.4. Tolerância e dependência.....	30
2.1.5. Síndrome de abstinência	31
2.2. ASPECTOS SOCIAIS, ECONÔMICOS E LEGAIS RELACIONADOS AO CONSUMO DE BEBIDA ALCOÓLICA	32
2.3. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ETANOL.....	36
2.3.1. Cromatografia.....	38
2.3.2. Técnica de <i>head space</i>	39
3. OBJETIVO	41
3.1. OBJETIVO GERAL	42
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
4. MATERIAL E MÉTODO	43
4.1. MATERIAL	44
4.1.1. Amostra.....	44
4.1.1.1. Sangue de voluntários	44
4.1.1.2. Sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito.....	44
4.1.2. Soluções-padrão.....	44
4.1.2.1. Soluções-estoque.....	45
4.1.2.2. Soluções de trabalho	45
4.1.3. Equipamentos e acessórios.....	45
4.1.4. Reagentes e outros materiais	46
4.2. MÉTODOS.....	46
4.2.1. Padronização das condições cromatográficas	46
4.2.1.1. Otimização dos parâmetros cromatográficos.....	46

4.2.1.2. Estudo da linearidade da técnica.....	47
4.2.1.3. Curvas de calibração	47
4.2.1.4. Estudo da recuperação do método.....	47
4.2.1.5. Avaliação da precisão do método	47
4.2.2. Procedimento para separação do etanol pela técnica de <i>head space</i>	48
4.2.3. Determinação de etanol em amostras de vítimas fatais de acidente de trânsito.....	48
4.2.4. Análise estatística	49
5. RESULTADOS.....	50
5.1. PADRONIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	51
5.1.1. Otimização dos parâmetros cromatográficos	51
5.1.2. Estudo da linearidade da técnica	52
5.1.3. Curva de calibração	52
5.1.4. Estudo da recuperação do método	53
5.1.5. Avaliação da precisão do método.....	54
5.2. DETERMINAÇÃO DE ALCOOLEMIA EM VÍTIMAS DE ACIDENTE DE TRÂNSITO	54
6. DISCUSSÕES.....	72
7. CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS.....	81
APÊNDICE.....	89

1. INTRODUÇÃO

O consumo de álcool é um dos hábitos sociais mais antigos e disseminados entre a população, estando associado a ritos religiosos e festivos, sendo uma das poucas drogas psicotrópicas que tem seu consumo admitido legalmente e até incentivado pela sociedade. Estudos mostram o álcool como a droga de maior consumo entre os jovens e na sociedade de forma geral, provavelmente devido à sua disponibilidade e fácil acesso (TROIS et al., 1997, BAU, 2002).

Desde o início do consumo de bebidas alcoólicas nas diferentes sociedades, os efeitos do álcool sobre o indivíduo e sua capacidade de alterar o comportamento já eram conhecidos. Nos países produtores de bebidas alcoólicas, cerca de 4 a 9% dos indivíduos com idade superior a 14 anos bebem excessivamente bebidas alcoólicas, ou seja, consomem diariamente uma média de 150 mL de etanol, consumo capaz de provocar inúmeros danos ao indivíduo, desde lesões orgânicas a problemas psicossociais e de saúde e segurança pública (LARINI; SALGADO, 1991, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

São vários os problemas relacionados ao consumo de álcool no Brasil, estando associado a 50% de todos os homicídios, mais de 30% dos suicídios e tentativas de suicídio, e a grande maioria dos acidentes de trânsito. (OLIVEIRA; LUIS, 1996, MINAYO; DESLANDES, 1998).

Vários estudos mostram a alta relação do consumo de bebidas alcoólicas com acidentes de trânsito, possuindo uma alta taxa de morbidade e mortalidade; tendo como principal consequência a perda total ou parcial dos reflexos, comprometendo a capacidade dos motoristas de conduzir com segurança qualquer veículo. Praticamente todos os casos estão relacionados às altas concentrações de álcool na circulação sanguínea e, apesar da heterogeneidade das estatísticas disponíveis no mundo, anualmente os acidentes de trânsito resultam em centenas de milhares de pessoas mortas e 15 milhões de feridos (TROIS, 1997, CARVALHO; LEYTON, 2000, BAKER, 2002).

As questões relacionadas com o uso abusivo de álcool e comportamentos de risco no trânsito são bem estudadas em vários países. Punições severas, responsabilização civil e criminal ao motorista embriagado são normas muito rígidas em todos os países desenvolvidos. No Brasil, a lei 11.705, de junho de 2008, diminui a concentração máxima estabelecida para as punições por embriagues no trânsito, tornando o código de trânsito mais severo, procurando diminuir a tolerância social em relação ao ato de beber e dirigir e com isto diminuir o grande número de acidentes relacionados ao consumo de álcool e os acidentes de trânsito (LEYTON et al., 2005, BRASIL, 2008).

Em face ao exposto, o presente trabalho teve como intuito determinar a concentração de álcool no sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito no Estado do Rio Grande do Norte, determinando o perfil das vítimas envolvidas através da utilização de uma metodologia confiável, permitindo aos órgãos competentes direcionar medidas preventivas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Etanol

O álcool é uma das substâncias psicoativas mais consumidas pela sociedade, sendo o seu uso estimulado em algumas situações, como em festas e comemorações. As bebidas alcoólicas têm sido utilizadas desde o início da história. Os primeiros relatos são datados de cerca de 6000 anos atrás, no antigo Egito e Babilônia. As primeiras bebidas alcoólicas eram fermentadas e possuíam um teor alcoólico relativamente baixo. No antigo Oriente Médio, quarto milênio antes de Cristo, as bebidas fermentadas já eram elementos pelos quais as elites emergentes controlavam a produção de bens, estabeleciam símbolo de *status* e praticavam o comércio entre populações distantes. Na idade média, os árabes introduziram a técnica de destilação na Europa para aumentar a concentração de álcool nas bebidas, com isto os alquimistas acreditaram que o álcool era o tão procurado elixir da vida, um remédio para quase todas as doenças, como pode ser percebido pela origem galênica do termo whisky que significa “água da vida” (HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996, BAU, 2002, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

No Brasil, antes da chegada dos Portugueses, os índios já produziam o cauim, uma bebida fermentada preparada a partir da mandioca cozida ou do suco de frutas. Com a chegada dos portugueses foram trazidos os vinhos, cervejas, aguardentes e outros destilados de alto teor alcoólico, que só eram consumidos pela alta sociedade. A instalação dos primeiros engenhos para a produção de açúcar de cana e aguardente tornou os destilados nacionais, obtidos da fermentação e destilação da borra do melaço, mais acessíveis para a população de menor poder aquisitivo (MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

O álcool pode ser proveniente de plantas de fácil cultivo como a cevada, uvas, grãos de cereais e outros que passaram por processos de fermentação ou destilação, tornando-se a droga psicoativa mais consumida de todos os tempos. O álcool presente nas bebidas utilizadas pelo homem é o álcool etílico (etanol) que foi descrito pela primeira vez em 1300, na idade média, tendo sua síntese ocorrido em 1854. O álcool etílico ou etanol é um líquido incolor, transparente, inflamável, de baixo peso molecular, hidrossolúvel, pertencente ao subgrupo das funções oxigenadas denominadas álcoois, com fórmula molecular C_2H_5OH , massa molecular 46,07 g/mol, densidade 0,789 g/cm³ e ponto de ebulição de 78,5°C (SCHVARTSMAN, 1991, OLIVEIRA; LUIS, 1996, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003, PORTARI, 2006).

As bebidas fermentadas são obtidas pela produção do etanol resultante da quebra de açúcares feita por alguns microorganismos, as leveduras. As bebidas alcoólicas com teor

maior que 14% são produzidas por meio de destilação. Neste processo a bebida fermentada é aquecida até o ponto em que o álcool é evaporado e separado da água; o álcool evaporado é então condensado e coletado, produzindo a bebida destilada. O produto final varia de acordo com a bebida fermentada que a originou como, por exemplo, o conhaque que é o destilado do vinho e o whisky, do malte. A concentração do álcool varia muito de bebida para bebida. A cerveja apresenta as mais baixas concentrações, por volta de 5%. Os vinhos variam de 9 a 12,5%, sendo os licores, aguardente e whiskies os mais altos, com concentração em torno de 40% (LARINI; SALGADO, 1993, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

2.1.1. Toxicocinética

- **Absorção**

A absorção do álcool é rápida no início do uso e declina posteriormente, mesmo que a concentração no estômago ainda esteja alta. Depois da ingestão oral do etanol, cerca de 20% é absorvido em nível de mucosa estomacal e o restante nas primeiras porções do intestino delgado. Vários fatores podem influenciar a absorção do álcool, entre esses fatores destaca-se o tipo de bebida e concentração alcoólica, o pH do meio, o conteúdo gástrico e motilidade gastrointestinal, o período gasto na ingestão da bebida, além de outros fatores fisiológicos individuais. No entanto o tempo de esvaziamento gástrico e o início da absorção intestinal podem ser considerados os principais fatores determinantes das taxas variáveis de absorção de álcool encontradas em diferentes indivíduos ou circunstâncias. Se o tempo de esvaziamento gástrico é retardado pela presença de alimentos, a absorção intestinal também o será. Uma vez no intestino delgado, o etanol é absorvido rápido e completamente, independente da presença de alimentos no intestino ou no estômago (RUZ et. al., 1986, LARINI; SALGADO, 1991, SCHVARTSMAN, 1991, HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996, FRANÇA, 1998, HADFIELD et al., 2001, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

- **Distribuição**

Após a absorção pela via digestiva, o álcool passa diretamente pela veia porta e para o fígado, indo à circulação sanguínea e linfática do organismo, onde vai ser distribuído pelos tecidos em geral, apresentando níveis teciduais semelhantes aos níveis plasmáticos. Por ser hidrossolúvel, o etanol distribui-se por praticamente todos os tecidos, intra ou extracelularmente, variando de acordo com a composição hídrica dos tecidos. A maior

concentração ocorre, em ordem decrescente, no sangue, cérebro, rins, pulmões, coração, paredes intestinais, músculos estriados e fígado, com baixos níveis nos ossos e tecido adiposo. Quando a dose ingerida ultrapassa a produção calórica o restante do álcool tende a se impregnar nos tecidos lipossolúveis, com predominância no cérebro, produzindo um efeito narcótico e cujo primeiro sintoma é a excitação seguida da depressão (SCHVARTSMAN, 1991, LARINI; SALGADO, 1993, HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996, FRANÇA, 1998, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

O volume de distribuição do etanol é de 0,6 a 0,7 L/Kg. Além de se distribuir por todo compartimento aquoso do organismo o etanol também atravessa bem as barreiras biológicas, inclusive hematoencefálica e placentária, atingindo o sistema nervoso central, causando distúrbios comportamentais e a circulação fetal, respectivamente (SCHVARTSMAN, 1991, LARINI; SALGADO, 1993, HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

- **Biotransformação e Excreção**

Cerca de 90 a 98% do etanol ingerido é biotransformado através da oxidação; somente 2 a 10% do etanol absorvido é eliminado inalterado ocorrendo esta eliminação principalmente através dos rins e pulmões. Diferente da maioria das substâncias, a taxa de oxidação do álcool segue uma cinética de ordem zero, ou seja, é relativamente constante ao longo do tempo e independe das suas concentrações plasmáticas. Um adulto biotransforma, em média cerca de 7 a 10 g de álcool em uma hora ou 30mL de Uísque com teor alcoólico de 40% em 3 horas. A taxa de eliminação é de 15 a 30 mg/dL/h e a DL₅₀ é estimada em 5 a 8 g/Kg em adultos e 3 g/Kg em crianças (SCHVARTSMAN, 1991, LARINI; SALGADO, 1993, SOUZA JÚNIOR; MOURA, 1993, HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996 CORRÊA, 1997, BAU, 2002, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

A biotransformação do álcool pode ocorrer por três vias, através da álcool-desidrogenase (ADH), do sistema de oxidação microssômico, ou da catalase, sendo esta última responsável por apenas 10% da biotransformação. Em baixas concentrações de etanol, a ADH parece ser o principal sistema oxidante, enquanto que o sistema de oxidação microssômico desempenharia papel importante em concentrações mais altas, especialmente em indivíduos que fazem uso regular de álcool. A primeira fase da biotransformação do etanol compreende sua oxidação a aldeído acético o qual é oxidado a acetato por uma ação catalizada pela enzima aldeído desidrogenase (ALDH). O acetato resultante desta reação é

posteriormente convertido a acetilcoenzima A, que pode ser utilizada na produção de novo ATP ou ser degradada a purina e ácido láctico (SCHVARTSMAN, 1991, LARINI; SALGADO, 1993, SOUZA JÚNIOR; MOURA, 1993, HOBBS et al., 1996, CORRÊA, 1997, BAU, 2002, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003). As reações de biotransformação do etanol está apresentada na figura 1

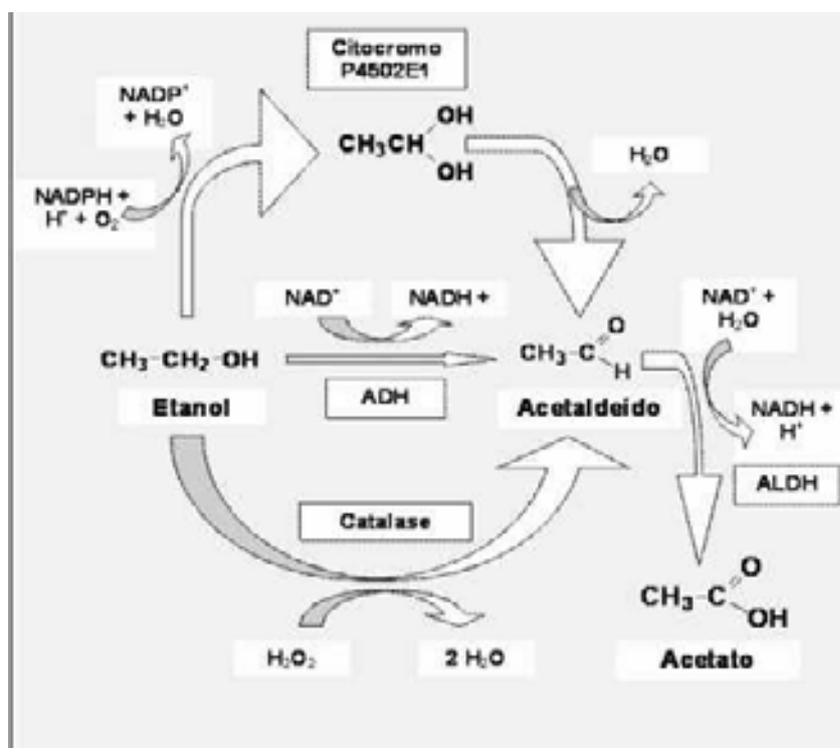


FIGURA 1 – Vias de biotransformação do etanol no organismo humano.

2.1.2. Mecanismo de ação

Por muito tempo considerou-se o etanol como um estimulante, mas ele é basicamente um agente depressor do Sistema Nervoso Central (SNC). Embora evidências recentes sugiram que baixas concentrações de etanol aumentem a função de algumas sinapses neurais excitatórias, a estimulação aparente resulta em grande parte, da depressão dos mecanismos de controle inibitório no cérebro. Acreditava-se que o etanol exercia seus efeitos depressores no

SNC através da dissolução das membranas lipídicas, perturbando a função dos canais de íons e outras proteínas aí envolvidas. Nos últimos anos, estudos têm mostrado que o álcool aumenta a inibição sináptica mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) e pelo fluxo de cloreto, atuando nos canais de íons ativados pelo aminoácido excitatório (glutamato) e inibitório (GABA); essa potencialização do influxo de cloretos, GABA-modulados são similares ao efeito dos benzodiazepínicos e barbitúricos. Alterações em neurotransmissores, transporte de eletrólitos, fluxo sanguíneo cerebral e fluxo de cálcio, induzidas pelo etanol, também devem contribuir para o efeito depressor. Contudo, a maior parte do efeito depressor é mediada principalmente pela ação sobre os receptores do GABA, sendo este sistema também responsável por grande parte do mecanismo de neuroadaptação que gera a síndrome de abstinência. Já as sensações de prazer e recompensa estão intimamente relacionadas com a ativação do sistema dopaminérgico (HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996, HADFIELD; MERCER; PARR, 2001, SOUZA JÚNIOR; MOURA, 2001, BAU, 2002, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

2.1.3. Toxicidade

Entre as conseqüências orgânicas do consumo agudo e crônico de etanol surgem diversos efeitos tóxicos sobre o organismo. A primeira reação do organismo à bebida alcoólica é a euforia, desinibição e autoconfiança, sendo esse estado de espírito decorrente da liberação de mediadores neuronais, substâncias produzidas pelo próprio organismo, e que causam desequilíbrio ao sistema nervoso central. Essa primeira fase dura pouco, no máximo uma hora. No entanto, é seguida de depressão, com diminuição da capacidade física, motora e mental; o que compromete a atenção e o estado de alerta necessários no trânsito e em outras atividades (CORRÊA, 1997, HADFIELD; MERCER; PARR, 2001).

- **Toxicidade aguda**

Segundo a décima edição da Classificação Internacional de Doenças (CID-10), a intoxicação aguda é um fenômeno transitório, cuja intensidade diminui com o tempo e os efeitos desaparecem na ausência do uso posterior do álcool; a recuperação é completa, exceto quando surgirem lesões teciduais ou complicações (MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

Nas manifestações físicas o indivíduo pode apresentar congestão das conjuntivas, taquicardia, taquipnéia, taquiesfigmia e hálito alcoólico-acético; as manifestações

neuroológicas estão ligadas às alterações clínicas do equilíbrio e às perturbações da coordenação motora; e as manifestações psíquicas apresentam-se de maneira progressiva, atingindo inicialmente as funções mais elevadas do córtex cerebral e sucessivamente as esferas menores, começando pelas alterações do humor, do senso ético, da atenção, da senso-percepção, do curso do pensamento, da associação de idéias até atingirem os impulsos menores (FRANÇA, 1998).

A tolerância causada pelo uso persistente e excessivo aumenta os níveis nos quais as reações ocorrem. Parece haver uma estreita relação entre alcoolemia e sintomatologia, especialmente em pessoas não habituadas a beber. Na Tabela 1 pode-se observar a relação entre a concentração e os efeitos do consumo de álcool em indivíduos que não desenvolveram tolerância. A principal consequência dos efeitos do álcool é a perda total ou parcial dos reflexos, comprometendo a capacidade dos motoristas de conduzir o veículo com segurança e de qualquer pessoa realizar atividades que exijam raciocínio rápido (SCHVARTSMAN, 1991, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003, SAMPAIO, 2003;).

TABELA 1 - Efeitos do consumo de álcool em um indivíduo que não desenvolveu tolerância

<i>Concentração de álcool no sangue (g/L)</i>	Efeitos
0,2	Atingido aproximadamente depois de um drinque; usuários leves ou moderados sentem alguns efeitos: sensação de calor e relaxamento.
0,4	Maioria das pessoas sentem-se relaxadas, alegres e falantes; a pele pode se tornar ruborizada.
0,5	Primeiras alterações significativas começam a ocorrer; despreocupação, vertigem, desinibição e menor controle dos pensamentos podem ser sentidos; o autocontrole e a capacidade de julgamento estão diminuídos; a coordenação pode estar levemente comprometida.
0,6	Julgamento e crítica encontram-se prejudicados; a avaliação das capacidades individuais e o processo de tomada de decisões racionais são afetados (Ex.: ser capaz de dirigir).
0,8	Comprometimento evidente da coordenação motora e diminuição da velocidade dos reflexos; capacidade para dirigir torna-se suspeita; sensação de dormência das bochechas e lábios; mãos, braços e pernas começam a formigar até ficarem dormentes.
1,0	Discurso vago, indistinto, com dificuldade na articulação das palavras; “lentificação” dos reflexos e deterioração do controle dos movimentos tornam-se evidentes.
1,5	Prejuízo definitivo do equilíbrio e do movimento.
2,0	Centros de controle motor e emocional são consideravelmente afetados; fala pastosa, cambaleante, perda do equilíbrio (quedas são frequentes) e visão dupla pode ocorrer.
3,0	Dificuldade de entendimento do que é visto ou ouvido; indivíduos ficam confusos ou em esturpor e pode ocorrer perda da consciência.
4,0	Geralmente o indivíduo está inconsciente; a pele torna-se fria e úmida.
4,5	Frequência respiratória diminui, podendo ocorrer apnéia.
5,0	Morte por depressão do centro respiratório.

FONTE: Malbergier e Scivoletto, 2003.

Os sinais e sintomas da intoxicação pelo álcool são bastante conhecidos, porém podem ser confundidos com sintomas de outras patologias, levando a um diagnóstico errôneo de intoxicação, como por exemplo, o coma diabético, intoxicação por outras drogas e acidentes cardiovasculares que podem ser diagnosticados erroneamente como intoxicação pelo álcool. Uma alteração metabólica freqüentemente presente no paciente intoxicado é a hipoglicemia. Nos casos leves, ocorre aumento da atividade simpática (liberação de catecolaminas), traduzido clinicamente por sudorese fria, ansiedade, palpitações e hipotermia. Nos casos graves, ocorre depressão do SNC, podendo sobrevir o coma. O hálito, que não é decorrente de qualquer vapor de etanol, mas de impurezas nas bebidas alcoólicas ou quaisquer outras causas, é um guia notoriamente confiável, e costuma ser muito confundido. Para fins médico-legais, deve-se determinar a concentração de etanol no sangue, no ar exalado ou na urina (SOUZA JÚNIOR; MOURA, 1993 HADFIELD; MERCER; PARR, 2001, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

- **Toxicidade crônica**

A intoxicação crônica ou alcoolismo crônico é um problema médico-social de importância universal. Praticamente todos os órgãos e sistemas podem ser afetados e é possível ocorrer os tipos mais variados de complicações. Em indivíduos saudáveis que consomem álcool com moderação, a maioria das alterações patológicas que ocorrem no organismo são reversíveis. Todavia, quando ingerido em maiores quantidades ou por indivíduos com patologias prévias, as lesões nos diversos órgãos tornam-se mais graves e irreversíveis, podendo servir de alerta para o clínico de que este paciente faz uso abusivo ou é dependente de álcool (SCHVARTSMAN, 1991, HADFIELD; MERCER; PARR, 2001, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

As alterações orgânicas mais comumente encontradas em indivíduos que fazem uso crônico de álcool em altas doses (alcoolistas) são observadas nos sistema hematológico, gastrintestinal, hepático, nervoso central, cardiovascular, renal e hormonal, estando descritas abaixo.

Sistema hematológico: O álcool produz vários efeitos hematológicos; um deles é a elevação do volume corpuscular médio (VCM), devido à deficiência do ácido fólico, provocando, em muitos casos anemia megaloblástica, plaquetopenia e leucopenia. A anemia sideroblástica e megaloblástica ocorre porque o álcool interfere com vários aspectos do

metabolismo e transporte de folato, assim como com seu padrão normal de armazenamento e liberação do fígado. Esses efeitos sofrem rápida reversão com o início da abstinência. Outros efeitos, como trombocitopenia e vacuolização dos precursores de hemácias e leucócitos, ocorrem mesmo quando a dieta é adequada, e parecem ser resultado da ação depressora direta do etanol na medula óssea. Além disso, ocorre depressão da migração de leucócitos para as áreas inflamadas, o que seria parcialmente responsável pela baixa resistência dos alcoolistas à infecção. O etanol também provoca um decréscimo nos níveis de atividade das monoaminooxigenases (MAO), diminuindo a atividade plaquetária destas enzimas; estudos demonstraram que esta inibição é maior em indivíduos alcoolistas do que em grupos controle. Esta diferença parece não estar associada com a duração da abstinência ao etanol, sugerindo que a inibição da atividade da MAO possa envolver fatores genéticos (HOBBS, 1996; CORRÊA, 1997; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003).

Sistema gastrintestinal: O álcool está associado à maior incidência de câncer em todos os níveis do trato digestivo, principalmente de esôfago e estômago. Os consumidores freqüentes de álcool estão propensos a desenvolver gastrite e úlceras de estômago e duodeno devido a ação irritativa do álcool sobre a mucosa e devido o álcool ser um estimulante muito eficaz da secreção gástrica. O hábito de ingerir quantidades exageradas de etanol leva à constipação ou diarreia, dependendo da composição da dieta. O álcool ingerido em quantidades moderadas não influencia de forma significativa na atividade motora do cólon, mas ingerido ao ponto de causar intoxicação leva à interrupção das funções gastrintestinais secretoras e motoras. A absorção é retardada, e ocorre espasmo do piloro e vômitos independente de qualquer reflexo decorrente da irritação local. O etanol é também um fator etiológico da pancreatite aguda e crônica. A pancreatite parece ocorrer porque o etanol não apenas aumenta a secreção, mas também obstrui o duto pancreático (SCHVARTSMAN, 1991; HOBBS, 1996; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003).

Sistema hepático: A ingestão aguda de etanol, mesmo em doses tóxicas, produz pouca alteração na função hepática. Entretanto, quando consumido em bases regulares, o etanol produz vários efeitos dose-relacionados que parecem resultar principalmente de seu metabolismo, pois o etanol presente no organismo é quase totalmente biotransformado no fígado por processos oxidativos. No fígado, as conseqüências mais comuns são: esteatose hepática, hepatite alcoólica e cirrose, sendo que esta última tem caráter irreversível. Mesmo

em doses pequenas, o álcool interfere na neoglicogênese hepática e na produção de gorduras, sendo este efeito um dos contribuintes para o desenvolvimento da hipoglicemia. As alterações hepáticas, em geral, progridem da esteatose para a hepatite e posteriormente para a cirrose, que inicia pela deposição de fibras ao redor das veias centrais (esclerose hialina central). A insuficiência hepática pode provocar um quadro de encefalopatia grave e posteriormente letal, além de outros efeitos sistêmicos de falência hepática. O sexo é um dos fatores que determinam as diferenças no metabolismo do etanol, tendo como conseqüência variações na intensidade do dano hepático entre homens e mulheres. Segundo Lieber (citado por Corrêa, 1997), a dose média de etanol que pode causar cirrose é menor em mulheres do que em homens, e a incidência de doenças hepáticas crônicas é bem maior em mulheres do que em homens, com história similar de abuso de etanol. Uma das explicações para essa diferença é a inibição da ADH pela testosterona e seus derivados. Além disso, as mulheres possuem baixa atividade de ADH gástrica, tendo como conseqüência um nível sanguíneo de etanol mais alto (SOUZA JÚNIOR e MOURA, 1993; HOBBS, 1996; CORRÊA, 1997; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003;).

Sistema Nervoso Central: A ação do etanol sobre o SNC reduz significativamente o estado de alerta e desempenho e os primeiros processos mentais a serem afetados são aqueles que dependem de treinamento e experiência prévia. O uso crônico do álcool provoca em aproximadamente 5 a 15% dos alcoolistas, um quadro de neuropatia periférica, resultante da deterioração dos nervos periféricos dos membros superiores e inferiores. O álcool está associado às alterações cognitivas (memória, concentração, atenção, etc.), algumas temporárias e outras permanentes. Essas alterações são provocadas pelo efeito direto do álcool sobre o SNC, bem como pela deficiência de vitaminas como a tiamina (B₁), sendo este quadro denominado síndrome de Wernicke-Korsakoff. Em sua fase aguda, o quadro é caracterizado por confusão mental, ataxia e nistagmo ou alterações oculares. Esse quadro pode evoluir para uma alteração crônica da memória, em muitos casos irreversíveis e incapacitante. Outra alteração potencialmente irreversível é a degeneração cerebelar, levando a um quadro de incoordenação motora. As alterações neurológicas são causadas por múltiplos fatores entre os quais se destacam os traumas freqüentes, deficiência de vitaminas, desnutrição e efeito direto do álcool (SCHVARTSMAN, 1991; HOBBS, 1996; CORRÊA, 1997; DRUMMER, 2003; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003).

Sistema cardiovascular: Os efeitos imediatos do etanol na circulação são relativamente mínimos. A pressão sanguínea, o débito cardíaco e a força de contração miocárdica não sofrem grandes mudanças após a ingestão de quantidade moderada de etanol. A frequência do pulso aumenta, mas isto costuma ser devido à atividade muscular ou estimulação reflexa. A depressão cardiovascular observada na intoxicação alcoólica grave aguda é decorrente principalmente de fatores vasomotores centrais e da depressão respiratória. Entretanto o uso excessivo e prolongado de etanol tem, em grande parte, efeitos deletérios irreversíveis no coração, e é uma das causas mais importantes de miocardiopatia. O álcool em altas doses provoca inflamação no músculo cardíaco (miocardiopatia), hipertensão e elevação do colesterol sérico. O uso abusivo de álcool está associado a maior frequência de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral. Segundo Ahmed, o consumo moderado de álcool, avaliado através de estudos epidemiológicos, demonstra uma associação positiva com níveis sanguíneos de lipoproteína de alta densidade (HDL), isto é, o uso de álcool promove elevação do HDL, um fator que protege o organismo contra a formação das placas de ateroma e, conseqüentemente, reduz a probabilidade de doenças cardiovasculares (HOBBS, 1996; CORRÊA, 1997; HADFIELD, 2001; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003).

Sistema renal: O etanol exerce um efeito diurético, pois ele provoca uma inibição do ADH diminuindo a reabsorção tubular renal de água. O efeito diurético é grosseiramente proporcional a concentração sanguínea de álcool, e ocorre quando a concentração está subindo, mas não quando está estacionária ou caindo. Entretanto, o etanol em doses repetidas pode ter um efeito antidiurético (HOBBS, 1996).

Sistema hormonal: O etanol afeta o metabolismo microssômico de hormônios, causando um decréscimo dos níveis de testosterona no sangue, devido ao aumento da degradação e conversão deste a estrógeno e ao decréscimo da capacidade dos testículos em sintetizar esteróides. Além disso, o etanol altera o metabolismo de compostos estruturalmente similares, como o da vitamina D, e sendo substrato para as enzimas microssômicas leva a alterações na capacidade oxidativa do organismo. O uso crônico de álcool também pode provocar diminuição da libido, impotência, esterilidade e hipoglicemia (CORRÊA, 1997; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003).

Barreira placentária: O etanol atravessa facilmente a barreira placentária. As enzimas necessárias para a biotransformação do álcool estão ausentes no embrião, ocorrendo em pequenas quantidades durante o desenvolvimento fetal. Desta forma o etanol e o acetaldeído da circulação materna ficam armazenados no líquido amniótico até que o organismo materno promova sua eliminação. Os efeitos deletérios do etanol no feto são dose-dependentes e variam de acordo com o estágio de gestação, podendo sofrer influência de outros agentes tóxicos. O termo síndrome fetal pelo álcool foi elaborado para designar um padrão específico de dismorfismo e retardo de crescimento em crianças de mães alcoolistas. A síndrome fetal é caracterizada pela combinação de vários componentes incluindo múltiplos abortos espontâneos, recém-nascidos de baixo peso para a idade gestacional, malformações faciais, defeito do septo ventricular, malformações de pés e mãos e retardo mental de gravidade variável (CORRÊA, 1997; MALBERGIER e SCIVOLETTO, 2003).

2.1.4. Tolerância e dependência

Visando atenuar os problemas no diagnóstico de dependência, diversos autores elaboraram critérios diagnósticos de dependência de álcool. De acordo com estes critérios, a dependência física não é necessária para se estabelecer um diagnóstico de dependência, pois o indivíduo pode ser dependente do álcool sem apresentar sintomas de tolerância ou abstinência, que caracterizam a dependência física. Outros indicadores, como tentativas de controlar o uso, prejuízos sociais, profissionais e familiares podem ser suficientes para se fazer o diagnóstico de dependência (MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

Uma mesma quantidade de álcool ministrada a várias pessoas pode acarretar, em cada uma, efeitos diversos, pois alguns se embriagam com pequenas quantidades e outros precisam ingerir grandes porções revelando uma estranha resistência ao álcool. Estas diferenças em relação à tolerância individual ao álcool dependem de vários fatores, tais como: a) indivíduos de menor peso apresentam uma concentração de álcool mais elevada, considerando que aproximadamente dois terços do corpo são constituídos de líquidos, quanto menor o peso, mais concentrado ficará o álcool; b) O álcool absorvido pelo estômago passa rapidamente para o sangue, sendo esta absorção influenciada pela concentração alcoólica da bebida, pelo ritmo da ingestão, pela vacuidade ou plenitude do estômago e pelos fenômenos de boa ou má absorção intestinal; c) O hábito de beber também influencia a tolerância, pois o bebedor moderado e o grande bebedor toleram o álcool em graus diferentes; d) Os estados emotivos, a

estafa, o sono, a temperatura, o fumo, as doenças e estados de convalescença são causas que alteram a sensibilidade às bebidas alcoólicas (FRANÇA, 1998).

A ingestão crônica de álcool leva a tolerância e pode levar à abstinência, decorrente da adaptação do organismo aos efeitos do álcool. A tolerância se caracteriza pela necessidade de ingerir volumes maiores para produzir os efeitos característicos, e quanto maior essa tolerância, maior o risco de desenvolver a dependência. Entre os sistemas neurofisiológicos possivelmente envolvidos na fisiopatologia da dependência estão aqueles relacionados com os efeitos depressores, de prazer e de recompensa provocados pelo álcool no SNC. O efeito depressor é mediado principalmente pela ação sobre os receptores GABA, sendo este sistema também responsável por grande parte do mecanismo de neuroadaptação que gera a síndrome de abstinência. O álcool possui ação fluidificante sobre as membranas; com o tempo, a membrana celular torna-se mais rígida e menos sensível a este efeito fluidificante. Essa alteração seria consistente com o desenvolvimento da tolerância, pois devido a menor sensibilidade da membrana, precisar-se-ia de maior quantidade de álcool; na ausência do álcool, o desarranjo da membrana pode contribuir para o aparecimento dos sintomas de abstinência (HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996, BAU, 2002, MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003).

2.1.5. Síndrome de abstinência

A interrupção abrupta da ingestão crônica de álcool pode resultar em síndrome de abstinência, que se inicia algumas horas após a última ingestão e dura 5 a 7 dias. A síndrome de abstinência apresenta grande variação individual, sendo seus principais tipos os seguintes (MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003):

Síndrome de abstinência comum: Costuma aparecer 6 a 8 horas após interrupção do consumo, caracterizando-se por tremores generalizados, hiperexcitabilidade, agitação, insônia, náuseas, vômito, fraqueza, cefaléia, sudorese e pele ruborizada.

Delirium tremens: Observado usualmente entre 3 a 15 dias após a interrupção do consumo. Caracteriza-se por febre, sudorese, taquicardia, piloereção, hipertensão arterial, confusão mental, agitação, desorientação, alucinação e freqüentes crises convulsivas.

Crise convulsiva: Pode ser a manifestação inicial da síndrome de abstinência. Ocorre geralmente 24 horas após a interrupção do álcool. É generalizada, tônico-clônica e precede com frequência o *delirium tremens*.

2.2. Aspectos Sociais, econômicos e legais relacionados ao consumo de bebida alcoólica

A ingestão excessiva de bebidas alcoólicas é um hábito difundido e aceito na maioria dos países e terminou por configurar o alcoolismo como um grande problema de saúde pública na atualidade. O alcoolismo alcança, hoje em dia, proporções cada vez mais crescentes, que podem ser estimadas por indicadores do nível de produção e consumo per capita, e pela frequência de seu diagnóstico tanto no Brasil quanto em outros países (OLIVEIRA; LUIS, 1996, TROIS et al., 1997).

Segundo Bau (2002), o alcoolismo é um problema de saúde pública de escala mundial; o abuso e dependência combinados afetam aproximadamente 8% da população brasileira, gerando um grande custo social. Baker et al. (2002) relataram que, nos Estados Unidos, 30 à 50% dos motorista envolvidos em acidentes de trânsito relacionados com o consumo de álcool, apresentavam problemas com alcoolismo.

Vários estudos têm concluído que o álcool é a substância mais relacionada à mudança de comportamento provocada por efeitos psicofarmacológicos que têm como resultante a violência. Estudos experimentais mostram que o abuso de álcool pode ser responsável pelo aumento da agressividade entre os usuários (MINAYO; DESLANDES, 1998).

Estudos realizados entre vítimas de acidentes automobilísticos, agressões, afogamentos e queimaduras, entre outros, mostram níveis variáveis, porém consistentes de envolvimento do álcool, de acordo com populações de diferentes países estudados. Verificou-se que 76,2% do total de processos criminosos correspondem a crimes que envolviam consumo de álcool por parte do autor ou da vítima (GAZAL-CARVALHO et al., 2002).

Segundo Houston e Richardson (2004), nos Estados Unidos, apenas no ano de 1996, o álcool estava envolvido em mais de 3.000 episódios com ferimentos e aproximadamente 16.000 episódios com mortes, representando 38% de todas as vítimas fatais.

O trânsito é um dos principais setores afetados pelos efeitos do álcool, observando-se alta incidência nos estudos realizados, sendo que aproximadamente metade dos acidentes automobilísticos ocorre após o consumo de bebida alcoólica. Apesar da heterogeneidade das estatísticas disponíveis no mundo, anualmente os acidentes de trânsito resultam em centenas

de milhares de pessoas mortas e 15 milhões de feridos. As guerras que já assolaram o planeta mataram cerca de 17 milhões de pessoas, das quais 4 milhões nesta década, sendo portanto o trânsito pior que a guerra, pois de acordo com a organização mundial de saúde, aproximadamente 700 mil pessoas morrem, a cada ano, em consequência da violência no trânsito com motos, carros, ônibus e caminhões. Isto significa uma morte a cada 50 minutos e um ferido a cada dois segundos no mundo (TROIS et al., 1997, BAKER et al., 2002, BOMFIM, 2004).

Segundo Francisco Izquierdo da Universidade de Madri, um acidente fatal de trânsito representa uma perda média de 40 anos na vida de uma pessoa, enquanto que a morte causada pelo câncer significa a perda de 10,5 anos e a de doenças cardiovasculares de 9,7 anos de vida. Estima-se que só em termos médicos, administrativos e de compensação de custos dos acidentes, gastam-se US\$ 15 bilhões, anualmente, nos países da União Européia. A perda líquida de produção estaria em US\$ 30 bilhões, segundo levantamentos da União Européia (BOMFIM, 2004).

Uma pesquisa realizada por Arnedt et al. (2001), comparando os efeitos da ingestão de álcool com o efeito da privação de sono através de uma simulação do ato de dirigir, revela que o aumento da concentração sanguínea, assim como a privação de sono, diminui a performance do motorista, prejudicando as atividades psicomotoras como a capacidade de manter a posição na pista e o tempo de reação para se tomar uma atitude diante de um episódio inesperado.

Mura et al. (2003) analisaram a prevalência de álcool e outras drogas em vítimas de acidente de trânsito na França. A análise de álcool foi realizada em amostras de sangue por Cromatografia em fase gasosa *com head space*, sendo observado um nível elevado de álcool, acima do limite permitido pelo departamento de trânsito. Segundo estes pesquisadores, o álcool é uma das principais causas de morte em acidentes de trânsito, entre jovens de 18-27 anos de idade.

É muito comum a relação entre pacientes feridos no departamento de urgência e o consumo de bebida alcoólica. Estudos realizados por Waller et al. (2003) a respeito do efeito do álcool sobre os danos causados por acidentes com veículo automotor, mostraram que o consumo de álcool aumenta os danos e a gravidade nos acidentes automobilísticos.

Holmgren, Holmgren e Ahlner, (2005) pesquisaram a presença de etanol, fármacos e drogas ilícitas em 855 vítimas fatais de acidente de trânsito no período de 2000 a 2002 na Suécia. Observou-se que, no último ano, 45,9% das amostras eram positivas, e destas, 85%

eram de vítimas do sexo masculino e 15% de vítimas do sexo feminino, com faixa de concentração prevalentemente de 1,60 a 2,00 mg/L.

Mercer e Jeffery (1995) examinaram o papel do etanol, de fármacos e de drogas ilícitas em acidentes fatais de trânsito, sendo analisadas 227 vítimas fatais no período de um ano na Columbia Britânica, província do Canadá. Observou-se que 48% das amostras apresentaram etanol, que as vítimas eram principalmente adultos jovens com idade média de 36,8 anos \pm 16 e que o sexo masculino (53%) demonstrou uma maior porcentagem de amostra positivas do que o sexo feminino (27%). Este trabalho demonstrou também que as vítimas com amostras positivas para etanol tinham uma média de idade menor (34 anos) em relação as amostras negativas (40 anos), sendo que nas amostras negativas o sexo masculino apresentou uma média de idade menor (39 anos) do que o sexo feminino (44 anos).

Na Espanha, 285 motoristas vítimas fatais de acidentes de trânsito, foram submetidos a exames para analisar a presença de álcool e drogas no sangue, sendo o álcool detectado em 50,5% de todas as fatalidades (CARMEN DEL RIO; ALVAREZ, 1999).

Del Rio et al. (2002) realizaram uma pesquisa determinando a presença de etanol, fármacos e drogas ilícitas em vítimas fatais de acidente de trânsito na Espanha entre o ano de 1991 e 2000. Os resultados mostraram que 43,8% das amostras eram positivas para o etanol, sendo 91,7% das vítimas pertencentes ao sexo masculino, na faixa etária de 21-30 anos e com concentração média de álcool no sangue de 1,13 \pm 0,37 g/L.

A incidência de álcool e drogas foi investigada em 3.398 motoristas mortos nas estradas Australianas de três estados: Victoria, New South Wales e Western Austrália, que representam mais de 69% dos motoristas Australianos, entre 1990 e 1999. A prevalência do álcool foi observada em 29,1% dos motoristas, sendo que a maioria em motoristas de carro (30,3%) e a minoria em motoristas de caminhão (8,6%) (DRUMMER et al., 2003).

Em um estudo realizado pelo Centro Nacional de Pesquisa em Transporte da Holanda, amostras de sangue de 993 motoristas envolvidos em acidentes de trânsito no período de outubro de 1998 a setembro de 1999 foram avaliadas quanto à exposição ao álcool, drogas e medicamentos, concluindo-se que 41% dos casos deram positivo para drogas com concentrações de álcool menor que 0,5 mg/mL. Para outros casos nos quais as concentrações de álcool no sangue foram acima de 0,5 mg/mL a porcentagem de casos positivos para drogas ilícitas e medicamentos foi em média 33,3% (SMINK et al., 2004).

Leyton et al. (2005), em estudo com 2360 vítimas fatais de acidente de trânsito ocorridos no estado de São Paulo em 1999, observaram que o álcool etílico estava presente no

sangue de quase metade das vítimas analisadas (47,0%) e destes, 96,5% da população estava acima da concentração permitida por lei no período das análises (0,6 g/L), sendo a população mais atingida a do sexo masculino (89,41%), solteira (63,9%), com idade entre 25 e 40 anos. A concentração média de etanol encontrada no sangue da população foi de $2,14 \pm 0,95$ g/L, observando uma média de concentração menor nas mulheres ($1,86 \pm 0,92$ g/L) em relação aos homens ($2,13 \pm 0,95$ g/L). As mulheres (22,8%) também apresentaram uma menor positividade nos resultados em relação aos homens (49%) e uma média de idade maior (41,3 anos) que os homens (36,2 anos).

Modelli, Pratesi e Taiuil (2008) analisaram a presença de alcoolemia em 238 vítimas fatais de acidente de trânsito no Distrito Federal em 2005 e constataram que uma significativa parcela das vítimas (42,8%) apresentavam níveis de alcoolemia acima do permitido pela lei brasileira vigente no período. Foi observado que 83,1% da população eram do sexo masculino, jovens entre 18 e 35 anos e que a média de concentração encontrada foi de $1,92 \pm 0,83$ g/L.

Gazal-Carvalho et al. (2002) realizaram um estudo para determinar a prevalência de alcoolemia em pacientes admitidos no centro de traumas no município de São Paulo, SP, Brasil e observou que 47,2% das ocorrências estavam relacionados a acidentes com transportes. Ele constatou que 28,9% de todas as ocorrências apresentaram alcoolemia positiva com concentrações maiores ou iguais a 1,0 g/L. Este estudo demonstrou que 73,7% da população estudada eram do sexo masculino e a maioria era jovens e solteiros. Foi observado também que os casos positivos eram mais prevalentes no sexo masculino do que no sexo feminino e que as ocorrências foram mais prevalentes nos meses de Julho e Fevereiro .

Segundo informações do DENATRAN, em 2005 no Brasil ocorreram 383.371 acidentes com vítimas, resultando em 539.919 vítimas sendo 26.409 vítimas fatais. Isto representa um índice de 6,3 vítimas fatais por 10.000 veículos/ano. Este índice ultrapassa consideravelmente o recomendado pela Organização das Nações Unidas que é 3 vítimas por 10.000 veículos/ano (BRASIL, 2007).

Tendo em vista que a causa da maioria dos acidentes automobilísticos em todo o mundo tem sido há muito tempo associado ao consumo de álcool e, visando diminuir esses acidentes, os países têm criado leis que punem os crimes de trânsito e estabelecem limites de alcoolemia para os condutores. Na legislação de trânsito dos diferentes países, os limites estabelecidos são derivados de vários estudos controlados e de dados epidemiológicos a

respeito dos sinais e sintomas da intoxicação por álcool etílico versus concentração de álcool no sangue (SEPPALA; LINNOILA; MATILLA, 2002, CARVALHO; LEYTON, 2000).

Baseados nesses dados epidemiológicos, os órgãos regulamentadores de diversos países estabeleceram limites legais de alcoolemia para condutores, que variam dentro de certa faixa de um país para outro. No Brasil, a lei nº 9.503 estabelecida em 23 de Setembro de 1997 institui o Código de Trânsito Brasileiro (CTB) e estabelece penalidades aos motoristas que conduzirem veículo com concentração de álcool no sangue igual ou superior a seis decigramas por litro. A lei 11.705, de 19 de junho de 2008, alterou a lei 9.503, que institui o código de trânsito brasileiro, modificando a redação dos artigos 165, 276, 277, 291, 296, 302 e 306 do CTB, que tratam do consumo de bebida alcoólica por condutores de veículo. Segundo a lei 11.705 o condutor que for flagrado dirigindo sob a influência de álcool terá a carteira de habilitação suspensa por doze meses, pagará multa de R\$ 957,70, além de ter o veículo retido até a apresentação de um condutor habilitado, sendo o índice de tolerância no sangue de 2 dg/L. No caso dos condutores que apresentarem concentração de álcool no sangue igual ou superior a 6 dg/L a penalidade será de detenção por seis meses a três anos, multa e suspensão ou proibição de se obter a permissão ou a habilitação para dirigir veículo, sendo considerado crime de trânsito. (CARVALHO; LEYTON, 2000, HADFIELD; MERCER; PARR, 2001, SAMPAIO, 2003 BRASIL, 2008).

2.3. Determinação da concentração de etanol

Apesar do aumento do uso de drogas ilícitas, a dosagem sanguínea de etanol continua sendo a análise sanguínea mais solicitada aos laboratórios de análise toxicológica forense (LIMA; MÍDIO, 1997).

Vários estudos têm concluído que a determinação da concentração do etanol ingerido pode ser determinada através da análise do sangue, do ar exalado, da urina e da saliva (RUZ et al., 1986; MUSSHOF, 2002); sendo a determinação da concentração de álcool no sangue, a medida mais precisa do grau de intoxicação (RUZ et al., 1986, FUNG et al., 2000).

O sangue é o fluido biológico mais comumente utilizado na determinação de etanol para fins forenses, já que é a amostra que melhor reflete os efeitos do álcool no SNC. Nas investigações de violação das leis de trânsito, a interpretação dos resultados de dosagem alcoólica é universalmente baseada nos níveis obtidos ou extrapolados para o sangue total, sendo esta interpretação apoiada na resolução nº 737 de 12/09/1989 do Conselho Nacional de

Trânsito do Ministério da Justiça, que disciplina as ações e os meios para comprovação de embriagues do condutor de veículo (LIMA; MÍDIO, 1997, CARVALHO; LEYTON, 2000).

A determinação do etanol no sangue pode ser realizada por métodos químicos, enzimáticos e cromatográficos, sendo a cromatografia o método mais indicado para a dosagem de substâncias voláteis como etanol e compostos relacionados em fluidos biológicos (RUZ et al., 1986, TAGLIARO et al., 2002, PORTARI, 2006).

Segundo Ruz et al. (1986) e Musshoff (2002), as técnicas utilizadas na cromatografia são classificadas como: injeção direta, extração, destilação e *head space* (HS). A técnica de injeção direta se caracteriza pela injeção de sangue total na coluna, possuindo a desvantagem de contaminar a coluna através da adsorção de componentes indesejáveis como proteínas e outras macromoléculas. Já as técnicas de extração e destilação envolvem, respectivamente, uma extração e uma destilação prévia antes da injeção da amostra, diminuindo, portanto, a contaminação da coluna.

A técnica de HS empregada em cromatografia em fase gasosa (CG) é utilizada mais frequentemente na clínica e na análise toxicológica forense de componentes voláteis, possuindo, entre outras vantagens, a prevenção da contaminação da coluna devido à injeção de apenas vapor.

Algumas técnicas empregadas com CG na análise de voláteis estão obsoletas, como é o caso da injeção direta, extração e destilação. A adoção da técnica de HS tem estendido a popularidade do CG devido a sua eficiência na prevenção de contaminação da coluna, sendo a técnica mais empregada na rotina dos laboratórios forenses (MUSSHOF, 2002, PORTARI, 2006).

Na determinação de etanol por CG-HS utiliza-se normalmente um padrão interno para calibração da análise com o objetivo de corrigir imprecisões na amostragem ou na injeção. Esta técnica consiste em adicionar uma quantidade conhecida de uma substância (padrão interno), diferente daquelas que estão sendo analisadas. Para a quantificação, é construída uma curva de calibração utilizando a razão entre a área do analito (etanol) e a do padrão interno versus a concentração do analito (PORTARI, 2006). Vários trabalhos científicos relatam a utilização do n-propanol como padrão interno na quantificação de etanol (CORRÊA, 1997, MUSSHOF, 2002, YONAMINE et al., 2003). Contudo o n-propanol é um produto de putrefação em espécimes *postmortem*, portanto na pesquisa de etanol em análises forense pode-se utilizar 2-metil-2-propanol, acetonitrila, 2-butanona ou t-butanol como alternativa de padrão interno ao n-propanol (MUSSHOF, 2002).

2.3.1. Cromatografia

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura através da distribuição destes componentes entre duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes da amostra é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação. A cromatografia é o resultado de processos repetidos de adsorção e desorção durante o movimento dos componentes da amostra ao longo da fase estacionária, e a separação é devido à diferença de constantes de distribuição de cada um dos componentes da amostra. (COLLINS, 1997, CIOLA, 1998, DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998, CASTANHO; LEYTON, 2006;).

As diferentes formas de cromatografia podem ser classificadas considerando-se diversos critérios. Levando-se em conta a forma física do sistema, a cromatografia pode ser subdividida em cromatografia em coluna e planar. A cromatografia planar resume-se à cromatografia em papel e cromatografia em camada delgada (COLLINS, 1997, DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

A cromatografia em coluna pode ser classificada de acordo com as propriedades da fase móvel, distinguindo-se a cromatografia a gás, na qual a fase móvel é um gás; a cromatografia líquida, na qual a fase móvel é um líquido; e a cromatografia supercrítica, em que se usa como fase móvel um vapor pressurizado, em temperatura acima da temperatura crítica (COLLINS, 1997, DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

- **Cromatografia em fase gasosa:**

Na cromatografia em fase gasosa, separa-se uma mistura de componentes gasosos ou voláteis através da diferença de distribuição da mesma entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa). Se a fase estacionária é um líquido temos a cromatografia gás-líquido ou cromatografia de partição, se a fase estacionária é um sólido temos a cromatografia gás-sólido ou cromatografia de adsorção. Em qualquer dos casos a coluna pode ser empacotada ou capilar. O método consiste na introdução da amostra no injetor ou

vaporizador cuja quantidade injetada depende da coluna e detector empregado. O injetor deve estar aquecido a uma temperatura acima do ponto de ebulição dos componentes da amostra, no caso de amostras líquidas, para que a mesma se volatilize completa e instantaneamente e seja carregada para uma coluna onde está a fase estacionária através do gás de arraste. O fluxo de gás passa pela coluna através da qual, os componentes da amostra se deslocam a velocidades influenciadas pelo grau de interação de cada componente com a fase estacionária. As substâncias que têm maior interação com a fase estacionária são retidas por mais tempo e, portanto, separadas daquelas com menor interação. Na cromatografia em fase gasosa a afinidade de um soluto pela fase móvel é determinada pela volatilidade do soluto e sua pressão de vapor, que é função da estrutura do composto e da temperatura. Alterando-se a temperatura, altera-se também a pressão de vapor e, por conseguinte a afinidade de uma substância pela fase móvel. A cromatografia em fase gasosa apresenta um excelente poder de resolução, tornando possível a análise de dezenas de substâncias de uma mesma amostra. Dependendo do tipo de substância analisada e do detector empregado, consegue-se detectar cerca de 10^{-12} g. Essa sensibilidade faz com que haja necessidade de apenas pequenas quantidades de amostra, o que em certos casos é um fator crítico e limita a utilização de outras técnicas (BONATO, 1997, CIOLA, 1998, DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998, MENDEHAM et al., 2002, CASTANHO, 2006).

2.3.2. Técnica de *head space*

A análise por *head space* é geralmente definida como uma extração da fase de vapor envolvendo a partição do analito entre um líquido não volátil ou um sólido não volátil e a fase de vapor acima do líquido ou sólido. A fase de vapor contém os componentes a serem analisados, sendo transferido para o CG ou outro instrumento de análise (SNOW; SLACK, 2002).

Existem várias técnicas de *head space*, incluindo técnicas recém descobertas. O *head space* estático e o dinâmico eram as únicas técnicas essencialmente empregadas até a década passada e ainda são bastante empregadas até hoje. No *head space* estático a amostra é colocada em recipiente lacrado, aquecida para formação de vapor e este vapor é retirado do recipiente e introduzido em um instrumento de análise através de uma seringa apropriada (seringa gas-tight) ou de uma linha de transferência aquecida. No *head space* dinâmico a fase

de vapor flui pela amostra sendo coletada em seguida e analisada em equipamento apropriado - CG (KOLB, 1999, MARKELOV; BERSHEVITS, 2001, SNOW; SLACK, 2002).

O aumento da sensibilidade da técnica pode ser obtido através da adição de um sal como o cloreto de sódio, nitrato de sódio, sulfato de sódio, carbonato de potássio, fluoreto de sódio ou sulfato de amônio. Como em geral as amostras analisadas são matrizes aquosas, a utilização de um sal torna o ambiente saturado (efeito *salting-out*) diminuindo a interação entre o álcool e a água, ou seja, as pontes de hidrogênio e permitindo uma melhor vaporização do etanol (MUSSHOFF, 2002, PORTARI, 2006). O efeito *salting-out* diminui a solubilidade do soluto por aumento da intensidade iônica total da solução, sendo o efeito mais pronunciado para componentes polares que tem uma grande afinidade por água (WASFI et al., 2004).

A técnica de *head space* tem sido bastante empregada na análise de amostras em CG em diversas áreas, inclusive na área forense analisando álcool e outros materiais de baixo peso molecular no sangue. Ela é, talvez, a técnica mais versátil empregada para CG, com pesquisas sendo conduzidas por numerosos estudiosos nas mais diversas áreas da ciência (SNOW; SLACK, 2002).

O método de cromatografia a gás por *head space* é um método simples, preciso, de fácil execução, sensível e de elevada especificidade, sendo o método ideal para a análise de álcool no sangue (LIMA; MÍDIO, 1997).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

- Analisar a presença e o nível de álcool etílico no sangue de vítimas fatais de acidentes de trânsito no Rio Grande do Norte, empregando a cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama e a técnica de extração por *head space*.

3.2. Objetivos específicos

- Padronização as condições cromatográficas do método;
- Relacionar os níveis de alcoolemia em vítimas fatais de acidente de trânsito no Rio Grande do Norte com os limites de alcoolemia estabelecidos pelo DENATRAN;
- Determinar a frequência de alcoolemia nas amostras analisadas;
- Determinar a frequência de acidentes quanto ao sexo e estado civil da vítima;
- Determinar a faixa etária mais prevalente nos acidentes de trânsito;
- Determinar a frequência de acidentes quanto ao local, dia da semana e mês em que os acidentes ocorreram;
- Relacionar a alcoolemia positiva e negativa com o sexo, estado civil das vítimas e com o mês de ocorrência dos acidentes;
- Relacionar o consumo de bebidas alcoólicas com os acidentes automobilísticos.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. MATERIAL

4.1.1. Amostra

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRN, em reunião realizada em 04 de agosto de 2006 e foi protocolado com número 069/06 CEP-UFRN, sendo o termo de consentimento aprovado empregado na coleta das amostras.

4.1.1.1. Sangue de voluntários

Foram coletadas amostras de sangue de 10 voluntários, não expostos a bebida alcoólica por pelo menos 72 horas, para a obtenção de um *pool* de sangue, sendo utilizado a heparina e o fluoreto de sódio a 1% como anticoagulante e conservante, respectivamente. Essas amostras foram obtidas após a assinatura do termo de consentimento (anexo A) pelos voluntários. As amostras de sangue coletadas foram armazenadas em frascos de vidro de 20 mL para posterior preparação das soluções padrão.

4.1.1.2. Sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito

Foram coletadas 301 amostras de sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito que deram entrada no Instituto Técnico-Científico de Polícia do Estado do Rio Grande do Norte (ITEP/RN), no ano de 2007, utilizando a heparina e o fluoreto de sódio a 1% como anticoagulante e conservante, respectivamente. Essas amostras foram obtidas após a assinatura do termo de consentimento pelo responsável legal da vítima (ver anexo B), e foram acondicionadas em frascos de vidro de 10 mL sendo armazenadas sob refrigeração a 4°C até o momento das análises.

4.1.2. Soluções-padrão

Todas as soluções foram preparadas utilizando como solventes n-propanol e sangue de voluntários, evitando, desta forma, a danificação da coluna cromatográfica pela utilização de água como solvente.

4.1.2.1. Soluções-estoque

- Solução de etanol a 3,2 g/L em sangue obtida pela dissolução de 104 μL de etanol P.A. em quantidade suficiente de sangue para 25 mL utilizando balão volumétrico.

4.1.2.2. Soluções de trabalho

- Soluções de etanol em sangue nas seguintes concentrações: 0,05; 0,1; 0,8; 1,6 e 3,2 g/L. As soluções nas concentrações 0,05 e 0,1 g/L foram obtidas respectivamente pela diluição de 156 e 312 μL da solução Estoque de etanol a 3,2 g/L em quantidade suficiente de sangue para 10 mL utilizando balões volumétricos. A solução de trabalho a 0,8 e 1,6 g/L foram obtidas pela dissolução de 10 μL e 21 μL de etanol P.A., respectivamente, em quantidade suficiente de sangue para 10 mL, utilizando balão volumétrico; e a solução de trabalho a 3,2 g/L foi obtida diretamente da solução estoque de etanol.

- Solução de t-butanol a 0,3 g/L em n-propanol, obtida a partir da dissolução de 188 μL de t-butanol P.A. em quantidade suficiente de n-propanol para 500 mL, utilizando balão volumétrico.

As soluções estoque e as soluções de trabalho foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e mantidas sob refrigeração a 4 °C.

4.1.3. Equipamentos e acessórios

- Balança analítica AG-200 (GEHAKA, SP, BRASIL);
- Balões volumétricos de 10, 25 e 500 mL;
- Coluna capilar com fase estacionária a base de polietilenoglicol (CP-WAX 57) com 50 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno (Varian, Califórnia, EUA);
- Cromatógrafo a gás modelo CP-3800 com detector de ionização de chama (FID) (Varian, Califórnia, EUA.);
- Estufa (Fanem LTDA, SP, Brasil);
- Pipetas semi-automáticas graduadas de 10-100 μL e 40-200 μL ;
- Pipetas semi-automáticas volume fixo: 250 , 500 e 1000 μL ;

- Refrigerador Eletrolux[®] R360, com temperatura entre 0 °C e 4 °C;
- Seringa SGE 500 µL gastight REM (Scientific Glass Engineering);
- Software Star chromatography Workstation versão 5.52 (Varian, Califórnia, EUA);

4.1.4. Reagentes e outros materiais

- Alicates lacrador;
- Frascos de vidro com capacidade para 10 mL;
- Frascos de vidro, capacidade para 20 mL;
- Gases especiais para cromatografia em fase gasosa:
 - Ar sintético (White Martins)
 - Hidrogênio (White Martins)
 - Hélio (White Martins)
 - Nitrogênio (White Martins)
- Lacre de alumínio;
- Scalp nº 19 e nº 23 (plascalp);
- Seringas de 20 mL (plascalp);
- Sulfato de sódio anidro (Nuclear, SP, Brasil);
- Tampas de borracha;
- Fluoreto de Sódio (Labtest);
- Heparina (Cristália);
- Reagentes:
 - Etanol (VETEC);
 - n-Propanol (VETEC);
 - t-Butanol (MERCK).

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Padronização das condições cromatográficas

4.2.1.1. Otimização dos parâmetros cromatográficos

Foram utilizadas as soluções de trabalho de etanol para testar corridas isotérmicas e com rampas de aquecimento para a escolha das melhores condições de temperatura e aquecimento da coluna. Assim como a determinação das condições de razão de split, fluxo dos gases na coluna, tempo de corrida e temperatura do injetor e detector.

4.2.1.2. Estudo da linearidade da técnica

O estudo da linearidade, para estabelecer o intervalo de concentração no qual os resultados são linearmente proporcionais à concentração do etanol (BRITO et al., 2003; RIBANI et al., 2004; VIEIRA; LICHTIG, 2004), foi realizado através da análise de sangue de voluntários adicionado de etanol nas concentrações 0,01; 0,05 ; 0,1 ; 0,8 ; 1,6; e 3,2 g/L, utilizando o t-butanol como padrão interno; sendo estas soluções submetidas ao procedimento analítico escrito no item 4.2.2.

4.2.1.3. Curvas de calibração

As curvas de calibração foram determinadas pela análise de amostras de sangue, obtidas a partir de procedimentos descritos no item 4.1.1.1, adicionadas de alíquotas de etanol nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,8; 1,6; e 3,2 g/L, conforme item 4.1.2.2. Essas amostras foram submetidas ao procedimento descrito no item 4.2.2. e analisadas em triplicata; sendo a curva construída com a média dos valores da área do etanol e do padrão interno relativas a cada concentração.

4.2.1.4. Estudo da recuperação do método

A recuperação do método reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação a quantidade real presente na amostra (BRITO et al., 2003). No estudo da recuperação foram utilizadas três diferentes concentrações (0,05; 0,8; e 3,2 g/L), sendo que cada concentração foi analisada em 05 replicatas, sendo a exatidão do método determinada pelos testes de significância, utilizando o teste T de student.

4.2.1.5. Avaliação da precisão do método

A precisão avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra (BRITO et al., 2003; VIEIRA; LICHTIG, 2004). No teste para avaliar a precisão do método

foram analisadas, em triplicata, três diferentes concentrações (0,05; 0,8; e 3,2 g/L), sendo a precisão determinada indiretamente pela medida da imprecisão da técnica, dada pelo desvio padrão relativo, também conhecido como coeficiente de variação (CV) dos resultados. A precisão foi avaliada em dois níveis diferentes de repetitividade, sendo realizados testes para a avaliação da precisão intra-ensaio e inter-ensaio. Na avaliação da precisão intra-ensaio as replicatas foram analisadas no mesmo dia, enquanto que na avaliação inter-ensaio as replicatas foram analisadas em dias consecutivos.

4.2.2. Procedimento para separação do etanol pela técnica de *head space*

A técnica utilizada para a análise de etanol em sangue consiste na separação do etanol da matriz biológica através da sua vaporização em um recipiente lacrado e posterior análise deste vapor através da cromatografia em fase gasosa. Para a realização deste procedimento 1,0 mL da amostra (sangue), 1,0 mL do padrão interno (t-butanol) e 1 g de sulfato de sódio foram adicionados a um frasco de vidro com capacidade para 10 mL. Este frasco foi vedado com tampa de borracha e lacre de alumínio e aquecido por 10 minutos em uma estufa à 70 °C. A camada superior foi homogeneizada através de três operações de tomada e devolução do vapor, usando a própria seringa de injeção (gastight, SGE). Após este procedimento, retirou-se, por punção através da tampa, 250 µL da camada de vapor e injetou-se no cromatógrafo para a separação dos analitos através da coluna cromatográfica.

4.2.3. Determinação de etanol em amostras de vítimas fatais de acidente de trânsito

Foram coletadas 301 amostras de vítimas fatais de acidente de trânsito, sendo analisadas 277 (92,03%) amostras, as demais foram excluídas devido alguns fatores: quantidade de amostra coletada insuficiente, dados incompletos nos registros do Instituto Técnico Científico de Polícia e falta de assinatura do termo de consentimento pelo responsável legal da vítima .

As amostras de sangue obtidas de vítimas fatais de acidente de trânsito foram submetidas ao procedimento descrito no item 4.2.2 Após a separação do etanol na coluna capilar, o mesmo é captado pelo detector de ionização de chama e o sinal obtido é analisado pelo Software Star chromatography Workstation versão 5.52 que, por integração, fornece a área relativa a cada pico eluído em seu respectivo tempo de retenção. A razão entre a área do

pico do etanol e a área do pico do padrão interno são plotados na curva de calibração e a concentração de etanol na amostra é calculada através da equação da reta.

Os níveis de alcoolemia determinados pelo procedimento analítico foram relacionados com algumas variáveis (faixa etária, sexo e estado civil da vítima, localização e período em que os acidentes ocorreram) traçando o perfil das vítimas de acidente de trânsito no estado do Rio Grande do Norte.

4.2.4. Análise estatística

Realizou-se a análise descritiva para a caracterização da amostra e dos resultados de alcoolemia e aplicou-se o teste t de Student e o teste Qui-quadrado para se fazer a correlação da alcoolemia com os dados das vítimas utilizando um índice de significância de 5%. A análise estatística foi realizada através do statsoft STATISTICA 6.0.

5. RESULTADOS

5.1. Padronização das condições cromatográficas

5.1.1. Otimização dos parâmetros cromatográficos

As condições cromatográficas estabelecidas para análise de etanol no sangue estão descritas na Tabela 2 e o perfil cromatográfico do etanol e do padrão interno (t-butanol) na Figura 2.

TABELA 2 – Condições cromatográficas padronizadas

<i>Parâmetros analisados</i>	<i>Resultados</i>
Temperatura do Injetor	150°C
Temperatura da coluna	50°C
Temperatura do Detector	250°C
Modo de operação	Isotérmico
Razão de Split	1:25
Fluxo da Coluna	2 mL/min
Tempo de Corrida	12 min
Gases Utilizados	Helio, Nitrogênio, Ar sintético e Hidrogênio

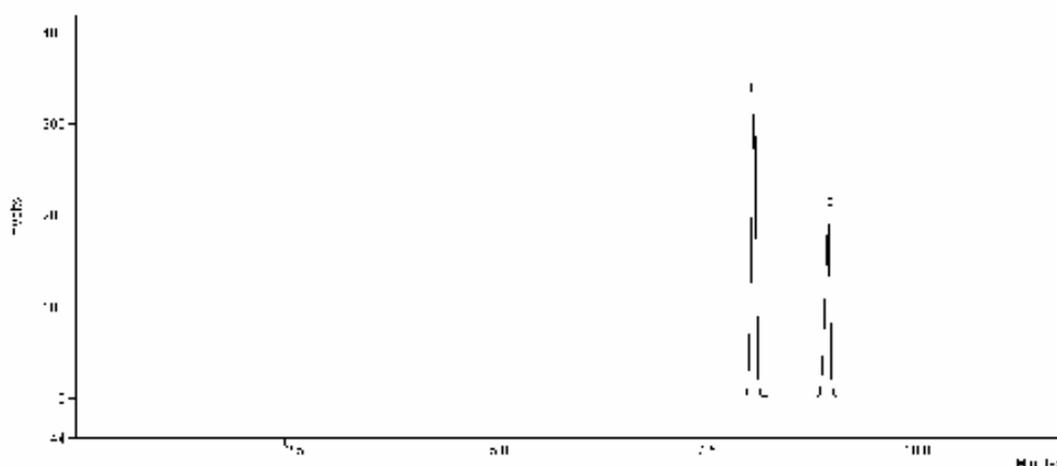


FIGURA 2 – Cromatograma obtido com a análise por CG-FID-HS de sangue adicionado de etanol a 0,2 g/L e t-butanol a 0,3 g/L, utilizando a coluna capilar CP-WAX 57. 1- t-butanol e 2- etanol.

5.1.2. Estudo da linearidade da técnica

O método demonstrou ser linear na faixa de concentração estudada, pois houve uma relação linearmente proporcional entre o sinal gerado pelo equipamento e os teores de etanol nos vapores das amostras de sangue adicionadas, na faixa de concentração de 0,01 a 3,2 g/L. A equação de regressão linear foi $y = 0,8051x + 0,6196$ e o coeficiente de correlação obtido $r = 0,9989$, como pode ser observado na Figura 3.

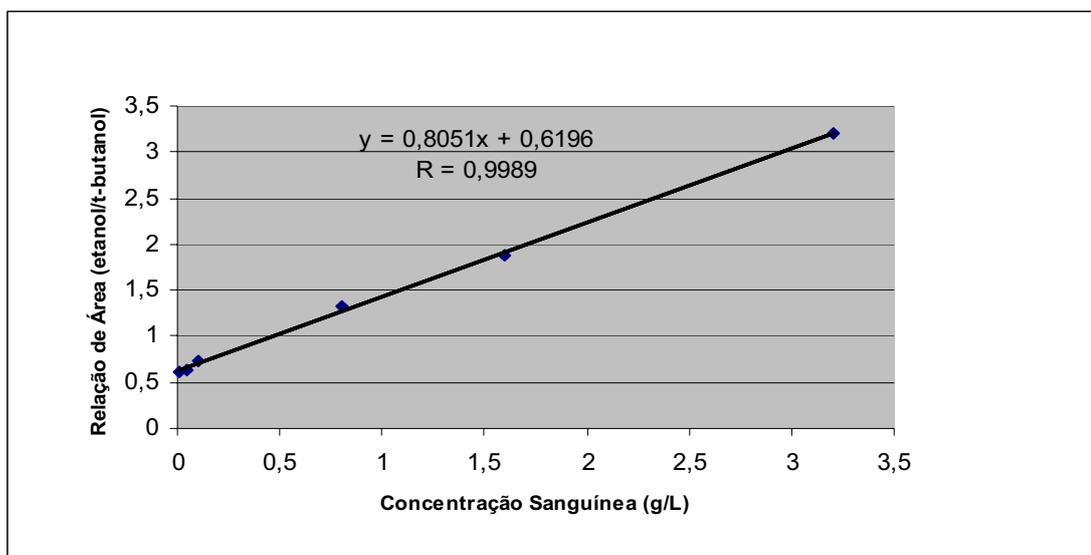


FIGURA 3 – Representação gráfica da linearidade entre concentração de etanol (g/L) e relação de área dos picos cromatográficos (Etanol/t-butanol).

5.1.3. Curva de calibração

A relação entre a concentração do etanol no sangue e a razão entre as áreas dos picos cromatográficos do etanol e do t-butanol está representada na Figura 4, sendo os dados da reta utilizados para obtenção da equação de regressão linear $y = 0,762x + 0,6361$ e o coeficiente de correlação $r = 0,996$.

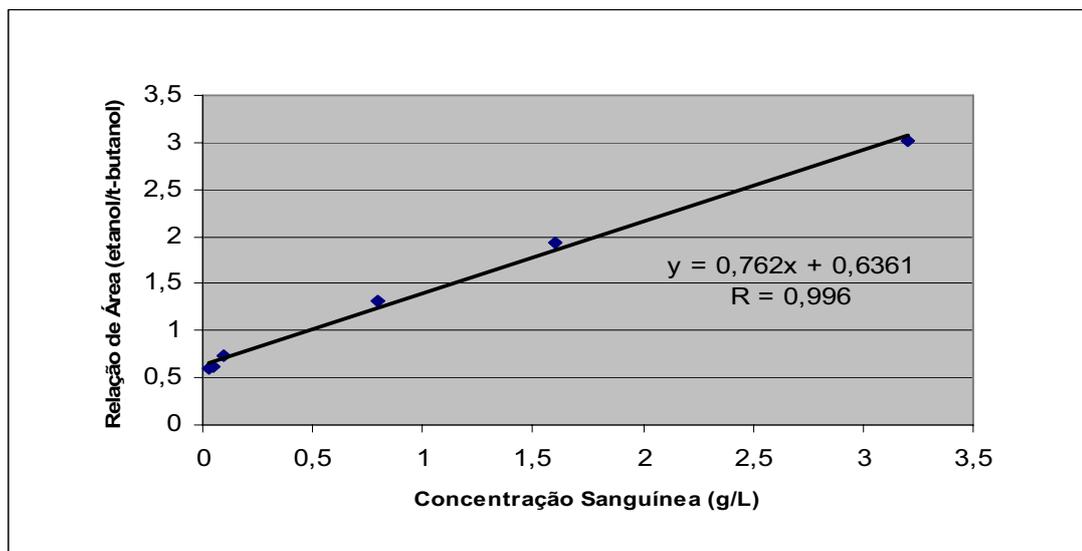


FIGURA 4 – Representação gráfica da curva de calibração obtida pela análise de sangue adicionado de etanol em concentrações conhecidas.

5.1.4. Estudo da recuperação do método

Na Tabela 3 são apresentados os valores (%) de recuperação do etanol no sangue em relação à quantidade de etanol adicionada, empregando-se as condições cromatográficas padronizadas e o procedimento descrito no item 4.2.2.

TABELA 3 - Recuperação de etanol adicionado em amostras de sangue empregando as condições cromatográficas e o procedimento analítico padronizado

<i>Concentração adicionada (g/L)</i>	<i>Recuperação % (média* ± DP)</i>
0,05	97,8 ± 4,9
0,80	106,9 ± 5,6
3,20	95,9 ± 4,9

* Média de cinco replicatas.

5.1.5. Avaliação da precisão do método

Nas Tabelas 4 e 5 são apresentados os valores da precisão intra-ensaio e inter-ensaio, definidos pelo coeficiente de variação (CV). Os resultados foram obtidos pela análise de alíquotas de sangue adicionadas de etanol, empregando-se as condições cromatográficas padronizadas e o procedimento descrito no item 4.2.2.

TABELA 4 - Coeficiente de variação intra-ensaios das concentrações sanguíneas de etanol em amostras adicionadas

<i>Concentração (g/L)</i>	<i>X</i>	<i>DP</i>	<i>CV%</i>
0,05	0,0488	0,0028	5,8
0,80	0,8663	0,0631	7,3
3,20	2,9613	0,1805	6,1

X = Média das concentrações obtidas para três replicatas.

DP = Desvio padrão.

CV = Coeficiente de variação.

TABELA 5 - Coeficiente de variação inter-ensaios das concentrações sanguíneas de etanol em amostras adicionadas

<i>Concentração (g/L)</i>	<i>X</i>	<i>DP</i>	<i>CV%</i>
0,05	0,0525	0,0039	7,3
0,80	0,7700	0,0438	5,6
3,20	3,0430	0,2057	6,8

X = Média das concentrações obtidas para três replicatas.

DP = Desvio padrão.

CV = Coeficiente de variação.

5.2. Determinação de alcoolemia em vítimas de acidente de trânsito

A Tabela 6 mostra a frequência de amostras com resultados positivos e negativos em relação a alcoolemia. As amostras que apresentaram algum teor de álcool foram consideradas positivas, enquanto que as que não apresentaram foram consideradas negativas. Esses resultados podem ser visualizados graficamente através da Figura 5.

TABELA 6 – Frequência dos resultados com alcoolemia positiva e negativa em vítimas fatais de acidente de trânsito, RN, Brasil, 2007

<i>Alcoolemia</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Positiva	184	66,43
Negativa	93	33,57
Total	277	100

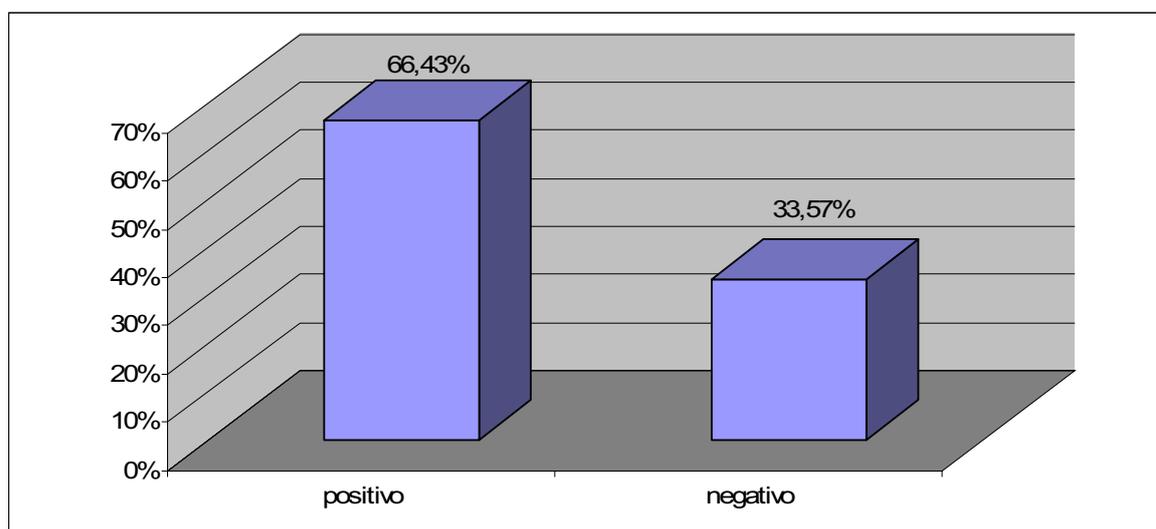


FIGURA 5 – Gráfico de distribuição das alcolemias positivas e negativas em vítimas fatais de acidente de trânsito, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 7 é apresentada a frequência dos casos positivos em relação aos níveis de alcoolemia, considerando dois níveis de concentração: abaixo de 0,2 g/L e igual ou maior que 0,2 g/L. Essa frequência pode ser observada graficamente na Figura 6.

TABELA 7 – Frequência dos casos com alcoolemia positiva considerando dois níveis de concentração, RN, Brasil, 2007

<i>Concentração (g/L)</i>	<i>Frequência</i>	<i>Pocentagem (%)</i>
< 0,2	07	04
≥ 0,2	177	96
Total	184	100

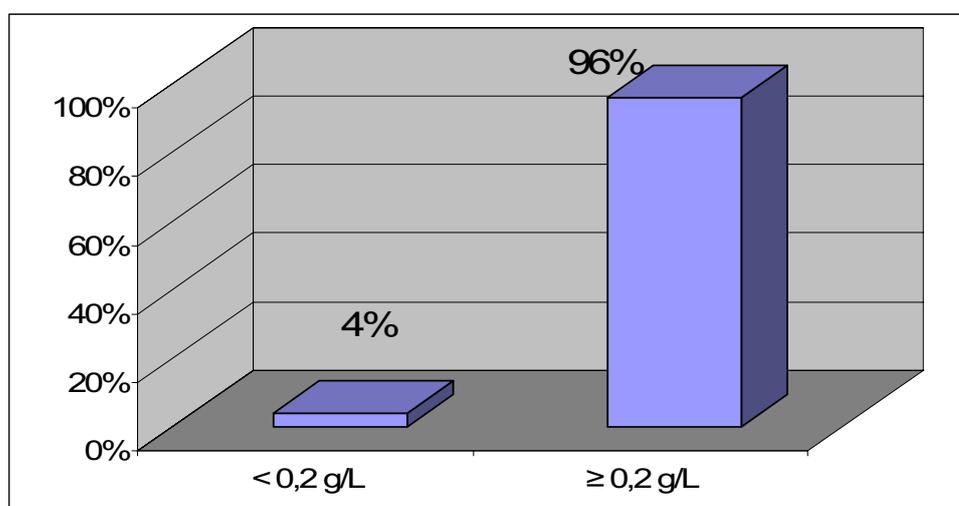


FIGURA 6 – Gráfico dos níveis de alcoolemia dos casos positivos considerando dois níveis de concentração, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 8 é apresentada a frequência dos casos com alcoolemia positiva em relação aos diferentes níveis de concentração determinados a partir do procedimento analítico, sendo as concentrações agrupadas em nove faixas. A frequência apresentada pode ser visualizada graficamente através da Figura 7.

TABELA 8 – Frequência dos casos com alcoolemia positiva considerando os diferentes níveis de concentração, RN, Brasil, 2007

<i>Concentração (g/L)</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
0,1 – 0,45	29	15,76
0,46 – 0,81	23	12,50
0,82 – 1,17	20	10,87
1,18 – 1,53	33	17,93
1,54 – 1,89	28	15,22
1,90 – 2,25	29	15,76
2,26 – 2,61	16	8,70
2,62 – 2,98	5	2,72
2,99 – 3,34	1	0,54
Total	184	100

Média das concentrações na população: 1,35 g/L (DP = 0,7401).

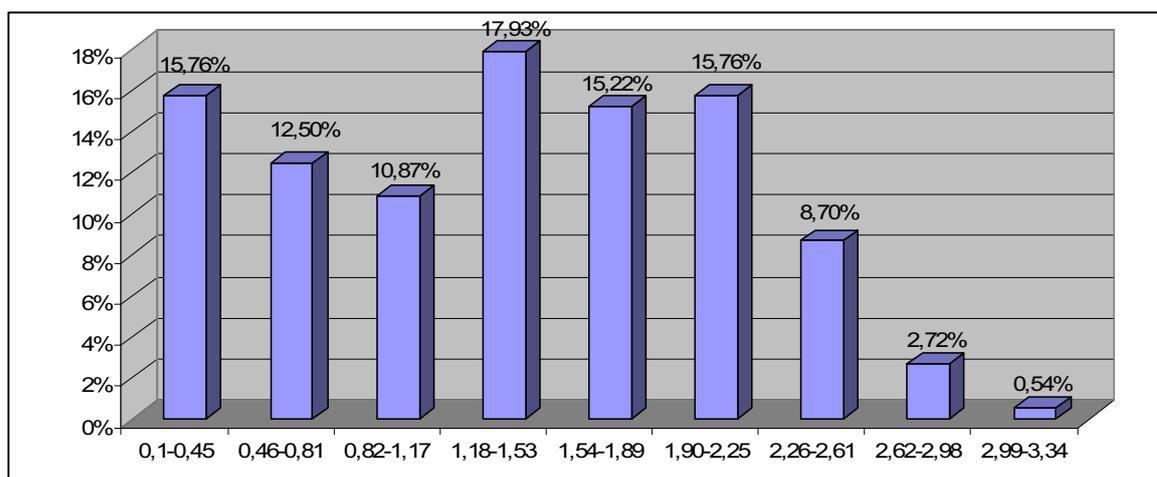


FIGURA 7 – Gráfico da frequência dos casos positivos em relação aos níveis de alcoolemia, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 9 é apresentada a frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao sexo das vítimas. Essa frequência também pode ser visualizada graficamente através da Figura 8.

TABELA 9 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao sexo, RN, Brasil, 2007

<i>Sexo</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Masculino	243	87,73
Feminino	34	12,27
Total	277	100

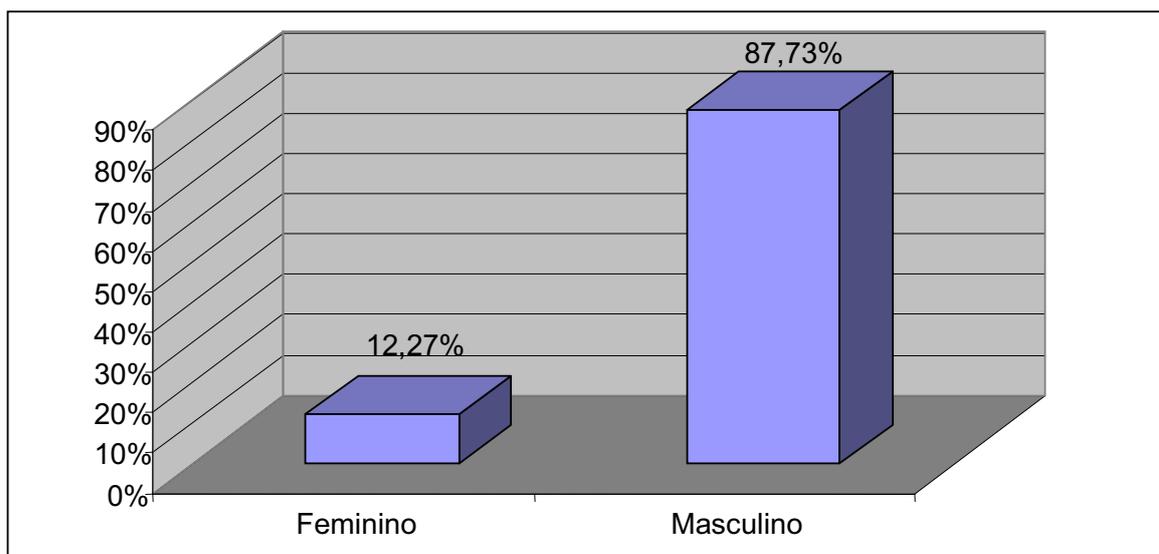


FIGURA 8 – Gráfico da frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais de acordo com o sexo, RN, Brasil, 2007.

A Tabela 10 apresenta a idade da população estudada, demonstrando a faixa etária mais frequentemente envolvida com os acidentes de trânsito. Esta distribuição pode ser visualizada na Figura 9.

TABELA 10 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007

<i>Faixa etária</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
15-23	50	18,05
24-32	77	27,80
33-41	53	19,13
42-50	37	13,36
51-59	23	8,30
60-68	17	6,14
69-77	6	2,17
78-86	5	1,81
Sem Informação	9	3,25
Total	277	100

Média da idade da população: 37,23 anos (DP = 15,3283).

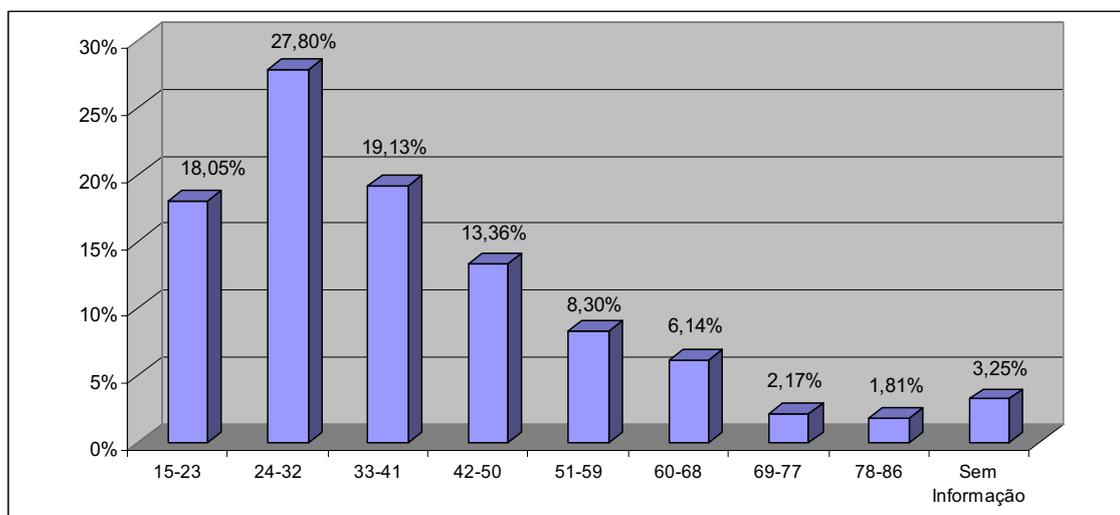


FIGURA 9 – Gráfico da frequência de vítimas fatais de acidente de trânsito em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 11 é apresentada a frequência dos acidentes com vítimas fatais de acordo com o estado civil. Essa frequência pode ser visualizada graficamente na Figura 10.

TABELA 11 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao estado civil, RN, Brasil, 2007

<i>Estado Civil</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Solteiro	154	55,60
Casado	93	33,57
Divorciado	5	1,81
Viúvo	3	1,08
Sem Informação	22	7,94
Total	277	100

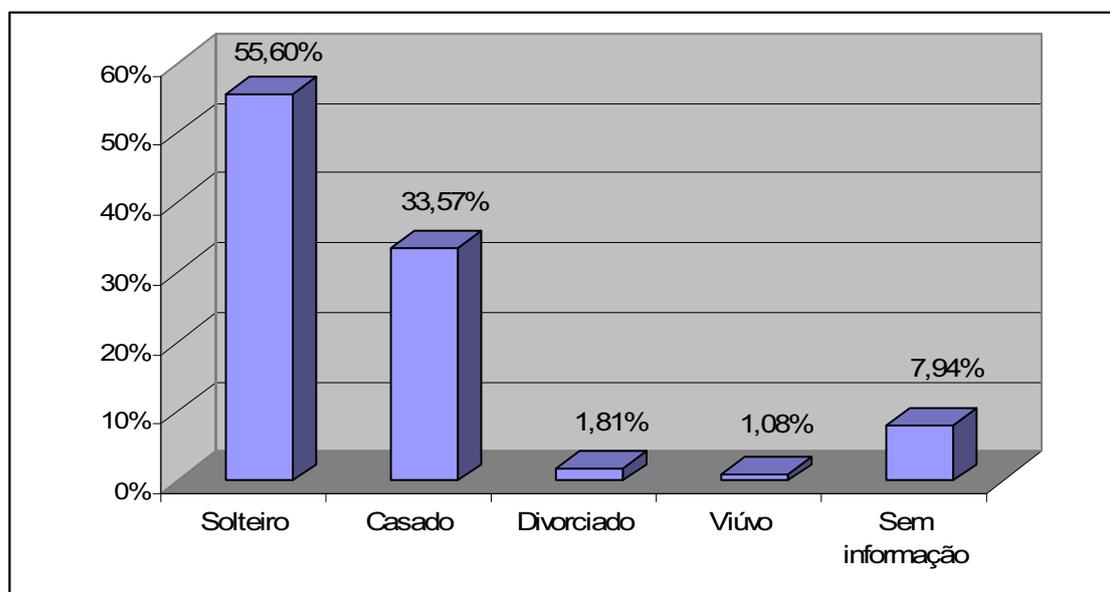


FIGURA 10 – Gráfico da frequência de acidente de trânsito com vítimas fatais em relação ao estado civil, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 12 está representada a frequência de ocorrência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação aos meses do ano, tendo como base o ano de 2007. Estes dados podem ser visualizados graficamente na Figura 11.

TABELA 12 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007

<i>Mês</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Janeiro	27	10
Fevereiro	40	14
Março	18	6
Abril	29	10
Maió	20	7
Junho	20	7
Julho	16	6
Agosto	20	7
Setembro	20	7
Outubro	26	9
Novembro	26	9
Dezembro	15	5
Total	277	100

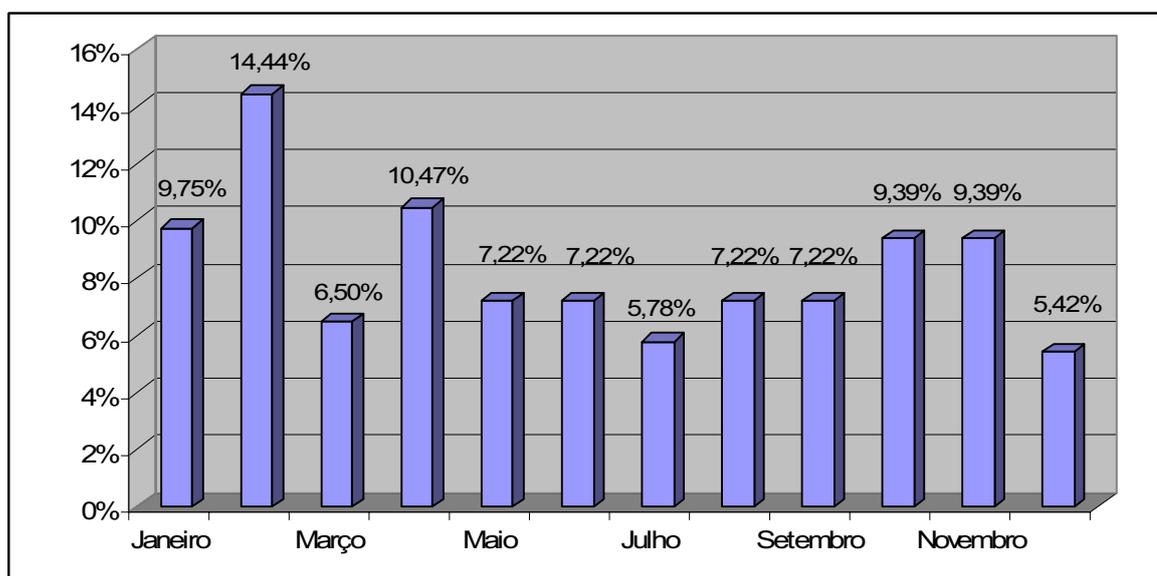


FIGURA 11 – Gráfico da frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 13 pode ser visualizada a frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao dia da semana em que os acidentes ocorreram. Esses dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 12.

TABELA 13 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao dia da semana, RN, Brasil, 2007

<i>Dia da Semana</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Segunda	76	27
Terça	31	11
Quarta	16	6
Quinta	15	5
Sexta	29	10
Sábado	43	16
Domingo	67	24
Total	277	100

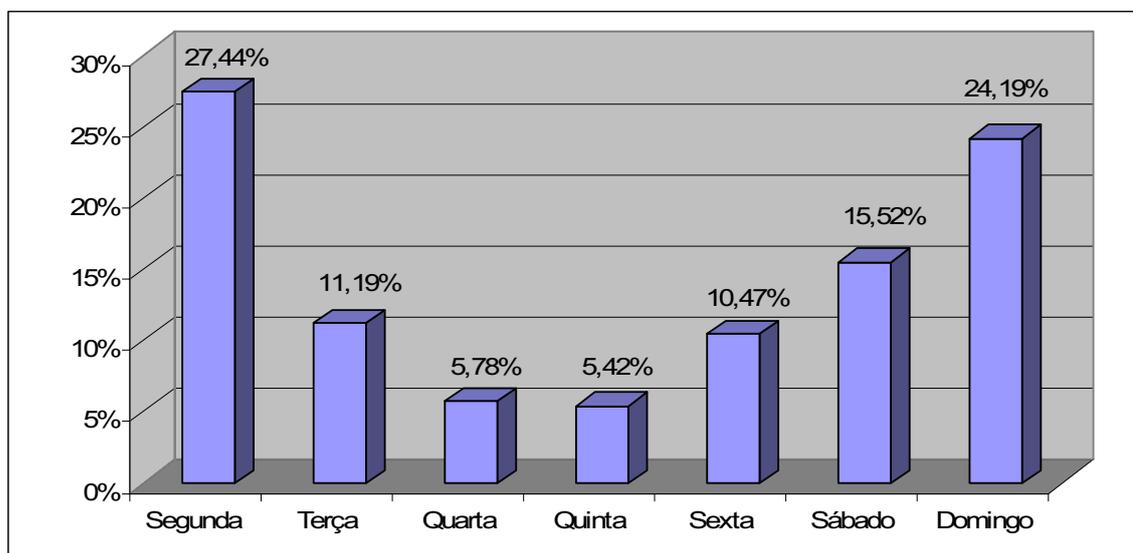


FIGURA 12 - Gráfico da frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao dia da semana, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 14 está apresentada a frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao local de ocorrência do acidente, levando-se em consideração os acidentes ocorridos no interior do estado e na grande Natal (região metropolitana do estado). Estes dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 13.

TABELA 14 – Frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao local de ocorrência, RN, Brasil, 2007

<i>Local</i>	<i>Frequência</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Grande Natal	159	57
Interior	118	43
Total	277	100

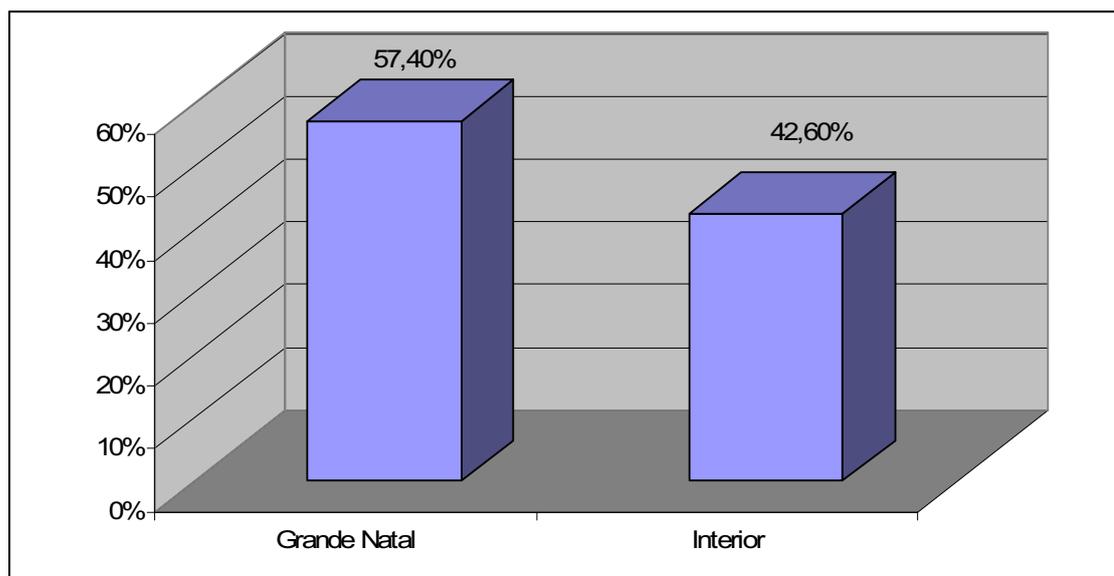


FIGURA 13 - Gráfico da frequência dos acidentes de trânsito com vítimas fatais em relação ao local de em que os acidentes ocorreram.

Na Tabela 15 é apresentada a frequência das vítimas do sexo masculino e feminino em relação à alcoolemia positiva e negativa. Esses dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 14.

TABELA 15 – Frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação à alcoolemia positiva e negativa, RN, Brasil, 2007

<i>Alcoolemia</i>	<i>Sexo</i>	
	Masculino	Feminino
Positiva	171 (70%)	13 (38%)
Negativa	72 (30%)	21 (62%)

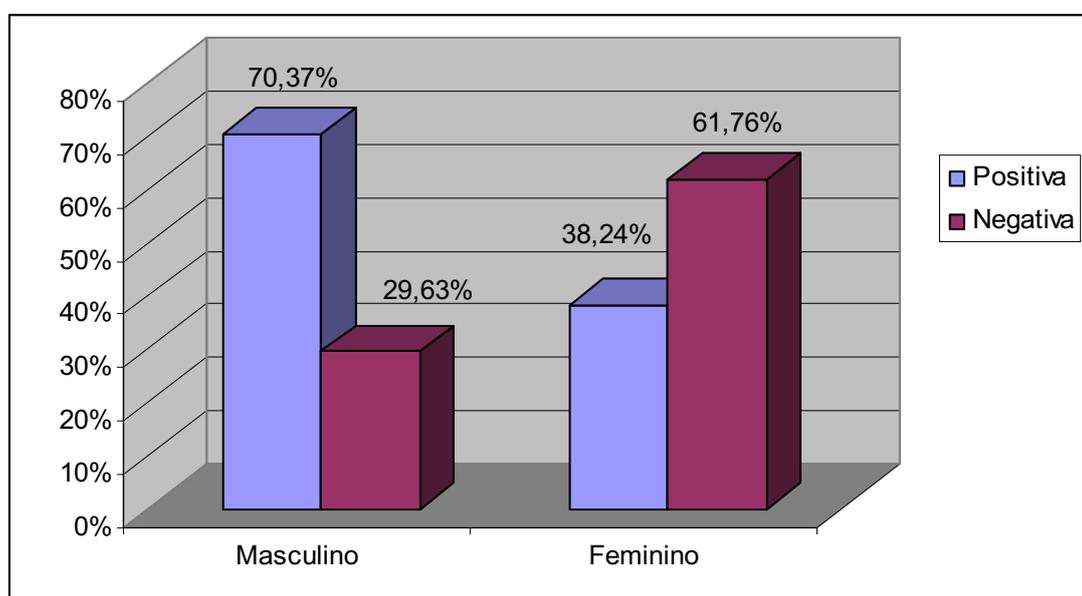


FIGURA 14 – Gráfico da frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação à alcoolemia positiva e negativa, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 16 está apresentada a média de idade da população com resultados positivos e negativos considerando o sexo masculino e o sexo feminino.

TABELA 16 – Idade média das vítimas do sexo masculino e feminino com relação à alcoolemia ao sexo, RN, Brasil, 2007

<i>Alcoolemia</i>	<i>Idade (anos) ± DP</i>		
	Grupo geral	Masculino	Feminino
Positiva	34,89 ± 12,61	35,26 ± 14,95	29,83 ± 9,65
Negativa	41,93 ± 18,91	41,51 ± 18,65	43,4 ± 20,21

Na Tabela 17 está apresentada a frequência do estado civil das vítimas em relação à alcoolemia positiva e negativa. Estes dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 15.

TABELA 17 – Frequência do estado civil das vítimas em relação à alcoolemia RN, Brasil, 2007

<i>Alcoolemia</i>	<i>Estado Civil</i>				
	Casado	Solteiro	Divorciado	Viúvo	Sem Informação
Positiva	60 (21,66%)	104 (37,55%)	1 (0,36%)	1 (0,36%)	18 (6,50%)
Negativa	33 (11,91%)	49 (17,69%)	4 (1,44%)	2 (0,72%)	5 (1,81%)

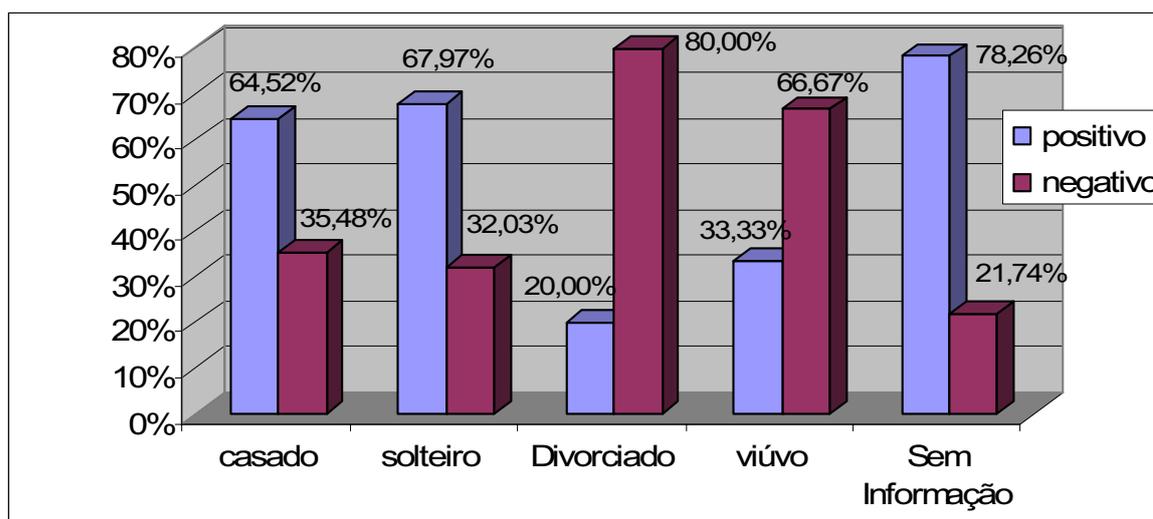


FIGURA 15 – Gráfico da frequência do estado civil das vítimas em relação à alcoolemia, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 18 está apresentada frequência das alcoolemias positivas e negativas em relação ao mês de ocorrência dos acidentes tendo como base o ano de 2007, período em que as amostras foram coletadas. Estes dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 16.

TABELA 18 – Frequência das alcoolemias positivas e negativas em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007, RN, Brasil, 2007

<i>Mês</i>	<i>Alcoolemia</i>	
	<i>Positiva</i>	<i>Negativa</i>
Janeiro	14 (5,05%)	13 (4,69%)
Fevereiro	22 (7,94%)	18 (6,50%)
Março	12 (4,33%)	6 (2,17%)
Abril	25 (9,03%)	4 (1,44%)
Maiο	16 (5,78%)	4 (1,44%)
Junho	15 (5,42%)	5 (1,81%)
Julho	9 (3,25%)	7 (2,53%)
Agosto	13 (4,69%)	7 (2,53%)
Setembro	13 (4,69%)	7 (2,53%)
Outubro	15 (5,42%)	11 (3,97%)
Novembro	19 (6,86%)	7 (2,53%)
Dezembro	11 (3,97%)	4 (1,44%)

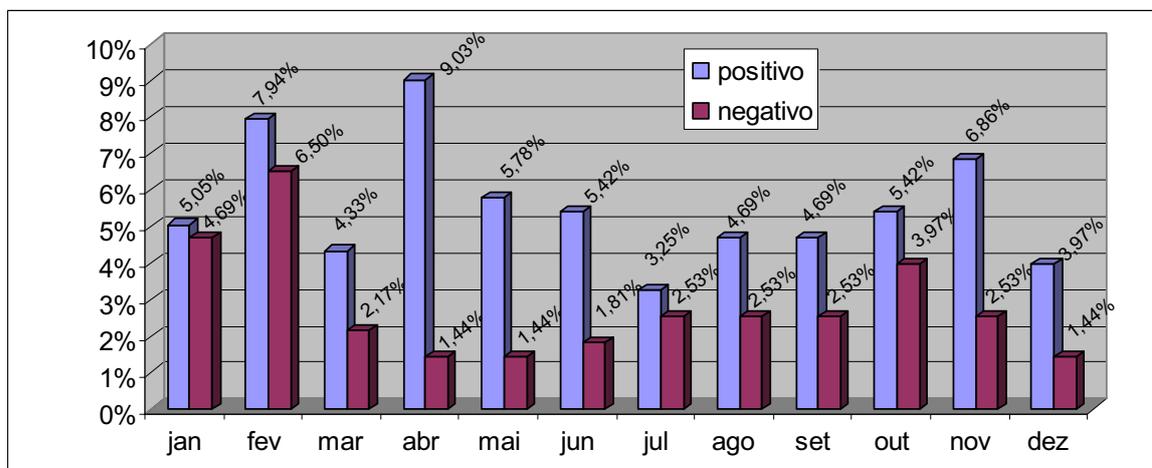


FIGURA 16 – Gráfico da frequência das alcoolemias positivas e negativas em relação aos meses do ano, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 19 está apresentada a frequência do estado civil das vítimas fatais de acidente de trânsito em relação ao sexo. Estes dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 17.

TABELA 19 – Frequência do estado civil das vítimas em relação ao sexo, RN, Brasil, 2007

<i>Sexo</i>	<i>Estado Civil</i>				
	Casado	Solteiro	Divorciado	Viúvo	Sem informação
Masculino	81 (29,24%)	133 (48,01%)	5 (1,81%)	3 (1,08%)	21 (7,58%)
Feminino	12(4,33%)	20 (7,22%)	0	0	2 (0,72%)

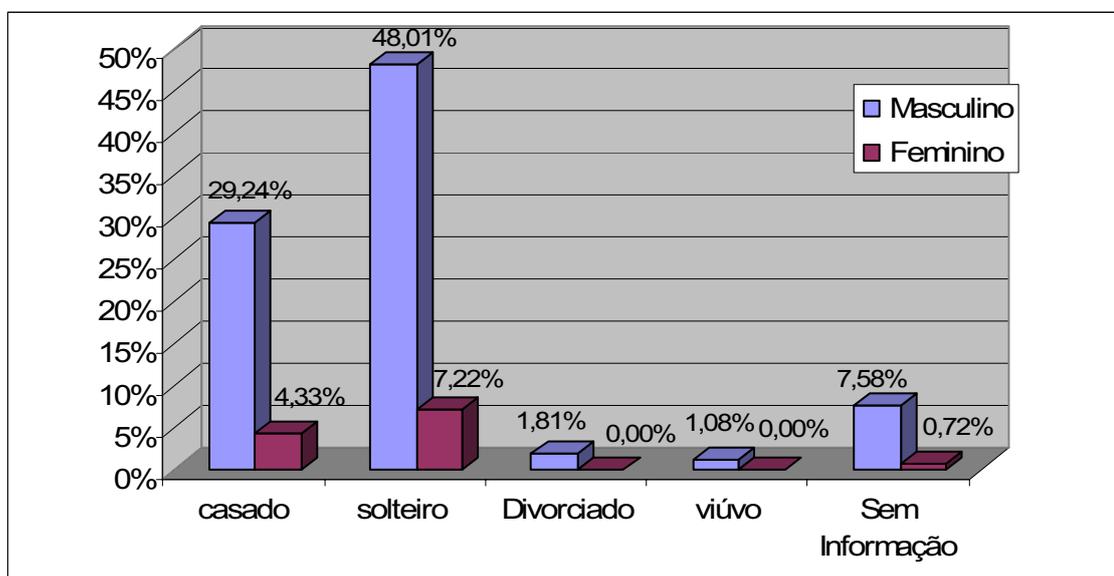


FIGURA 17 – Gráfico da frequência do estado civil das vítimas em relação ao sexo, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 20 está apresentada a frequência do sexo masculino e feminino em vítimas fatais de acidente de trânsito em relação as diferentes faixas de concentrações. Estes dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 18.

TABELA 20 – Frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação as diferentes faixas de concentrações, RN, Brasil, 2007

<i>Concentração (g/L)</i>	<i>Sexo</i>	
	Masculino	Feminino
0,1 – 0,45	28 (15,22%)	1 (0,54%)
0,46 – 0,81	23 (12,50%)	0
0,82 – 1,17	15 (8,15%)	5 (2,72%)
1,18 – 1,53	32 (17,39%)	1 (0,54%)
1,54 – 1,89	25 (13,59%)	3 (1,63%)
1,90 – 2,25	26 (14,13%)	3 (1,63%)
2,26 – 2,61	16 (8,70%)	0
2,62 – 2,98	5 (2,72%)	0
2,99 – 3,34	1 (0,54%)	0

Média de concentração para o sexo masculino: 1,35 g/L (DP = 0,7538)

Média de concentração para o sexo Feminino: 1,37 g/L (DP = 0,5491)

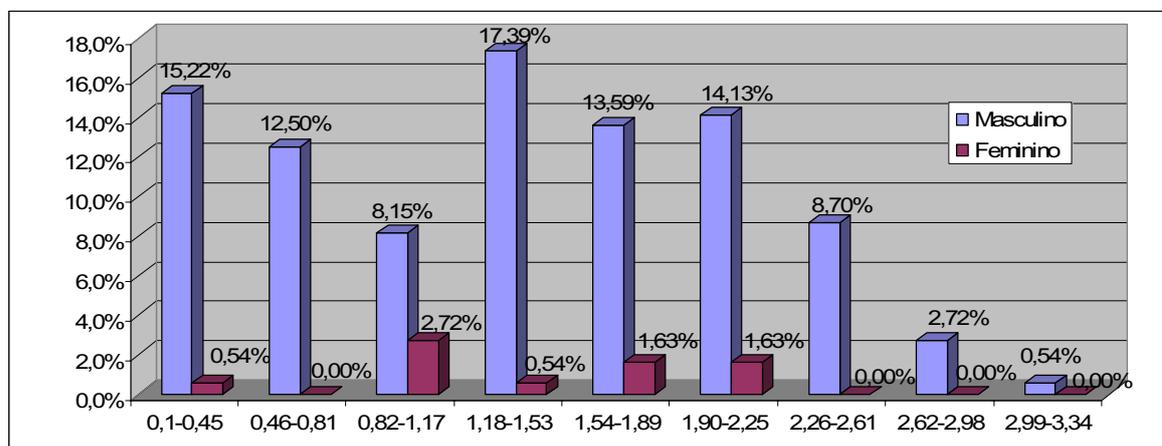


FIGURA 18 – Gráfico da frequência de vítimas do sexo masculino e feminino em relação as diferentes concentrações, RN, Brasil, 2007.

Na Tabela 21 está apresentada frequência das vítimas fatais de acidente de trânsito do sexo masculino e do sexo feminino em relação à faixa etária. Estes dados podem ser visualizados graficamente através da Figura 19.

TABELA 21 – Frequência das vítimas do sexo masculino e feminino em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007

<i>Faixa etária</i>	<i>Sexo</i>	
	Masculino	Feminino
15-23	41 (14,8%)	9 (3,2%)
24-32	73 (26,4%)	5 (1,8%)
33-41	48 (17,3%)	5 (1,8%)
42-50	30 (10,8%)	6 (2,2%)
51-59	20 (7,2%)	3 (1,1%)
60-68	16 (5,8%)	1(0,4%)
69-77	4 (1,4%)	3 (1,1%)
78-86	4 (1,4%)	0
Sem Informação	7 (2,5%)	2 (0,7%)

Média de idade para o sexo masculino: 37,08 anos (DP = 14,9507)
Média de idade para o sexo Feminino: 38,31 anos (DP = 18,1062)

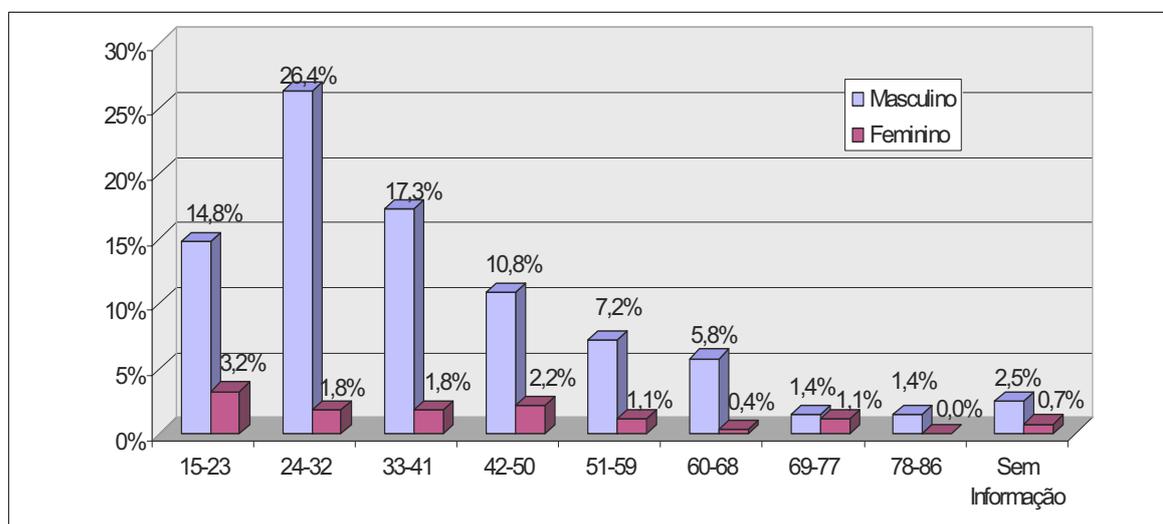


FIGURA 19 – Gráfico da frequência das vítimas do sexo masculino e feminino em relação à faixa etária, RN, Brasil, 2007.

O teste Qui-quadrado realizado nos dados obtidos, empregando um índice de significância de 5%, demonstrou que o fato de alcoolemia ser positiva ou negativa depende do sexo da vítima ($p=0,000$), no entanto independe do estado civil ($p=0,089$) da vítima e do mês ($p=0,190$) em que os acidentes ocorreram. O teste t de Student demonstrou que não há diferença estatisticamente significativa entre as concentrações obtidas em homens e mulheres ($p=0,947$) e que não há diferença significativa de idade entre homens e mulheres ($p=0,671$) tanto nas vítimas com alcoolemia positiva como nas vítimas com alcoolemia negativa. No entanto, o teste t demonstra que existe diferença estatisticamente significativa de idade entre as vítimas com alcoolemia positiva e negativa ($p=0,0003$), tanto para as vítimas do sexo masculino ($p=0,031$) como para as vítimas do sexo feminino ($p=0,038$).

6. DISCUSSÕES

O método de cromatografia em fase gasosa com separação por *head space* foi escolhido para cumprir os objetivos deste trabalho, tendo em vista ser muito empregado na determinação de etanol em amostras biológicas como o sangue, em diversas áreas da toxicologia, inclusive na área forense (CORRÊA, 1997, LIMA; MÍDIO, 1997, DEGANI et al., 1998, YONAMINE et al., 2003, WASFI et al., 2004, VENTORIN, 2004).

A técnica de *head space*, utilizada nesta pesquisa, é amplamente empregada na determinação de componentes voláteis (O'NEAL et al., 1996, CORRÊA, 1997, LIMA; MÍDIO, 1997, KOLB, 1999, GAZAL-CARVALHO et al., 2002, MUSSHOFF, 2002, WASFI et al., 2004, KRISTOFFERSON et al., 2006) e consiste na vaporização e conseqüente separação desses componentes em uma mistura (amostra) composta de líquido ou sólido não volátil. Contudo, a composição da amostra pode influenciar a concentração do analito na fase gasosa, e conseqüentemente na exatidão do resultado, sendo o efeito matriz um grande problema existente na análise quantitativa por *head space*. Para minimizar este efeito e os possíveis erros de manipulação do operador, obtendo resultados mais exatos, fez-se uso de um padrão interno para a calibração.

O padrão interno utilizado foi o t-butanol, que apresenta uma menor probabilidade de ser formado em processos de decomposição em relação aos álcoois com três carbonos (LIMA; MÍDIO, 1997). O t-butanol é uma substância similar ao etanol, com tempo de retenção próximo e geralmente não faz parte da amostra, cuja eficiência como padrão interno foi comprovada através do trabalho de O'Neal et al. (1996) e Pavlic et al (2007).

Uma outra forma de aumentar a sensibilidade e diminuir o efeito da matriz biológica sobre o analito, aumentando assim, o coeficiente de volatilização dos compostos em solução e portanto, a concentração na forma de vapor, é a adição de um sal à matriz. Essa técnica, chamada de *salting out*, diminui a solubilidade de compostos voláteis em água e em soluções com alto teor de água como o sangue. O sulfato de sódio (Na_2SO_4) foi escolhido por liberar múltiplos íons, pela sua efetividade em conseqüência de seu tamanho, densidade e dos efeitos sobre a estrutura da água, aumentando a recuperação do analito no sangue (CORRÊA, 1997).

Foram estabelecidas temperaturas para injetor, detector e coluna que proporcionaram boas condições de análise, com um fluxo de gás na coluna adequado para a obtenção de um tempo de corrida satisfatório para a realização das análises a que o trabalho se propõe, sendo o etanol juntamente com o t-butanol (padrão interno) eluídos no tempo máximo de 12 minutos (Tabela 2 e Figura 2).

A correlação entre o sinal medido (área do pico) e a concentração do analito a ser quantificado raramente é conhecida. Na maior parte dos casos, a relação matemática entre o sinal e a concentração de interesse deve ser determinada empiricamente, a partir de sinais medidos para concentrações conhecidas dessa espécie. Esta relação matemática, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação da reta chamada de curva de calibração (RIBANI et al., 2004). A curva de calibração foi obtida a partir da análise de amostras de sangue adicionadas de etanol em concentrações conhecidas. Na preparação da curva foram utilizados cinco níveis de concentração conforme preconiza as diretrizes da ICH (*International Conference on Harmonization*) e da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), com desvio padrão relativo entre as injeções inferior a 5% (AGENCIA, 2002, RIBANI et al., 2004, INTERNACIONAL, 2005).

O método apresentado demonstrou uma boa linearidade na faixa de concentração de 0,01 g/L a 3,2 g/L ($y = 0,8051x + 0,6196$, $r = 0,9989$), que abrange desde o consumo moderado de bebida alcoólica até os casos de intoxicação aguda, abrangendo a faixa de eleição neste tipo de análise.

No presente trabalho, a exatidão do método foi avaliada pela recuperação do etanol em amostras de sangue adicionadas de etanol. Foram utilizados três níveis de concentração, sendo cada concentração analisada em triplicata conforme recomendações da ICH e da ANVISA. (AGENCIA, 2002, INTERNACIONAL, 2005). Os resultados obtidos foram avaliados pelo teste t de Student de acordo com a seguinte fórmula (BRITO et al., 2003):

$$t = \frac{(\text{Rec} - 100)}{\frac{S_{\text{Rec}}}{\sqrt{n - 1}}}$$

na qual: Rec = média das recuperações obtidas para n repetições; 100 = a recuperação percentual desejada; n = número de determinações; S_{Rec} = desvio padrão das recuperações.

O valor t obtido para cada concentração se enquadrou no intervalo estabelecido pelo valor tabelado para n - 1 graus de liberdade no nível de significância de 0,05, sendo o método, portanto, considerado exato.

A precisão do método foi verificada através dos coeficientes de variação (CVs), inter e intra-ensaios, obtidos nas análises de amostras de sangue adicionadas de etanol em concentrações determinadas, sendo utilizadas três concentrações diferentes, analisadas em triplicata conforme sugerido pela ICH e ANVISA. Os coeficientes de variação obtidos

(Tabela 4 e 5) mostraram-se aceitáveis, visto que se encontram dentro da faixa preconizada, a qual aceita uma imprecisão menor que 15%.

As amostras de sangue das vítimas fatais de acidentes de trânsito foram analisadas pelo método de cromatografia em fase gasosa, sendo determinada a frequência da idade, do estado civil e do sexo masculino e feminino de toda a população analisada, assim como os dias da semana e o mês em que os acidentes foram mais frequentes e o local de ocorrência dos acidentes, considerando os acidentes ocorridos no interior do estado e na região metropolitana, conhecida como grande Natal (Ceará-Mirim, Extremoz, Macaíba, Monte Alegre, Nísea Floresta, Parnamirim, São Gonçalo do Amarante e São José do Mipibu).

Após a determinação dos níveis de alcoolemia as vítimas foram divididas em dois grupos, um grupo com alcoolemia positiva e outro com alcoolemia negativa, considerando positivas as amostras que apresentaram teor de álcool de no mínimo 0,01 g/L. Para cada grupo de alcoolemia, foi determinada a frequência do sexo masculino e feminino e a média de idade, demonstrando o perfil das vítimas que consumiram ou não bebida alcoólica. Para o grupo com alcoolemia positiva foi determinada a frequência de vítimas com concentração inferior a 0,2 g/L e igual ou superior a essa concentração, e a faixa de concentração mais frequentemente encontrada nesta população relacionando-a com o sexo masculino e feminino.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram uma evidente associação entre o uso de bebidas alcoólicas e as mortes nos acidentes de trânsito, fato observado também na maioria dos países independentemente do grau de desenvolvimento. Os níveis de alcoolemia determinados, demonstraram a presença de etanol no sangue de mais da metade, 66,43% das vítimas fatais de acidente de trânsito (Tabela 6) e destes, 96% apresentaram concentração igual ou superior a 0,2 g/L (Tabela 7), que corresponde a concentração mínima estabelecida pelo código de trânsito brasileiro, segundo a lei 11.705, de junho de 2008 (BRASIL, 2008).

A faixa de concentração mais frequentemente encontrada na população foi de 1,18 a 1,53 g/L (Tabela 8), apresentando uma média de $1,35 \pm 0,74$ g/L levando em consideração todas as concentrações. Neste nível de concentração o indivíduo apresenta lentificação dos reflexos e prejuízo do equilíbrio e dos movimentos (MALBERGIER; SCIVOLETTO, 2003), permitindo inferir que o álcool provavelmente contribuiu para ocorrência e a gravidade dos acidentes. A média de concentração obtida neste trabalho está um pouco abaixo daquelas obtidas em alguns trabalhos realizados no Brasil, como no estado de São Paulo ($2,14 \pm 0,95$ g/L) e do Distrito Federal (1,92 g/L) (LEYTON et al., 2005, MODELLI, 2008).

Na Tabela 9 pode ser observado que o número de vítimas fatais do sexo masculino é consideravelmente maior que no sexo feminino, representando 87,73% da população, dados semelhantes podem ser observados nacional e internacionalmente (WALLER et al., 2003, HOLMGREN et al., 2005, LEYTON et al., 2005, MODELLI et al., 2008). Como pode ser visto, os homens são as maiores vítimas dos acidentes de trânsito e isto pode estar relacionado diretamente com o consumo de bebida alcoólica, tendo em vista que mais da metade, 77,37% das vítimas do sexo masculino apresentaram alcoolemia positiva (Tabela 15). A Tabela 21 mostra que as vítimas do sexo masculino também apresentaram uma faixa de concentração de álcool no sangue maior (1,18 – 1,53 g/L), do que as vítimas do sexo feminino (0,82 – 1,17 g/L), estando de acordo com o observado na literatura (LEYTON et al., 2005); no entanto, os testes estatísticos realizados demonstraram que esta diferença de concentração entre homens e mulheres não é estatisticamente significativa.

Na Tabela 10 pode ser observado que a população predominantemente envolvida com acidente de trânsito é constituída por adultos jovens na faixa etária de 24 – 32 anos, o que está de acordo com os dados da literatura (MERCER; JEFFERY, 1995, ARNETT et al., 2001, DEL RIO et al. 2002, GAZAL-CARVALHO et al., 2002, MURA et al., 2003, WALLER et al., 2003, LEYTON et al., 2005, MODELLI et al., 2008). Os homens estão predominantemente dentro da faixa etária da população em geral e as mulheres numa faixa etária menor de 15 – 23 anos (Tabela 21). Os testes estatísticos realizados mostraram que apesar de uma maior porcentagem de mulheres estarem na faixa etária de 15 – 23 anos enquanto que os homens na faixa etária de 24 – 32 anos, não existe diferença estatisticamente significativa de idade entre homens e mulheres envolvidos em acidente de trânsito.

As vítimas com alcoolemia positiva apresentaram idade média menor do que as vítimas com alcoolemia negativa (Tabela 16). Os testes estatísticos demonstraram que essa diferença é significativa, tanto para as vítimas do sexo masculino como para as vítimas do sexo feminino. Leyton et al. (2005) e Mercer e Jeffery (1995) também observaram uma média de idade menor nas vítimas com alcoolemia positiva em relação às vítimas com alcoolemia negativa.

A Tabela 11 mostra que 55,60% das vítimas de acidente de trânsito são solteiras, sendo este grupo o que apresenta um maior número de alcoolemia positiva (Tabela 17) e um maior número de vítimas do sexo masculino (Tabela 19). Em trabalhos semelhantes também foi observado uma maior prevalência de alcoolemia positiva no grupo dos solteiros (GAZAL-

CARVALHO et al. 2002, LEYTON et al., 2005). Os testes estatísticos revelaram que o fato de a alcoolemia ser positiva ou negativa independe do estado civil da vítima.

A amostra analisada foi dividida em dois grupos com relação ao local de ocorrência dos acidentes, o primeiro constituído pelos acidentes na região metropolitana e o segundo constituído pelos acidentes no interior do estado. Os acidentes ocorridos na região metropolitana constituem 57,40% da população estudada (Tabela 14) representando a maior parte dos acidentes.

Com relação ao dia da semana em que os acidentes ocorreram pode-se observar que a segunda-feira foi o dia que apresentou a maior prevalência (27,44%), seguido pelo domingo, sábado e sexta-feira, com 24,19%, 15,52% e 10,47% respectivamente (Tabela 13), observando uma prevalência de ocorrência de acidentes em torno do final de semana, resultado condizente com outros estudos (MERCER; JEFFERY, 1995, GAZAL-CARVALHO et al. 2002)

No decorrer do estudo constatou-se que as prevalências de acidentes oscilaram entre os diferentes meses, observando-se que fevereiro e abril foram os meses que apresentaram um maior número de acidentes, 14,44% e 10,47% respectivamente e que dezembro foi o mês que apresentou o menor número de acidentes com 5,42% das ocorrências (Tabela 12). A Tabela 18 mostra que os padrões de consumo de álcool também foram sazonais, observando-se maiores prevalências de alcoolemia positiva nos meses de abril e fevereiro, e menores prevalência nos meses de julho e dezembro. Contudo, os testes estatísticos realizados demonstraram que o fato de a alcoolemia ser positiva ou negativa independe do período do ano em que os acidentes ocorreram.

O perfil das vítimas que apresentaram as maiores prevalências de alcoolemia positiva é semelhante ao verificado em outros estudos: indivíduos do sexo masculino, da faixa etária jovem e solteiros. Alguns autores atribuem o fato de um maior número de homens estarem envolvidos em acidentes de trânsito, à maior exposição deste grupo aos fatores que atuam como adjuvantes nos acidentes de trânsito como o consumo de álcool, já comprovado neste estudo, e o comportamento mais agressivo do sexo masculino (SCALASSARA et al., 1998).

O número de vítimas alcoolizadas em acidentes de trânsito pode ser ainda maior, tendo em vista que foram coletadas, para esse estudo, apenas amostras de vítimas que morreram no local do acidente. Alguns trabalhos realizados em hospitais, também evidenciaram uma alta incidência de envolvimento de bebidas alcoólicas em diversas ocorrências traumáticas,

inclusive em ocorrências no trânsito (GAZAL-CARVALHO et al., 2002, WALLER et al., 2003).

Os resultados relativos ao Estado do Rio Grande do Norte reafirmam achados de outros estudos e acrescentam novos elementos na compreensão das estatísticas que fazem do país uma referência nas altas taxas de mortalidade no trânsito. A importância deste estudo é ressaltada tendo em vista que as amostras das vítimas de acidentes de trânsito utilizadas se referem a um período imediatamente anterior a mudança da legislação de trânsito, a qual tornou mais severa a punição do condutor alcoolizado, servindo de referência para estudos posteriores. Frente aos indicadores apresentados, qualquer estudo sobre a problemática de trânsito é justificável, tendo em vista a relevância dos acidentes de trânsito fatais no Brasil, especialmente pela predominância em populações jovens e/ou economicamente ativas, levando a perda de anos de vida produtiva e elevando o custo direto e indireto para a sociedade, sendo assim importante a caracterização desse problema nos diferentes estados brasileiros para a determinação do perfil do trânsito no Brasil e identificação das regiões mais críticas.

7. CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- O método padronizado demonstrou-se eficiente, atendendo satisfatoriamente aos objetivos deste trabalho;

- O etanol estava presente no sangue de mais da metade das vítimas de acidente de trânsito nas amostras estudadas.

- As vítimas de acidente de trânsito são em sua maioria adultos jovens, do sexo masculino e do estado civil solteiro.

- Os maiores níveis de alcoolemia e o maior número de acidentes ocorreram no final de semana e principalmente na região metropolitana do estado.

- As vítimas com alcoolemia negativa apresentaram uma faixa de idade menor em relação as vítimas com alcoolemia positiva.

- Os níveis elevados de alcoolemia encontrados no presente trabalho nas vítimas fatais de acidente de trânsito são coincidentes com vários estudos da literatura, sendo o perfil da vítima também semelhante.

- Os resultados reforçam a relação álcool e acidentes automobilísticos com vítimas fatais, sendo necessárias medidas em diferentes níveis de prevenção, dirigidas principalmente à população de maior risco considerando programas com o objetivo de diminuir essas ocorrências.

- Os resultados obtidos bem como algumas questões levantadas na discussão dos resultados, sugerem a necessidade de aprofundar o estudo acerca da violência no trânsito no Rio Grande do Norte para uma melhor aproximação à realidade, analisando todas as ocorrências do Estado incluindo também as vítimas não fatais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução n. 475, de 19 de março de 2002. **Diário Oficial**, 20 mar. 2002. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 10 out., 2008.

ARNEDT, J. T. et al. How do prolonged wakefulness and alcohol compare in the decrements they produce on a simulated driving task? **Accident Analysis & Prevention**, v. 33, p. 337-344, 2001.

BAKER, S.P. et al. Drinking histories of fatally injured drivers. **National Library of Medicine**, v. 3, p. 221-226, 8 set. 2002. Disponível em www.pubmed.com. Acesso em: 24 set., 2002.

BAU, C. H. D. Estado atual e perspectivas da genética e epidemiologia do alcoolismo. **Ciência e Saúde Coletiva**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2002.

BONATO, P. S. Cromatografia gasosa. In: CAROL, H. (Org.) **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: UNICAMP, 1997. p. 141-181.

BONFIM, J. Trânsito mata 700 mil por ano no mundo. **Jornal A tarde**. São Paulo, 18 nov., 1998. Disponível em www.transito.hpg.ig.com.br. Acesso em: 24 fev., 2004.

BRASIL. Ministério das Cidades. Departamento Nacional de Trânsito (DENATRAN). Coordenação Geral de Informatização e Estatística CGIE. **Anuário estatístico de acidentes de trânsito – Brasil, 2005**. Brasília, 2005, Quadro 5. Disponível em www.denatran.gov.br. Acesso em: 06 fev., 2007.

BRASIL. Ministério das Cidades. Departamento Nacional de Trânsito (DENATRAN). **Alteração na legislação de trânsito sobre álcool e direção**. 2008. Disponível em: http://www.denatran.gov.br/ultimas/2008626_alcool_direcao.htm. Acesso em 30.06.2008.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, V.13, p. 129-146, jan./dez. 2003.

CARVALHO, D. G.; LEYTON, V. Avaliação das concentrações de álcool no ar exalado: considerações gerais. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 27, n. 2, p. 1-9, 2000.

CASTANHO, J. R. Cromatografia: Um processo de separação de substância. Disponível em: <<http://jacintocastanho.planetaclix.pt/cromatografia.htm>>. Acesso em: 21 jan. 2006.

CHASIN, A. A. M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de Métodos cromatográficos em análises toxicológicas. **Revista de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 30, n.2, p.49-53, jul/dez, 1994.

CIOLA, R. Cromatografia. In: _____. **Fundamentos de cromatografia a líquido de alto desempenho HPLC**. São Paulo: Edgard Blücher, 1998. p. 1-7.

COLLINS, C. H. Princípios Básicos de Cromatografia. In: _____. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: UNICAMP, 1997. p. 13-27.

CORRÊA, C. L. **Validação da urina para análise toxicológica de etanol em “Programas de controle e prevenção do uso de álcool no local de trabalho”**. 1997. 99p. Dissertação(Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: Um breve ensaio. **Química nova na escola**, n. 7, p. 21-25, maio 1998.

DEL RIO, M. C.; ALVAREZ, F. J. Alcohol use among fatally injured drivers in Spain. **Forensic Science International**, v. 104, p. 117-125, 1999.

DEL RIO, et al. Alcohol, illicit drugs in fatally injured drivers in Spain between 1991 and 2000. **Forensic Science International**, v. 127, n. 1-2, p. 63-70, jun. 2002.

DRUMMER, O. H. et al. The incidence of drugs in drivers killed in Australian road traffic crashes. **Forensic Science International**, v. 134, p. 154-162, 2003.

FLOWERS, N. T. et al. Patterns of Alcohol Consumption and Alcohol-Impaired Driving in the United States. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 32, n. 4, abril 2008.

FRANÇA, G. V. Embriaguez alcoólica. In: _____. **Medicina Legal**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 273-279.

FUNG, W.K. et al. The statistical variability of blood alcohol concentration measurements in drink-driving cases. **Forensic Science International**, v. 110, p. 207–214, mar. 2000.

GAZAL – CARVALHO, C. et al. Prevalência de alcoolemia em vítimas de causas externas admitidas em centro urbano de atenção ao trauma. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 1-13, fev. 2002.

HADFIELD, R.J.H.; MERCER, M.J.A; PARR, M.J.A. Alcohol and Drug abuse in trauma. **Forensic Science International**, v. 48, p. 25-36, 2001.

HOBBS, W. R.; RALL, T. W.; VERDOORN, T. A. Hipnóticos e sedativos. In: GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.264-273.

HOLMGREN, P.; HOLMGREN, A.; AHLNER, J. Alcohol and drugs in drivers fatally injured in traffic accidents in Sweden during the years 2000-2002. **Forensic Science International**. V. 151, p. 11-17, 2005.

HOUSTON, D.J.; RICHARDSON, L. E. Drinking-and-Driving in America: A test of Behavioral Assumptions Underlying Public Policy. **Political Research Quarterly**, v. 57, n. 1, p. 53-64, Marc. 2004.

INTERNATIONAL CONFERENCE FOR HARMONISATION. Expert Technical Working Group. **ICH Harmonised Tripartite Guideline**: validation of analytical procedures: text and

methodology Q2 (R1). [s.l.], 2005. Disponível em: <www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf>. Acesso em: 10 out., 2008.

KOLB, B. Headspace sampling with capillary columns. **Journal of Chromatography A**, V.842, P. 163–205, 1999.

KRISTOFFERSEN, L.; STORMYHR, L.E.; SMITH-KIELLAND, A. Headspace gas chromatographic determination of ethanol: The use of factorial design to study effects of blood storage and headspace conditions on ethanol stability and acetaldehyde formation in whole blood and plasma. **Forensic Science International**, v. 161, p. 151–157, 2006.

LARINI, L.; SALGADO, P. E. T. Compostos voláteis. In: LARINE, LOURIVAL. **Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1993. p.69-78.

LEYTON, V. et al. Perfil epidemiológico das vítimas fatais por acidente de trânsito e a relação com o uso do álcool. **Saúde. Ética & justiça**. V. 10, n. 1-2, p. 12-18, 2005.

LIMA, I.V.; MÍDIO, A. F. Validação de um método cromatográfico em fase gasosa – head space para determinação de álcool etílico em fluidos biológicos de interesse forense. **Revista Brasileira de Toxicologia**. v. 10, n. 2, p. 21-27, 1997.

MALBERGIER, A., SCIVOLETTO, S. Toxicologia social e medicamentos. In: OGA, SEIZI. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. cap. 4, p.272-285.

MARKELOV, M.; BERSHEVITS, O.A. Methodologies of quantitative headspace analysis using vapor phase sweeping. **Analytica Chimica Acta**, v. 432, p. 213–227, 2001.

MENDEHAM, J. et al. Cromatografia com fase gasosa. In: _____. **Vogel Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora, 2002. p. 60-173.

MERCER, G. W.; JEFFERY, W. K. Alcohol, drugs, and impairment in fatal traffic accidents in British Columbia. **Accid. Anal. And Prev.** v. 27, n. 3, p. 335-343, 1995.

MINAYO, M. C. S.; DESLANDES, S. F. A complexidade das relações entre drogas, álcool e violência. **Caderno de saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p.1-11 , jan./mar. 1998.

MODELLI, M. E. S.; PRATESI, R.; TAIUIL, P. L. Alcoolemia em vítimas fatais de acidentes de trânsito no Distrito Federal, Brasil. **Revista Saúde Pública**, v. 42, n. 2, p. 350-352, 2008.

MURA, P. et al. Comparison of the prevalence of alcohol, cannabis and other drugs between 900 injured drivers and 900 control subjects: results of a French collaborative study. **Forensic Science International**, v. 133, n. 1-2, p. 79-85, abr. 2003.

MUSSHOFF, F. C chromatographic methods for the determination of markers of chronic and acute alcohol consumption. **Journal of Chromatography B**, v. 781, p. 457–480, 2002.

OLIVEIRA, E. R.; LUIS, M. A. V. Distúrbios relacionados ao álcool em um setor de urgências psiquiátricas. Ribeirão Preto, Brasil (1988-1990). **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.12, n.2, p.1-14, abr./jun. 1996.

O'NEAL, C. L. et al. Gas chromatographic procedures for determination of ethanol in postmortem blood using t-butanol and methyl ethyl ketona as internal standards. **Forensic Science International**. v. 83, p. 31-38, 1996.

PAVLIC, M.; GRUBWIESER, P.; LIBISELLER, K.; RABL, W. Elimination rates of breath alcohol. **Forensic Science International**, v. 171, p. 16-21, 2007.

PORTARI, G. V. **Infusão de glicose e tiamina em ratos tratados com dose aguda de etanol**. 2006, 101p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p.771-780, 2004.

RUZ, J. et al. Determination of ethanol in human fluids – I. Determination of ethanol in blood. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 4, n. 5, p.545-558, 1986.

SAMPAIO, F. Alcool, drogas e direção: É simples: se você beber ou usar drogas e dirigir, pode se dar muito mal. Mesmo sabendo disso, porque tanta gente continua arriscando a própria vida e a dos outros atrás do volante? **Revista MTV**. v.3, p.84-87, 2003.

SCHVARTSMAN, S. Intoxicações por produtos químicos. In: _____. **Intoxicações por Produtos de uso domiciliar**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 1991. cap.2, p.151- 155.

SEPPALA, T.; LINNOILA, M.; MATTILA, M.J. **Drugs, alcohol and driving**, v. 5, p.389-408, 17 May 1979. Disponível em www.pubmed.com. Acesso em: 27 nov., 2002.

SMINK, B. E. et al. Drug use and the severity of a traffic accident. **Accident Analysis and Prevention**, v. 37, p. 427-433, 2004.

SNOW, N. H.; SLACK, G. C. Head-space analysis in modern gas chromatography. **Trends in analytical chemistry**. v.21, n. 9/10, p.608-617, 2002.

SOUZA JÚNIOR, E.A.; MOURA, J.A. Alcoois e síndrome de abstinência alcoólica. In: _____. **Toxicologia na prática clínica**, Belo Horizonte: Folium, 1993. cap.4, p.41-51.

SCALASSARA, M. B.; SOUZA, R. K. T.; SOARES, D. F. P. P. Características da mortalidade por acidentes de trânsito em localidade da região Sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v. 32, n. 2, p. 472-478, abr.1998

TAGLIARO, F. et al. Chromatographic methods for blood alcohol determination. **Journal of chromatography: Biomedical Applications**. v. 580, n. 1-2, p. 161-190, 2002.

TROIS, C. C. et al. Prevalência de CAGE positivo entre estudantes de segundo grau de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 1994. **Caderno de Saúde pública**, Rio de Janeiro, v.13, n.3, p.1-11, jul./set., 1997.

VENTORINI, M. V. P. **Relação entre a dosagem de etanol no sangue e na saliva**. 2004, 85p. Dissertação (mestrado).

VIEIRA, E.; LICHTIG, J. Validação de métodos cromatográficos em análise de resíduos de pesticidas. **Arq.Inst.Biol.**, São Paulo, v.71, p.1-749, 2004 (supl.).

WALLER, P. F. Et al. Alcohol Effects on Motor Vehicle Crash Injury. **Alcoholism: clinical and experimental research**, v. 27, n. 4, p. 695-703, abril 2003.

WASFI, I. A., et al. Rapid and sensitive static headspace gas chromatography–mass spectrometry method for the analysis of ethanol and abused inhalants in blood. **Journal of Chromatography B**. v. 799, p. 331–336, 2004.

YONAMINE, M. et al. Solid-phase micro-extraction-gas chromatography–mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol, amphetamine, methamphetamine, cocaine and ethanol in saliva samples. **Journal of Chromatography B**, v.789, p. 73–78, 2003.

Zilly, M. et al. Highly sensitive gas chromatographic determination of ethanol in human urine samples. **Journal of Chromatography B**, v. 798, p. 179–186, 2003.

APÊNDICE

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO DO PROJETO DE PESQUISA Nº 069/ 06-CEP/UFRN

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Dados do Pesquisador Responsável

Nome: Maria de Fátima Vitória de Moura

Endereço na instituição: Av. Gal. Gustavo Cordeiro de Farias, s/n, Faculdade de Farmácia, Petrópolis

Contato: (84)205-2583 / mfvmoura@yahoo.com.br

2. Informações sobre a Pesquisa

Trata-se da pesquisa de álcool no sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito no Rio Grande do Norte e validação do método de Cromatografia Gasosa para detecção de álcool etílico no sangue, utilizando voluntários sadios, com o objetivo de verificar a relação do uso dessa substância com acidente de trânsito, propondo possíveis estratégias preventivas e educativas aos órgãos competentes, e verificar a confiabilidade do método.

3. Procedimento

- 3.1. Coleta de sangue de voluntários sadios;
- 3.2. Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- 3.3. Adição de padrão de álcool etílico ao sangue coletado dos voluntários.
- 3.4. Realização da pesquisa de álcool no sangue adicionado através do método de cromatografia gasosa, realizado no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia – UFRN;

4. Benefício da Pesquisa

Obtenção de relatórios que propiciem medidas educativas e preventivas por parte das autoridades responsáveis.

5. Riscos ao doador

Os riscos ao doador serão mínimos, pois serão tomados os cuidados básicos de assepsia e biossegurança para a coleta de sangue. Informamos ainda que a identidade dos doadores não será divulgada em hipótese alguma e os resultados das análises quando publicados não farão referência ao sujeito e sua identidade.

6. Em caso de despesas ou danos decorrentes da pesquisa, devidamente comprovados, o sujeito será ressarcido e/ou indenizado.

7. As análises serão realizadas pelas Farmacêuticas Bioquímica Edna de Farias Santiago e Teresa Cristina Epifânio Diógenes Rego, no Laboratório de Toxicologia da UFRN.

8. Consentimento da participação

Declaro que os responsáveis pela pesquisa informaram os riscos e benefícios do projeto de pesquisa a ser realizado, e que após ter lido e compreendido as informações contidas neste documento, autorizo a utilização da amostra de sangue na referida pesquisa, e da publicação científica dos resultados obtidos.

Assinatura do doador



Assinatura do Pesquisador Responsável

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO DO PROJETO DE PESQUISA Nº 069/ 06-CEP/UFRN

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

1. Dados do Pesquisador Responsável

Nome: Maria de Fátima Vitória de Moura

Endereço na instituição: Av. Gal. Gustavo Cordeiro de Farias, s/n, Faculdade de Farmácia, Petrópolis

Contato: (84)205-2583 / mfvmoura@yahoo.com.br

2. Informações sobre a Pesquisa

Trata-se da pesquisa de álcool no sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito, com o objetivo de verificar a relação do uso dessa substância com acidente de trânsito e propor possíveis estratégias preventivas e educativas aos órgãos competentes.

3. Procedimento

3.1. Coleta de sangue de vítimas fatais de acidente de trânsito (procedimento realizado rotineiramente pelo ITEP/RN independente da pesquisa);

3.2. Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

3.3. Realização da pesquisa de álcool no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia – UFRN, através do método de cromatografia gasosa;

4. Benéfico da Pesquisa

Obtenção de relatórios que propiciem medidas educativas e preventivas por parte das autoridades responsáveis.

5. Riscos ao doador

Os riscos ao doador e/ou responsável serão mínimos, pois a coleta de sangue faz parte da rotina normal do Instituto Técnico-Científico de Polícia do RN – ITEP/RN, não sendo necessário nenhum outro procedimento fora dessa rotina. Informamos ainda que a identidade dos doadores ou responsáveis não serão divulgadas em hipótese alguma e os resultados das análises quando publicados não farão referência ao sujeito e sua identidade.

6. Em caso de despesas ou danos decorrentes da pesquisa, devidamente comprovados, o sujeito será ressarcido e/ou indenizado.

7. As análises serão realizadas pelas Farmacêuticas Bioquímica Edna de Farias Santiago e Teresa Cristina Epifânio Diógenes Rego, no Laboratório de Toxicologia da UFRN.

8. Consentimento da participação

Declaro que os responsáveis pela pesquisa informaram os riscos e benefícios do projeto de pesquisa a ser realizado, e que após ter lido e compreendido as informações contidas neste documento, autorizo a utilização da amostra de sangue na referida pesquisa, e da publicação científica dos resultados obtidos.

Assinatura do Responsável



Assinatura do Pesquisador Responsável