



O USO DO HUMOR VÍTREO COMO MATRIZ BIOLÓGICA PARA REALIZAÇÃO DE EXAMES TOXICOLÓGICOS

THE USE OF VITREOUS HUMOR AS A BIOLOGICAL MATRIX FOR ACCOMPLISHING TOXICOLOGICAL TESTS

MOTTA, Luiza de Paiva¹; PEREIRA, Anna Luisa Fernandes²; SPINDOLA, Humberto Moreira³;

¹Graduanda do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco); ²Graduanda do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco); ³Professor do Curso de Farmácia – Universidade São Francisco)
pmottaluiza@gmail.com

RESUMO

Na toxicologia forense acontecem investigações de materiais biológicos, em busca de alguma substância de interesse forense, como por exemplo drogas de abuso ou xenobióticos. Esses materiais biológicos são chamados também de matrizes biológicas dentro da toxicológica. E existem várias, porém tem as que são mais utilizadas, seja pela facilidade de coleta, quantidade disponível, método de análise e janela de detecção. O Humor vítreo é encontrado na cavidade de dentro do globo ocular, e sua função é dar volume ao olho, apoiar a retina, e permitir que os feixes de luz possam atravessar. Este trabalho irá abordar a importância do Humor Vítreo nas investigações forenses *post mortem*, destacando seus valores e mostrando que se trata de uma matriz biológica mais simples que as demais matrizes, como a urina, o sangue e seus compostos (soro, plasma). Traz consigo uma boa estabilidade química, facilidade ao manusear, coletar, aderindo pouco ao recipiente de vidro ou plástico no momento da coleta. De fato, o HV tem uma importância significativa e deveria ser mais divulgada e utilizada no Brasil.

Palavras-chave: Humor Vítreo, toxicologia forense, drogas de abuso, xenobióticos, matriz biológica, *post mortem*.

ABSTRACT

In forensic toxicology there are investigations of biological materials, in search of some forensic interest substance, such as drugs of abuse or xenobiotics. These biological materials are also called "biological matrices" in the scientific field of toxicology. Although there are assorted matrices, there are those that are the most employed, either because of their collection's straightforwardness, abundance, analysis method or detection window. The vitreous humor is found in the cavity inside the eyeball, and its purpose is to give volume to the eye, support the retina, and allow light rays to pass through. This work will address the importance of vitreous humor in *post mortem* forensic investigations, highlighting its values and showing that it is a significantly more coherent biological matrix than other matrices, such as urine, blood and their compounds (serum, plasma). It conducts with its good chemical stability, lack of difficulty on handling, collecting and adhering poorly to the glass or plastic

container when collected. In fact, vitreous humor has a conspicuous relevance and it must be more promoted and used in Brazil.

Keywords: Vitreous Humor, forensic toxicology, drugs of abuse, xenobiotics, biological matrix, *post mortem*.

INTRODUÇÃO

A toxicologia é a ciência que tem como função identificar e quantificar os efeitos adversos diante à exposição a alguns agentes denominados tóxicos, ou seja, o estudo dos tóxicos e das intoxicações (CASTELARI *et al*, 2018).

Parte da toxicologia é dada pela análise de materiais biológicos *post mortem*, muito importante para investigar e determinar a causa do óbito. Para essas análises serem feitas são utilizadas matrizes biológicas, ou seja, materiais biológicos. Em casos de queimadura severa, embalsamentos e cadáveres em avançados estágios de putrefação, o HV pode ser a única matriz disponível (PERICOLO, 2016).

O sangue é a principal matriz biológica utilizada para a detecção, quantificação e interpretações, entretanto, essa matriz pode ser afetada pelo tempo *post mortem* e pelo estado de conservação do corpo (SANCHES *et al*, 2012).

A urina também é uma principal matriz biológica, sendo uma das matrizes com menor número de interferentes endógenos (CASTELARI *et al*, 2018). Assim como o sangue, há possibilidades de seu uso ser inviabilizado, como o relaxamento dos esfíncteres no momento da morte, traumas com rompimento da bexiga ou até mesmo ter havido uma micção, ou seja, no momento da necropsia a bexiga pode estar vazia (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

O humor vítreo é considerado na toxicologia uma matriz biológica alternativa, já que as mais comumente usadas são o sangue e a urina. Mas vem mostrando maior eficácia nos critérios de estabilidade dos analitos, método de coleta e uma maior janela de detecção. (PERES, 2014). No Brasil o uso do HV como matriz biológica tem aumentado como uma alternativa nos exames, porém ainda reduzido em comparação ao cenário internacional (SANCHES *et al*, 2012; COSTA *et al*, 2014; PERES *et al*, 2014).

O uso do HV como matriz biológica no meio forense teve início em 1963, com experimentos utilizando eletrólitos, como o potássio, para a determinação do intervalo *post mortem* (BRUNET, B. MURA, P, 2012). A primeira publicação relatando o emprego de HV como amostra de interesse analítico foi em 1966 com a comparação entre a detecção de álcool etílico no sangue e no HV (STURNER; COUMBIS, 1966). Já em 1969 aconteceu um dos primeiros estudos sobre análise *post mortem* de drogas de abuso em HV e foi publicado por Felby e Olsen (FELBY, S. OLSEN, J., 1969).

Sobre sua composição trata-se de um gel de consistência aquosa, transparente e incolor, encontrado entre o cristalino e a retina, constituído por 99% de água e 0,2% de proteínas (SILVA, 2021). Nesta matriz biológica estão ausentes as esterases, que tem como principal função a degradação de substâncias contidas nas drogas de abuso (BORDIN *et al*,

2015), esse é um dos motivos que tornam o HV mais eficaz para a detecção de drogas de abuso *post mortem*, além de também localizar-se em um ambiente substancialmente estéril e protegido de traumas.

Portanto, o humor vítreo pode ser considerada uma matriz biológica de relevância para a determinação de drogas de abuso, principalmente quando não é possível a detecção pelo sangue, seja pela sua ausência ou deterioração, como por exemplo em casos de carbonização (BÉVALOT, *et al*, 2016). O HV é ideal para análises *post mortem* pois não sofre alterações cadavéricas, resistindo a putrefação por mais tempo que os outros fluidos, embora não seja totalmente imune (COLLINS, 2016).

Este trabalho tem como objetivo descrever a utilização do humor vítreo como uma matriz biológica importante nas análises toxicológicas forenses, e na detecção de drogas de abuso *post mortem*.

METODOLOGIA

Foram pesquisados e utilizados artigos científicos publicados entre 1990 e 2022. A pesquisa utilizou as bases de dados Biblioteca Virtual em saúde Brasil (BvS), PubMed, Lilacs, SciELO, que incluíram estudos publicados em português, inglês, espanhol e francês. As buscas foram realizadas por meio dos descritores “humor vítreo *post mortem*”, “humor vítreo”, “humor vítreo na toxicologia” e “toxicologia forense”. Além de artigos científicos, ainda foram pesquisados e utilizados trabalhos de conclusão de curso, dissertações e teses relacionadas ao tema.

Após a leitura dos artigos encontrados nas bases de dados, foram selecionados e utilizados todos aqueles que tiveram relevância ao tema.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vantagens e Desvantagens do Humor Vítreo

Para Carreiro (2021) o humor vítreo é um meio estéril durante a vida, o que retarda o aparecimento de alterações putrefativas, muito menos afetadas que outras matrizes biológicas. As alterações químicas neste fluido são mais lentas, estendendo assim a sua utilidade a intervalos mais longos *post mortem* mais velhos. Além disso, é recoberta pela estrutura óssea orbitária, o que permite seu estudo mesmo após traumatismo cranioencefálico grave

Além das vantagens, cada matriz biológica apresenta suas desvantagens também. No Humor vítreo temos como desvantagem o pequeno volume de amostra disponível, um banco de dados limitado que dificulta na interpretação e a necessidade de técnicas com maior sensibilidade (PERES, 2017).

Tabela 1 - Características gerais e métodos das principais matrizes biológicas

	Técnica de coleta/extração	Preparo e análise	Vantagens	Desvantagens
Humor Vítreo	EFS ELL DPX (Fase reversa) DPX (Fase catiônica)	GC-MS, GC-NPD, GC-FID	Diferenciar o consumo do etanol antes da morte e sua formação post-mortem devido a fenômenos putrefativos, método de coleta, maior janela de detecção, estabilidade química, não sofre alterações cadavéricas.	Pequeno volume de amostra, banco de dados limitado, necessário técnicas de maior sensibilidade.
Sangue e seus derivados	EFS ELL DLLME Headspace DPX (Fase reversa)	GC-MS, LC-MS/MS, GC-FID	Fácil coleta, grande volume de amostra, possibilidade de detecção logo após o contato com a substância, antes dela ser metabolizada.	Inviabilizado em caso de óbitos por hemorragia, carbonização e nível avançado de putrefação, contaminação por atividade de microrganismos <i>post-mortem</i> , janela de detecção restrita para drogas de abuso, presença de proteínas que degradam rapidamente drogas de abuso.
Urina	ELL HS-SPME DPX (fase catiônica)	GC-MS, LC-MS/MS, GC-NPD, GC-FID	Fácil coleta, coleta não invasiva, grande volume de amostra e um menor número de interferentes.	Inviabilizado em casos de rompimento de bexiga, relaxamento dos esfínteres, carbonização e nível avançado de putrefação
Cabelo	EFS HS-SPME ELL SPME	GC-MS, LC-MS/MS	Fácil coleta, coleta não invasiva, estabilidade da amostra por tempo indeterminado, não sofre alterações cadavéricas e forma precisa historial de consumo de substâncias antes da morte. (semanas, meses e anos).	Inviabilizado em caso de carbonização, janela de detecção restrita.
Fluido Oral	EFS ELL SPME	GC-MS, LC-MS, LC-MS/MS	Coleta não invasiva, probabilidade de várias amostras e resultado preliminar em poucos minutos.	Drogas de abuso são detectadas apenas na forma não-metabolizada, restrição a moléculas de alto peso molecular ou substâncias que estejam ligadas a proteínas plasmáticas, inviabilizado em casos de carbonização e nível avançado de putrefação

EFS: extração em fase sólida; LLE: extração líquido-líquido; DPX: extração de pipetas descartáveis; SPME: microextração em fase sólida; HS-SPME: microextração em fase sólida Headspace; DLLPM: microextração líquido-líquido dispersiva.

Fonte: Elaborada pelos autores.

Coleta e preparo da amostra de Humor Vítreo

O processo de coleta do HV é bem simples e os materiais necessários são de fácil acesso e provavelmente já estão disponíveis em qualquer laboratório forense. O HV pode ser adquirido inserindo uma agulha de calibre 18 ou 20 anexada a uma seringa de 10 mL no globo do olho, um exemplo dessa coleta pode ser visto na figura 1. A inserção é melhor no canto lateral, logo acima da junção entre as pálpebras superior e inferior. Introduz-se o fim da agulha no centro do globo, aproximadamente 2 cm, e o HV é gradualmente e lentamente retirado, conforme mostrado na figura 2. Tubos de vácuo não devem ser usados porque a retina pode ser danificada, tornando a amostra inadequada. Aproximadamente 2 a 5 mL de fluido podem ser aspirados de cada olho e é recomendado que o HV de ambos os olhos seja coletado (já que ainda não sabemos se existem diferenças quantitativas e/ou qualitativas entre os olhos); é possível ser retirado 1 mL do globo ocular de um recém-nascido. A amostra deve ser colocada em um tubo estéril. O espécime deve ser claro e incolor. Se pequenas manchas de retina preto-marrom estiverem na amostra, então a amostra é considerada inadequada (COLLINS *et al.*, 2016; LEVINE e JUFER, 2008).



Figura 1- Procedimento de coleta de uma amostra de humor vítreo (CARVALHO, F *et al.*, 2010).

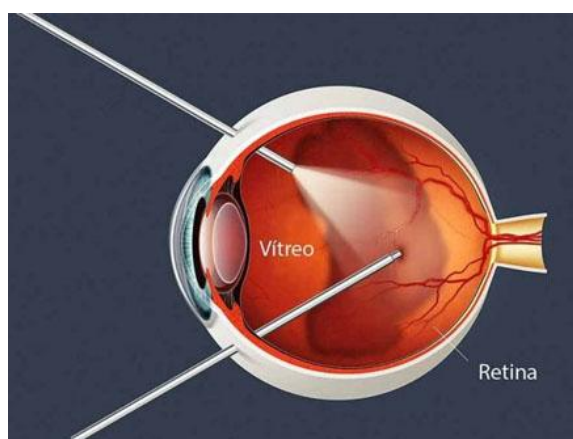


Figura 2- Procedimento de coleta de uma amostra de humor vítreo interna (<https://pcoes.com.br/portfolio-item/biopsia-de-vitreo-via-pars-plana/>).

A respeito do preparo das amostras, Collins (2016) relata que a análise de drogas em HV é semelhante à análise em outros fluidos *post mortem*. A maioria dos métodos publicados que foram desenvolvidos para o sangue e urina tem sido empregado com sucesso em HV. A única diferença de tratamento, que nem sempre é necessário, seria devido a viscosidade do HV. Isso pode apresentar um problema com a instrumentação da amostra. Como a viscosidade é em grande parte devido ao componente de ácido hialurônico, a hialuronidase é frequentemente usada como agente de liquefação antes de uma análise química ser realizada. Alternativamente, o aquecimento do HV a 100°C durante 5 minutos seguidos de arrefecimento, apesar do risco de perda de certas substâncias, é um método simples para melhorar a precisão da medição.

Quando uma fase de pré-tratamento é utilizada, utilizam-se técnicas comuns de extração, como extração líquido-líquido (ELL) ou extração em fase sólida (EFS), dependendo das características dos analitos. Existem diversos métodos diferentes de extração, assim como variações desses mais comuns, que já foram utilizados no HV, mas a ELL e a EFS são certamente os mais utilizados (PERES, 2017).

Vaz (2016) explica que a extração líquido-líquido é uma das mais importantes técnicas de separação usada em laboratórios ambientais, clínicos e industriais. Em uma extração líquido-líquido simples o soluto é particionado entre 2 fases imiscíveis. Na maioria dos casos uma fase é aquosa e a outra fase é um solvente orgânico. A fase de maior densidade fica embaixo. O soluto, inicialmente presente na fase aquosa, após a extração estará presente nas duas fases.

Já sobre a extração em fase sólida (EFS), Vaz (2016) afirma que a amostra passa através de um cartucho contendo um material adsorvente. Para amostras líquidas o sólido adsorvente é isolado ou entre um cartucho em forma de disco ou cartucho em forma de coluna. A escolha do adsorvente depende das propriedades do analito e da matriz (VAZ, 2016).

Segundo Oliveira (2022), outra técnica de extração muito utilizada é a extração em pipeta e/ou ponteira descartável (DPX), por ela ser uma técnica simples, rápida e eficiente, a DPX necessita de pequenas quantidades de amostra e solvente orgânico (sendo compatível com o conceito de “química verde”), apresentando boa recuperação e possibilidade de automatização. As ponteiras empregadas nesta técnica usualmente são de 1 ou 5 ml. O material sorvente é colocado entre dois filtros (denominados *frits*). O primeiro é colocado na extremidade inferior da ponteira, podendo ser de diversos materiais. Este filtro proporciona uma barreira permeável para a passagem dos fluidos nos sentidos de aspiração e dispersão da amostra, O segundo filtro é colocado na extremidade superior da ponteira, com a finalidade de prevenir a contaminação da pipeta ao impedir a passagem do material para o interior da mesma. Na maioria dos procedimentos de extração com DPX (Figura 3) o material a ser inserido na ponteira é condicionado para ativação dos sítios de ligações. Após essa etapa, a amostra é aspirada para o interior da ponteira e misturada com a fase extratora através da entrada de ar pela ponta da ponteira. A suspensão formada pode ser dispensada após atingir o equilíbrio dinâmico entre analito e fase extratora, geralmente esse tempo é de alguns segundos. O próximo passo é a lavagem com solvente para a remoção de interferentes. Por

último, o solvente de eluição é aspirado com ar, várias vezes, para a dessorção dos analitos, que migram para o solvente de eluição. O eluato então segue para a análise cromatográfica (OLIVEIRA,2022).

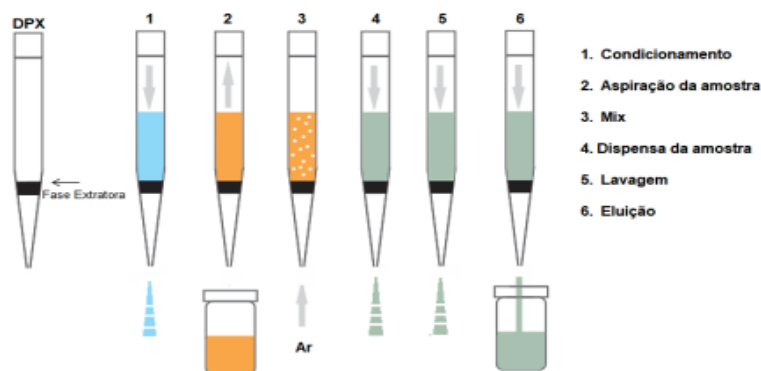


Figura 3 - Procedimento de extração por DPX (OLIVEIRA, THAIS,2022)

Nascimento (2018) expõe que atualmente a principal técnica de análise utilizada é a GC-MS (Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa), conforme mostrado na figura 4, a cromatografia, derivada das palavras gregas χρώμα: chroma (cor) e γραφειν: grafein (escrita). É uma técnica de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases: uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gás), que se move em uma direção definida (NASCIMENTO et al., 2018).

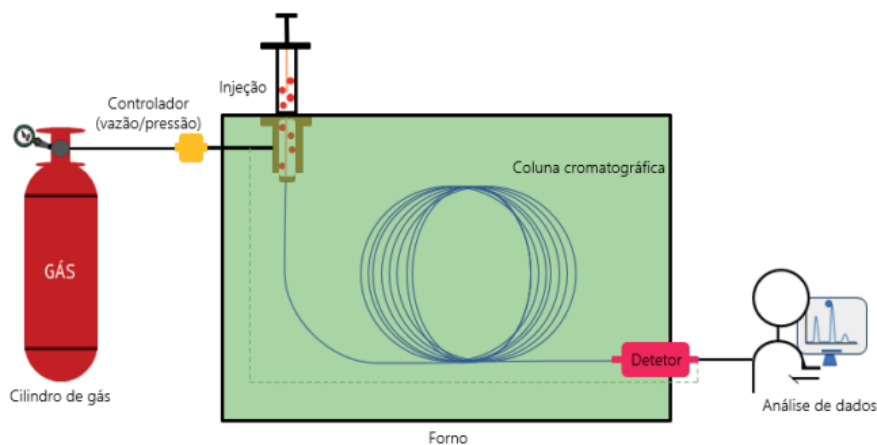


Figura 4 - Representação esquemática de um sistema de cromatógrafo a gás (CG) (GARCÍA, YESENIA MENDOZA *et al.*, 2021).

Na tabela 2 temos uma cronologia do ano e as substâncias detectadas, e seus respectivos autores.

Tabela 2 - Cronologia de substâncias detectadas pelo Humor Vítreo

Ano	Substância(s)	autor (es)
1966	Etanol	Sturner & Coumbis
1969	Barbituricos (amytal, veronal, butisol, gardenal, luminal, evipal, mebaral, nembutal, seconal, surital e delvinal.)	Felby & Olsen
1984	Barbitúricos, morfina e metadona	Ziminski et al
1985	Metanol	Wu Chen et al
1992	Morfina	Bermejo
1994	Etanol e cocaína	Gracia Fernandez

Fonte: Elaborada pelos autores

Substâncias detectáveis e não detectáveis pelo Humor Vítreo

De acordo com Silva (2021), as principais drogas de abuso estudadas e detectadas pelo humor vítreo são as anfetaminas, cocaína e opióides, mas isso não quer dizer que somente elas são detectadas por esta matriz biológica.

O método principal e mais utilizado para a detecção e análise de drogas de abuso no Humor Vítreo é o GC-MS, onde é possível a análise simultânea de cocaína, anfetaminas, opióides e canabinóides (METUSHI, *et al*, 2016)

Segundo Santos Júnior (2014), quando as substâncias a serem pesquisadas estão bem ionizadas facilitam a detecção pelo humor vítreo, seja em um cadáver não-decomposto quanto em decomposição. Quando há a junção do etanol com a cocaína, acontece a conversão para cocaetileno, que também é uma substância bem detectada pelo Humor Vítreo. Alguns estudos nos mostraram que as anfetaminas e seus derivados, cocaína, cocaetileno, benzoilecgonina, apresentam uma detecção clara e evidente pelo HV mesmo após o período de 3 a 4 dias *post mortem* (SANTOS JÚNIOR, 2014).

Ao que diz respeito ao etanol, o HV é frequentemente utilizado quando se precisa de uma confirmação da ingestão desta droga de abuso, anterior ao momento da morte. E apresenta uma excelente janela de detecção para este (NEUMANN *et al*, 2020).

Peres (2014) descreveu que o 6-AM (6-acetilmorfina) é decomposto da heroína e tem uma meia-vida pequena, o que diminui sua janela de detecção pelo sangue e urina, mas no HV pode ser detectada por mais tempo. As concentrações de oxicodona, hidrocodona e 6-AM são maiores no HV, e as concentrações de morfina e codeína podem variar por conta de uma distribuição incompleta, por exemplo se a administração destas drogas de abuso tenha sido feita em um período curto antes do óbito (PERES, 2014).

De acordo com Silva (2021), infelizmente o HV não apresenta uma boa janela de detecção para Canabinóides. Bordin (2015) relata que há um estudo relatando que em 30 amostras de HV onde no sangue já havia dado positivo na triagem para COOH-THC, apenas uma amostra foi positiva, evidenciando uma detecção falha dessa droga de abuso pelo HV.

Para Methushi (2016) algumas drogas são mais difíceis de serem detectadas no humor vítreo, mas não impossíveis, é o caso do 7-aminoclonazepam, benzotropina, ciclobenzaprina, morfina, norvenlafaxina, fenitoína, prometazina, zolpidem e zopiclona. Isso se dá porque para ser possível a detecção no humor vítreo é necessário um limite de detecção alto, ou seja, baixas concentrações dessas drogas dificultam a sua detecção no Humor Vítreo.

Carreiro da Cunha (2021), afirma que o Humor Vítreo pode ser usado como um método qualitativo de outras substâncias para complementar com os resultados das outras matrizes biológicas.

Conforme na tabela 3 temos um resumo das substâncias detectadas pelo Humor Vítreo, a técnica de análise e o limite de detecção de cada uma.

Tabela 3 - Substâncias detectadas pelo Humor Vítreo

Substâncias detectadas	Técnica de análise	Limite de detecção	Referências
Opióides, anfetaminas, cocaína e metabólitos	GC-MS	1-2 ng/mL	(PERES,2014)
Heroína, morfina e 6- acetilmorfina	GC-MS	10-50 ng/mL	(SANCHES <i>et al.</i> , 2012)
Codeína, morfina, e 6-monoacetilmorfina	GC-NPD	3 ng/mL	(SANCHES <i>et al.</i> , 2012)
Cocaína e metabólitos	GC-MS	10 ng/mL	(GARCIA,2016)
Etanol	Head Space CG-FID	-	(PERES,2017)



Fonte tabela 3: Elaborada pelos autores

CONCLUSÃO

Através de revisões bibliográficas concluímos que em casos *post mortem* as análises toxicológicas forenses são de grande relevância, já que é através delas que se é possível fazer a detecção de drogas de abuso e seus metabólitos em baixas concentrações de amostras.

Dentre as matrizes biológicas usadas no *Post mortem* o Humor Vítreo é utilizado como uma matriz biológica alternativa, nos casos de putrefação avançada, carbonização, afogamento, ou quando as principais matrizes biológicas não estão disponíveis. O Humor Vítreo se destaca devido a sua conservação, principalmente no estado de putrefação avançada já que é encontrado no interior do globo ocular, sendo então um local estéril e protegido de traumas. Além de ter uma janela de detecção ampla, o que permite detecção de drogas de abuso de etanol, cocaína, opióides e anfetaminas.

Entretanto, há outras matrizes biológicas de cunho substancial, por isso é necessário levar em conta alguns fatores para a escolha da matriz biológica correta, como a natureza do analito e se o mesmo se encontra íntegro, o tipo de investigação e, o modo de coleta, se esta é facilitada ou complexa.

Apesar de algumas desvantagens e limitações, ainda assim o Humor Vítreo em uso *post mortem* apresenta grandes oportunidades e vantagens no futuro da toxicologia forense e na elucidação de investigações criminais.

As referências bibliográficas sobre o Humor Vítreo *post mortem* no Brasil ainda são poucas, podendo ser mais ampliadas no campo de pesquisa científica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Deus primeiramente. As nossas mães, que não mediram esforços em relação aos nossos estudos e por sempre estarem ao nosso lado. E ao nosso orientador Humberto Spindola Moreira.



REFERÊNCIAS

BÉVALOT, F. CARTISER, N. BOTTINELLI, C. FANTON, L. GUITTON, J. Vitreous humor analysis for the detection of xenobiotics in forensic toxicology: a review. *Forensic Toxicol.*, volume 34, 2016.

BORDIN, D. MONEDDEIRO, F. CAMPOS, E. ALVES, M. BUENO, L. MARTINIS, B. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. *Scientia Chromatogr.*, volume 7, número 2, 2015.

BRUNET, B. MURA, P. L'humeur vitrée en toxicologie médico-legale: revue de la littérature et applications. 2012. Service de toxicologie et pharmacocinétique. França. 2012.

CARAPITO, ANGELA; RODRIGUES, FRANCISCO; COELHO, PATRICIA. A importância do humor vítreo em análises post-mortem. *HIGEIA*, volume 6. 2021.

CARREIRO DA CUNHA, Elton. La bioquímica del humor vítreo en la data de la muerte y la práctica forense en Galicia: revisión sistemática y estudio descriptivo. 2021. 57 f. Universidade de Santiago de Compostela. Facultade de Medicina e Odontoloxía, Santiago de Compostela, 2021.

CASTELARI, G. M. et al. Toxicologia Forense: ciência multidisciplinar que abrange o estudo das causas de morte por intoxicação e os materiais biológicos utilizados para esse fim, que direcionam a investigação médico-legal e a emissão do laudo toxicológico. *Revista Ambiente Acadêmico*. Volume 4, número 1, 2018.

COLLINS, KIM A. Postmortem Vitreous Analyses, 2016. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/1966150-overview>. Acessado 15/08/2022

FELBY, S. OLSEN, J. Comparative studies of postmortem barbiturate and meprobamate in vitreous humor, blood and liver. *J Forensic Sci.* 1969; 114:507-14.

GARCÍA H; MELO-SANTIESTEBAN G; HERMIDA-MORENO A. Determinación toxicológica de cocaína en humor vítreo. *Rev Mex Med Forense*. 2016.1(1): 36-44.

LIMA, I.V; MÍDIO, A.F. O Uso do Humor Vítreo nas análises toxicológicas forenses. *Saúde, Ética & Justiça*. São Paulo, 2(2), p. 102-8, 2017.

METUSHI, Imir G et al. Assessment and Comparison of Vitreous Humor as an Alternative Matrix for Forensic Toxicology Screening by GC-MS. *Journal of analytical toxicology* vol. 40,4 (2016): 243-7. doi:10.1093/jat/bkw009

MONTEFUSCO-PEREIRA, C. V.; PINTO, L. de M. A. El humor vítreo como fluido biológico de importancia clínica en ciencias forenses. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, La Plata, v. 50, n. 1, p. 27-35, 2016.



NASCIMENTO, R. F. DO et al. Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018.

NEUMANN, Jasna et al. Ethyl glucuronide and ethanol concentrations in femoral blood, urine and vitreous humor from 117 autopsy cases. Forensic science international vol. 318 (2021): 110567. doi:10.1016/j.forsciint.2020.110567

OGA, F; CAMARGO, M. M. de A; BATISTUZZO, J. A. de O. Fundamentos de Toxicologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

OLIVEIRA. Thais Camarotto. Determinação de pesticidas em alimentos derivados da cana-de-açúcar por LC-MS/MS empregando DPX como técnica de preparo de amostra. 2022. 133 f. Dissertação (Mestre em ciências). Universidade de São Paulo. Instituto de Química de São Carlos. 2018.

PERES, HENRIQUE YAZLLE RIBEIRO. Humor Vítreo: Vantagens e desvantagens para a toxicologia forense. Orientador: Paulo Roberto Dalsenter. 2017. 41 f. Trabalho de conclusão de curso (Biomedicina), Setor de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

PERES, MARIANA DADALTO. Humor Vítreo: uma alternativa para investigação de drogas de abuso postmortem. Orientador: Paulo Roberto Dalsenter. 2014. 188 f. Tese (Doutorado em toxicologia), Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2014.

PERICOLO S. Cocaína e cocaetileno em mortes violentas: levantamento da ocorrência e validação de metodologia para a identificação em humor vítreo com SPME por CG/EM [dissertação]. Florianópolis (SC): Universidade Federal de Santa Catarina. 2016; 112 p. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/173270>. Acessado 17/08/2022

SANCHES, LIVIA RENTAS. Avaliação da redistribuição postmortem de opiáceos através de determinação em humor vítreo e sangue cardíaco e periférico humanos. 2011. 132f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2012.

SANTOS JÚNIOR, Júlio César. Novas técnicas analíticas aplicadas a drogas de abuso presentes em humor vítreo. 2014. 52 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1624355>. Acessado 16/08/2022

SILVA. Ana Paula da. Toxicologia Forense: Análise de Humor Vítreo em humanos *post mortem*. 2021. Congresso de iniciação científica. 22º edição. 2021.

SKOPP, G. Preanalytic aspects in postmortem toxicology. In: Froede RC, editor. Handbook of forensic pathology. Northfield, IL: College of American Pathologists, 2ed, 1990.

VAZ. Fernando Antonio Simas. Métodos clássicos de separação. 2016. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2016. Disponível em:



<http://ensaios.usf.edu.br>

<https://www2.ufjf.br/quimica/files/2016/08/M%c3%a9todos-cl%c3%a1ssicos-de-separa%c3%a7%c3%a3o-REVISADO-2016.pdf>