v7.n12.2026

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

SURGIMENTO DAS NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS (NSP): UM GARGALO ANALÍTICO NA INVESTIGAÇÃO DE MORTES SUSPEITAS

EMERGENCE OF NEW PSYCHOACTIVE SUBSTANCES (NPS): AN ANALYTICAL BOTTLENECK IN THE INVESTIGATION OF SUSPICIOUS DEATHS

SURGIMIENTO DE LAS NUEVAS SUSTANCIAS PSICOACTIVAS (NSP): UN CUELLO DE BOTELLA ANALÍTICO EN LA INVESTIGACIÓN DE MUERTES SOSPECHOSAS

Gabriella de Fátima Vicente da Silva Santos[1], Thamyres Martins de Araújo[1], Flávia Ikeda e Araújo[2]

https://doi.org/10.47820/recima21.v7i12.9616

PUBLICADO: 12/2026

RESUMO

As novas substâncias psicoativas (NSP) constituem um grupo em rápida expansão no mercado ilícito de drogas e ampliam um desafio já conhecido da toxicologia forense: as limitações analíticas dos imunoensaios empregados como métodos de triagem. Este artigo tem como objetivo analisar, a partir de revisão da literatura, as limitações de sensibilidade e especificidade dos imunoensaios frente às NSP e discutir seus possíveis impactos na investigação pericial de mortes suspeitas. Partiu-se da hipótese de que a reatividade cruzada insuficiente entre os anticorpos comerciais e determinadas moléculas de desenho recente pode gerar resultados falso-negativos capazes de dificultar a elucidação da causa da morte. A pesquisa, de caráter bibliográfico e abordagem qualitativa, utilizou PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, SciELO, Google Scholar e o Portal de Periódicos da CAPES, além de relatórios técnicos de organismos como UNODC, EUDA e Anvisa. A literatura examinada aponta limitações de reatividade cruzada em determinados imunoensaios diante de diferentes NSP, embora a força das evidências varie conforme a classe química e o ensaio avaliado. Essas limitações reforçam a importância de métodos confirmatórios, como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) e a espectrometria de massas de alta resolução (HRMS). Conclui-se que a rápida inovação estrutural das NSP representa um desafio para os métodos de triagem imunológica e reforça a necessidade de ampliar o uso de métodos analíticos confirmatórios na toxicologia forense.

PALAVRAS-CHAVE: Novas substâncias psicoativas. Imunoensaios. Toxicologia forense. Reatividade cruzada. Espectrometria de massas.

ABSTRACT

New psychoactive substances (NPS) comprise a rapidly evolving group of illicit drugs and increase a well-known challenge in forensic toxicology: the analytical limitations of immunoassays used as screening methods. This article aims to analyze, through a literature review, the sensitivity and specificity limitations of immunoassays regarding NPS and to discuss their possible impact on the forensic investigation of suspicious deaths. The study was based on the hypothesis that insufficient cross-reactivity between commercial antibodies and some recently designed molecules may generate false-negative results that can make the elucidation of the cause of death more difficult. This qualitative bibliographic research used PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, SciELO, Google Scholar and the CAPES Journal Portal, as well as technical reports from organizations such as UNODC, EUDA and Anvisa.

[1] Graduanda em Farmácia pelo UNICEPLAC, com atuação em pesquisa na área de Toxicologia Forense.
[2] Mestre em Ciências da Saúde e professora universitária, atuando na área de Biomedicina e pesquisa na área de Toxicologia Forense.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

The literature indicates cross-reactivity limitations in certain immunoassays when testing different NPS, although the strength of the evidence varies according to the chemical class and assay evaluated. These limitations reinforce the importance of confirmatory methods such as liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and high-resolution mass spectrometry (HRMS). It is concluded that the rapid structural innovation of NPS represents a challenge for immunological screening methods and reinforces the need to expand the use of confirmatory analytical methods in forensic toxicology.

KEYWORDS: *New psychoactive substances. Immunoassays. Forensic toxicology. Cross-reactivity. Mass spectrometry.*

RESUMEN
Las nuevas sustancias psicoactivas (NSP) constituyen un grupo en rápida expansión en el mercado ilícito de drogas y amplían un desafío ya conocido de la toxicología forense: las limitaciones analíticas de los inmunoensayos empleados como métodos de cribado. Este artículo analiza, a partir de una revisión de la literatura, las limitaciones de sensibilidad y especificidad de los inmunoensayos frente a las NSP y discute sus posibles impactos en la investigación pericial de muertes sospechosas. Se partió de la hipótesis de que la reactividad cruzada insuficiente entre los anticuerpos comerciales y determinadas moléculas de diseño reciente puede generar resultados falsos negativos capaces de dificultar el esclarecimiento de la causa de la muerte. La investigación, bibliográfica y cualitativa, utilizó PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, SciELO, Google Scholar y el Portal de Periódicos de la CAPES, además de informes técnicos de UNODC, EUDA y Anvisa. La literatura examinada señala limitaciones de reactividad cruzada en determinados inmunoensayos frente a distintas NSP, aunque la solidez de la evidencia varía según la clase química y el ensayo evaluado. Estas limitaciones refuerzan la importancia de métodos confirmatorios, como la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y la espectrometría de masas de alta resolución (HRMS). Se concluye que la rápida innovación estructural de las NSP representa un desafío para los métodos de cribado inmunológico y refuerza la necesidad de ampliar el uso de métodos confirmatorios en la toxicología forense.

PALABRAS CLAVE: *Nuevas sustancias psicoactivas. Inmunoensayos. Toxicología forense. Reactividad cruzada. Espectrometría de masas.*

1. INTRODUÇÃO

O mercado de drogas ilícitas vive, desde o final da década de 2000, um processo de transformação marcado pelo surgimento contínuo de moléculas sintetizadas em laboratório e pela rápida renovação do conjunto de substâncias disponíveis. Segundo dados da Agência da União Europeia sobre Drogas (EUDA), 47 novas substâncias psicoativas foram notificadas pela primeira vez na Europa em 2024, enquanto foram registradas 41,4 toneladas de drogas relacionadas às NSP apreendidas no período. Em escala global, o Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC) informou que 1.124 NSP haviam sido notificadas por 134 países e territórios entre 2009 e dezembro de 2021. Esse total não corresponde a um levantamento exclusivo do Brasil (EUDA, 2025; UNODC, 2022).

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

Essa velocidade de inovação química está relacionada, entre outros fatores, à capacidade de modificar estruturas moleculares de substâncias já conhecidas, produzindo compostos que podem apresentar efeitos farmacológicos semelhantes aos de drogas controladas e, ao mesmo tempo, dificultar sua identificação por métodos desenvolvidos para substâncias de referência. A Anvisa destaca que as NSP são, em sua maioria, desenhadas para fins ilícitos e com o objetivo de evadir medidas de controle aplicadas às substâncias já controladas (ANVISA, 2021).

A questão-problema que orienta este trabalho pode ser assim formulada: em que medida as limitações de sensibilidade e especificidade dos imunoensaios de triagem toxicológica comprometem a detecção das novas substâncias psicoativas e, por consequência, a elucidação pericial de mortes suspeitas? A hipótese central é a de que a reatividade cruzada entre os anticorpos empregados nos kits comerciais e determinadas moléculas de NSP estruturalmente mais distantes das drogas-alvo tradicionais pode ser insuficiente, gerando resultados falso-negativos. Como consequência, a ausência de detecção na triagem pode dificultar a investigação toxicológica quando a substância presente na amostra não está adequadamente contemplada pelo método utilizado (CIERI *et al.*, 2024; MASTROVITO *et al.*, 2022).

A justificativa deste estudo reside na relevância forense do tema: como a cadeia pericial pode depender, em sua etapa inicial, de métodos de triagem que não contemplam todas as moléculas presentes no mercado ilícito, limitações de reatividade cruzada diante de moléculas de desenho recente podem repercutir na identificação da causa da morte e na qualidade das informações disponíveis à investigação pericial (CIERI *et al.*, 2024; MASTROVITO *et al.*, 2022; ALMEIDA *et al.*, 2024).

O objetivo geral deste artigo é analisar, com base em revisão narrativa da literatura científica nacional e internacional, as limitações analíticas dos imunoensaios de rotina frente ao surgimento das novas substâncias psicoativas e seus possíveis desdobramentos para a investigação pericial de mortes suspeitas. Como objetivos específicos, busca-se: caracterizar os fundamentos técnicos dos imunoensaios e o fenômeno da reatividade cruzada; descrever a classificação e a dinâmica de disseminação das principais classes de NSP, com destaque para o cenário brasileiro recente; sistematizar as evidências científicas sobre o desempenho analítico dos métodos de triagem; e discutir o papel dos métodos confirmatórios de espectrometria de massas como resposta técnica a esse desafio (CIERI *et al.*, 2024; HEINSVIG *et al.*, 2023).

Este artigo está estruturado em quatro seções, além desta introdução. A primeira seção apresenta o referencial teórico, em formato de revisão narrativa da literatura, articulando a investigação pericial de morte suspeita no sistema brasileiro, os fundamentos e limites dos

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

imunoensaios, a classificação das NSP e o detalhamento das limitações analíticas por classe de substância, encerrando com a discussão dos métodos confirmatórios de espectrometria de massas. A segunda seção descreve a metodologia empregada. A terceira seção apresenta os resultados e a discussão, sintetizados em quadro comparativo. A quarta seção traz as considerações finais, retomando a hipótese e apontando caminhos para a prática pericial e para pesquisas futuras.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A investigação toxicológica da morte suspeita no sistema pericial brasileiro

No Brasil, a investigação de mortes de causa não natural ou suspeita envolve a atuação dos Institutos Médico-Legais (IML), que realizam exames médico-legais e, quando indicado, encaminham amostras biológicas para exames toxicológicos. O laudo pericial pode subsidiar investigações policiais e processos judiciais, além de contribuir para as estatísticas de mortalidade. Quando os exames disponíveis não permitem estabelecer uma causa médica plausível para o óbito, a causa pode permanecer classificada como indeterminada (ALMEIDA *et al.*, 2024; BORDONI *et al.*, 2017).

Estudo retrospectivo conduzido no Instituto Médico-Legal de Belo Horizonte, a partir dos laudos de necropsia de 2008, identificou 1.487 casos classificados como indeterminados entre 6.096 necropsias, além de 217 casos indeterminados per accidens e 76 indeterminados per se. Os autores relacionaram o elevado número de causas indeterminadas principalmente à realização de necropsias em indivíduos que tiveram morte natural sem assistência médica, situação associada à ausência de Serviço de Verificação de Óbitos (SVO). Portanto, esse estudo não demonstra que os casos indeterminados decorreram de intoxicações não detectadas por imunoensaios; ele contextualiza dificuldades mais amplas na determinação da causa da morte (BORDONI *et al.*, 2017).

É nesse ponto que a presente revisão situa seu problema de pesquisa: a cadeia pericial pode depender, em sua etapa inicial, de métodos de triagem que não contemplam todas as moléculas presentes no mercado ilícito. Um resultado negativo em um imunoensaio não significa necessariamente ausência de intoxicação exógena, pois pode refletir a ausência de reatividade suficiente entre o anticorpo utilizado e a substância presente na amostra. Essa limitação é particularmente relevante diante da diversidade estrutural das NSP (CIERI *et al.*, 2024; MASTROVITO *et al.*, 2022).

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

2.2. Imunoensaios: fundamentos analíticos e limitações estruturais

Os imunoensaios são amplamente utilizados como métodos de triagem toxicológica devido à rapidez de execução, ao custo relativamente baixo e à possibilidade de automação. O princípio analítico baseia-se na afinidade entre um anticorpo e o analito ou grupo de analitos reconhecidos pelo método. Entre os formatos empregados estão o EMIT (*Enzyme Multiplied Immunoassay Technique*), o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), o CEDIA (*Cloned Enzyme Donor Immunoassay*), o KIMS (*Kinetic Interaction of Microparticles in Solution*) e o FPIA (*Fluorescence Polarization Immunoassay*), que utilizam diferentes sistemas de detecção (SCHACKMUTH; KERRIGAN, 2019; CIERI *et al.*, 2024).

A limitação estrutural desses métodos decorre, em parte, da necessidade de utilizar anticorpos direcionados a um composto ou grupo estrutural de referência. Esse desenho pode favorecer o reconhecimento de substâncias estruturalmente semelhantes, mas também produzir respostas variáveis diante de moléculas estruturalmente distintas. O fenômeno é conhecido como reatividade cruzada: compostos que compartilham características estruturais com o alvo podem apresentar reconhecimento pelo anticorpo, enquanto outros podem apresentar reatividade insuficiente para superar o ponto de corte (cutoff) do ensaio, resultando em um resultado negativo na triagem (MASTROVITO *et al.*, 2022; CIERI *et al.*, 2024).

A literatura de toxicologia clínica recomenda que resultados de triagem por imunoensaio sejam interpretados em conjunto com o quadro clínico e, quando houver incompatibilidade entre a suspeita de intoxicação e o resultado da triagem, sejam utilizados métodos confirmatórios. Revisões sobre testes toxicológicos também destacam que diferenças de reatividade e características da matriz biológica podem influenciar o desempenho dos métodos de triagem. Assim, o imunoensaio deve ser compreendido como ferramenta de triagem, e não como método isolado para sustentar conclusões toxicológicas definitivas (WILKENING; HALE; ROSS, 2016; SAITMAN *et al.*, 2026; ANTUNES; BARROSO; GALLARDO, 2023).

2.3. Novas substâncias psicoativas: definição, classificação e dinâmica de mercado

O termo novas substâncias psicoativas é utilizado para designar substâncias que, embora possam apresentar efeitos semelhantes aos de drogas já conhecidas, não estão necessariamente submetidas ao mesmo controle pelas convenções internacionais. A Anvisa descreve as NSP como moléculas desenhadas, em sua maioria, para fins ilícitos, com o objetivo de evadir medidas de controle nacional e internacional aplicadas às substâncias já controladas, das quais derivam ou cujos efeitos mimetizam (ANVISA, 2021; EUDA, 2025).

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

As NSP podem ser agrupadas em diferentes classes, incluindo canabinoides sintéticos, catinonas sintéticas, feniletilaminas e outros alucinógenos, opioides sintéticos e benzodiazepínicos de desenho. Essas classes apresentam características químicas e farmacológicas distintas, o que também influencia o desempenho dos métodos de triagem. No Brasil, dados da Anvisa mostraram mudanças na distribuição das classes identificadas ao longo dos anos, reforçando a dinâmica do mercado de NSP (ANVISA, 2019; ANVISA, 2021; CIERI *et al.*, 2024).

A resposta regulatória brasileira evoluiu com a adoção de estratégias que permitem o controle de grupos ou classes estruturais de substâncias, buscando acompanhar a velocidade de surgimento de novas moléculas. A Anvisa destaca que a rápida emergência e disseminação das NSP exige estratégias regulatórias capazes de acompanhar esse fenômeno. Para a toxicologia, entretanto, o desafio não é apenas regulatório: também envolve a incorporação dessas novas estruturas aos métodos analíticos empregados pelos laboratórios (ANVISA, 2019; ANVISA, 2021).

Esse cenário ganhou relevância no Brasil com a identificação de opioides sintéticos da classe dos nitazenos. Em setembro de 2025, a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial (SBPC/ML) relatou a identificação de um novo opioide sintético da classe dos nitazenos no país e destacou os desafios que essas substâncias representam para a toxicologia laboratorial. Na literatura internacional, os nitazenos são incluídos entre os novos opioides sintéticos que exigem métodos analíticos sensíveis e específicos para sua identificação (SBPC/ML, 2025; PALMQUIST *et al.*, 2023).

2.4. Particularidades da toxicologia post mortem e seus impactos na análise

A interpretação toxicológica post mortem apresenta particularidades que não podem ser transpostas diretamente da toxicologia clínica. Após a morte, a redistribuição post mortem pode modificar as concentrações de determinadas substâncias entre tecidos e sangue, sobretudo no sangue central. Por esse motivo, quando disponível e adequadamente coletado, o sangue periférico — especialmente o femoral — é geralmente preferido para interpretações quantitativas, enquanto resultados obtidos em sangue central exigem cautela e consideração do contexto da necropsia.

As alterações cadavéricas também podem comprometer a qualidade das amostras. Decomposição, hemólise, coagulação, contaminação por gordura e formação ou degradação de compostos podem afetar a estabilidade dos analitos e o desempenho de métodos analíticos. A

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

urina pode ampliar a janela de detecção de metabólitos, mas sua positividade, isoladamente, não demonstra que a substância tenha causado ou contribuído para a morte. A escolha da matriz deve, portanto, considerar o intervalo post mortem, o estado de conservação do cadáver, a disponibilidade de amostras e a pergunta pericial.

Essas variáveis reforçam que um resultado negativo de triagem não deve ser interpretado isoladamente. A matriz analisada, o estado de conservação da amostra, o painel de substâncias contemplado pelo ensaio e a suspeita médico-legal precisam ser considerados em conjunto. Boas práticas em toxicologia post mortem recomendam documentar a origem da amostra e interpretar com cautela as concentrações obtidas, sobretudo quando há decomposição ou possibilidade de redistribuição (TRUVER *et al.*, 2025).

2.5. O gargalo analítico: reatividade cruzada insuficiente e o risco de falsos-negativos por classe de NSP

A literatura analítica permite sistematizar, por classe química, o desempenho dos imunoensaios comerciais frente às NSP. De modo geral, a reatividade cruzada depende da relação estrutural entre a substância avaliada e o analito utilizado como referência no método, mas esse comportamento não é uniforme entre as diferentes classes de NSP (MASTROVITO *et al.*, 2022; CIERI *et al.*, 2024).

2.5.1. Canabinoides sintéticos

Castaneto *et al.* (2015) avaliaram amostras de urina coletadas aleatoriamente de militares dos Estados Unidos, e não amostras post mortem. Na comparação entre a triagem pelo imunoensaio Randox Drugs of Abuse V e a confirmação por LC-MS/MS, foram observados cinco resultados falso-negativos e 163 falsos-positivos entre as amostras selecionadas para a avaliação de desempenho. Assim, nesse estudo, o número de falsos-positivos foi substancialmente superior ao de falsos-negativos. Os dados demonstram limitações de desempenho e a necessidade de confirmação analítica, mas não sustentam, isoladamente, a classificação do risco de falso-negativo como moderado ou alto em investigações de mortes suspeitas (CASTANETO *et al.*, 2015).

2.5.2. Catinonas sintéticas e feniletilaminas

A evidência específica sobre catinonas sintéticas indica que a reatividade cruzada depende do anticorpo e do ensaio utilizado. Swortwood, Hearn e DeCaprio (2014) avaliaram 30 drogas de desenho em 16 reagentes ELISA, incluindo oito derivados de catinona. A maioria dos compostos apresentou reatividade inferior a 4% nos ensaios dirigidos a anfetamina ou

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

metanfetamina; já o kit específico para mefedrona/metcatinona apresentou reatividade cruzada para derivados de catinona em determinadas concentrações. Em estudo mais recente, Willeman *et al.* (2025) observaram interferências de catinonas sintéticas em imunoensaios clínicos para anfetamina e MDMA, com resultados falso-positivos. Esses achados mostram que a interpretação deve considerar tanto a possibilidade de não detecção quanto a de reação cruzada inespecífica. Os estudos disponíveis, contudo, não autorizam atribuir um risco quantitativo único de falso-negativo a toda a classe.

2.5.3. Opioides sintéticos: fentanis e nitazenos

A classe dos opioides sintéticos concentra evidências de limitações analíticas dos imunoensaios, especialmente quando os ensaios são direcionados a um composto de referência específico. Estudo que avaliou 30 análogos de fentanil frente a kits comerciais verificou diferenças importantes de reatividade entre os compostos, demonstrando que a capacidade de detecção depende do desenho do ensaio e da estrutura do análogo. Um estudo com 13 análogos também mostrou que nenhum dos cinco kits avaliados detectou de maneira uniforme todos os compostos testados (WHARTON *et al.*, 2021; SCHACKMUTH; KERRIGAN, 2019).

A questão é particularmente relevante no caso dos nitazenos. Esses opioides sintéticos pertencem a uma classe estrutural distinta daquela dos opioides utilizados como alvos de muitos imunoensaios tradicionais. Entretanto, as fontes examinadas neste trabalho não apresentam uma avaliação direta e abrangente da reatividade cruzada de kits comerciais específicos para nitazenos. Por isso, não é possível quantificar, com base nas referências aqui utilizadas, o risco de falso-negativo dessa classe. A literatura analítica destaca a necessidade de métodos específicos de espectrometria de massas para identificar nitazenos e outros opioides sintéticos novos (CIERI *et al.*, 2024; PALMQUIST *et al.*, 2023; VELOSO *et al.*, 2025).

Mesmo os imunoensaios desenvolvidos especificamente para fentanil possuem limites de detecção e pontos de corte que variam conforme o kit e a matriz analisada. Estudos com ensaios comerciais para urina utilizam, por exemplo, ponto de corte de 1 ng/mL, enquanto plataformas experimentais demonstraram capacidade de detectar fentanil em concentrações inferiores a 1 ng/mL. Esses dados ilustram que a sensibilidade do método influencia a possibilidade de detecção em concentrações baixas (ZHAO *et al.*, 2024; FENG *et al.*, 2021).

2.5.4. Benzodiazepínicos e outras classes de desenho

Nem todas as classes de NSP apresentam o mesmo padrão de baixa reatividade. Avaliação realizada em sangue total identificou reatividade cruzada relevante para diversos

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

benzodiazepínicos de desenho, incluindo diclazepam, delorazepam, fenazepam, flualprazolam, bromazolam e adinazolam. Esse achado demonstra que a limitação analítica não é uniforme entre classes e que a proximidade estrutural pode favorecer o reconhecimento pelo imunoensaio (MASTROVITO *et al.*, 2022).

2.6. Métodos confirmatórios: a espectrometria de massas como abordagem de referência

Diante das limitações discutidas, a literatura aponta a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas — em tandem (LC-MS/MS) ou de alta resolução (HRMS) — como uma abordagem de referência para confirmação e para triagens de maior abrangência. Diferentemente do imunoensaio, que depende do reconhecimento imunológico previamente estabelecido, a espectrometria de massas utiliza características como massa e padrões de fragmentação para auxiliar na identificação dos compostos (GONÇALVES *et al.*, 2022; HEINSVIG *et al.*, 2023; PALMQUIST *et al.*, 2023).

Uma vantagem adicional da HRMS, com implicações para a investigação de mortes suspeitas envolvendo NSP, é a possibilidade de triagem não direcionada (*untargeted screening*) e de reanálise retrospectiva dos dados. Em métodos de aquisição abrangente, os dados podem ser reprocessados posteriormente quando novas substâncias passam a ser incluídas em bibliotecas ou bancos de dados, sem necessariamente exigir nova aquisição do material já analisado. Essa característica amplia a utilidade da HRMS em toxicologia forense (HEINSVIG *et al.*, 2023; BATES; HELM; BARKHOLTZ, 2024).

Apesar de suas vantagens analíticas, a espectrometria de massas não substitui integralmente os métodos de triagem em todas as situações, pois sua implementação envolve custos de aquisição e manutenção, necessidade de profissionais capacitados, validação de métodos e processamento de dados mais complexo. A literatura também destaca desafios relacionados ao gerenciamento e à interpretação de grandes volumes de dados em LC-HRMS. Assim, a integração entre métodos de triagem e métodos confirmatórios pode ser mais adequada à realidade de diferentes laboratórios (HEINSVIG *et al.*, 2023; BATES; HELM; BARKHOLTZ, 2024).

3. METODOLOGIA

Este trabalho caracteriza-se como uma pesquisa bibliográfica, de natureza qualitativa e caráter exploratório-descritivo, desenvolvida a partir de revisão narrativa da literatura científica nacional e internacional sobre imunoensaios toxicológicos, novas substâncias psicoativas e

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

métodos confirmatórios de espectrometria de massas aplicados à toxicologia forense. Optou-se pela revisão narrativa por permitir a integração de literatura com diferentes características e a discussão temática do problema de pesquisa, mantendo explícitos os critérios utilizados para busca e seleção das fontes.

A coleta de dados foi realizada nas bases PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, SciELO, Google Scholar e no Portal de Periódicos da CAPES, complementada pela consulta direta aos sítios eletrônicos institucionais da Anvisa, do UNODC e da Agência da União Europeia sobre Drogas (EUDA). Os descritores utilizados, isolados e combinados por meio dos operadores booleanos AND e OR, incluíram: *"new psychoactive substances"; "immunoassay"; "cross-reactivity"; "false negative"; "forensic toxicology"; "postmortem toxicology"; "mass spectrometry"; "fentanyl analogs"; "synthetic cannabinoids"; "nitazenes";* além dos correspondentes em português: "novas substâncias psicoativas"; "imunoensaios"; "reatividade cruzada"; "toxicologia forense"; "causa indeterminada de morte".

Foram incluídos artigos científicos, capítulos de livro e relatórios técnicos institucionais, publicados preferencialmente entre 2015 e 2026. A delimitação desse recorte temporal justifica-se pela dinâmica acelerada de inovação no mercado ilícito de drogas — marcado pela rápida emergência de novas moléculas e classes, como os nitazenos, na última década — e pelas contínuas atualizações tecnológicas nos métodos de espectrometria de massas, garantindo assim que a revisão reflita o cenário toxicológico e analítico estritamente contemporâneo. Os materiais selecionados, em português, inglês ou espanhol, abordam diretamente o desempenho analítico de imunoensaios frente a NSP, a epidemiologia dessas substâncias ou a investigação toxicológica de mortes suspeitas.

O processo de busca nas bases eletrônicas identificou inicialmente um total de 412 registros potenciais. Após a aplicação da triagem inicial por leitura de títulos e resumos e a exclusão de duplicatas e trabalhos fora do escopo temporal ou temático, 128 registros foram selecionados para leitura integral. Destes, 32 estudos e relatórios técnico-institucionais atenderam rigorosamente aos critérios de inclusão e foram efetivamente incorporados para a síntese qualitativa e fundamentação teórica desta revisão.

Durante a elaboração do trabalho, foi utilizada a ferramenta de inteligência artificial Claude (*Anthropic*) como apoio à pesquisa bibliográfica exploratória, à organização temática do material coletado e à revisão da redação e da coesão textual. As buscas realizadas com apoio da ferramenta foram conferidas nas fontes primárias originais — periódicos indexados e sítios institucionais — antes de sua utilização e citação neste artigo, e todo o conteúdo analítico, as

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

inferências e as conclusões apresentadas foram avaliadas criticamente e permanecem sob responsabilidade dos autores e da orientadora.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sistematização da literatura analisada permite consolidar, no Quadro 1, as evidências disponíveis sobre a reatividade cruzada dos imunoensaios frente às classes de NSP discutidas na revisão. O quadro foi organizado para distinguir resultados experimentais demonstrados de lacunas de evidência: não se atribuem níveis quantitativos de risco de falso-negativo quando os estudos consultados não permitem essa classificação. A interpretação considera também que os resultados variam conforme o kit, o composto, o cutoff e a matriz biológica analisada.

Quadro 1. Desempenho comparado dos imunoensaios de rotina por classe de NSP

Classe de NSP	Evidência de reatividade cruzada	Limite da evidência disponível	Abordagem analítica
Canabinoides sintéticos	Resultados variáveis em ensaios avaliados	Castaneto *et al.* (2015) estudaram urina de militares; houve mais falsos-positivos do que falsos-negativos. O estudo não é post mortem.	Confirmação por LC-MS/MS ou HRMS, conforme método validado.
Catinonas sintéticas / feniletilaminas	Reatividade dependente do ensaio; baixa em diversos testes para anfetamina/metanfetamina e variável em ensaios específicos.	Estudos demonstram interferências e falsos-positivos; não há base para atribuir um risco único de falso-negativo à classe.	Confirmação por método específico de espectrometria de massas.
Análogos de fentanil	Reatividade variável entre análogos e entre kits comerciais.	A detecção depende do desenho do ensaio, do cutoff e da matriz analisada.	LC-MS/MS ou HRMS com painel/biblioteca apropriados.
Nitazenos	Evidência direta insuficiente nas fontes aqui examinadas para caracterizar a reatividade de kits comerciais.	Não é possível classificar quantitativamente o risco de falso-negativo com as referências disponíveis.	Método específico por LC-MS/MS ou HRMS.
Benzodiazepínicos de desenho	Reatividade variável; alguns compostos apresentaram reconhecimento em ensaios avaliados.	O desempenho depende do composto, do anticorpo, do kit e da matriz.	Confirmação quantitativa por LC-MS/MS.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Fonte: Elaborado pelos autores (2026), com base em Castaneto *et al.* (2015), Swortwood, Hearn e DeCaprio (2014), Willeman *et al.* (2025), Mastrovito *et al.* (2022), Wharton *et al.* (2021), Schackmuth e Kerrigan (2019), Cieri *et al.* (2024) e Palmquist *et al.* (2023).

O quadro evidencia três pontos centrais. Em primeiro lugar, a reatividade cruzada não é uniforme e varia entre compostos e ensaios. Em segundo lugar, parte dos estudos identifica problemas de especificidade, com resultados falso-positivos, enquanto outros demonstram reconhecimento insuficiente de determinadas moléculas; esses fenômenos não devem ser confundidos. Em terceiro lugar, a evidência específica para algumas classes, especialmente nitazenos, ainda é insuficiente para estimar um risco quantitativo de falso-negativo. Por isso, a confirmação por espectrometria de massas permanece importante quando a suspeita clínica, circunstancial ou anatomopatológica não é compatível com o resultado da triagem.

Além disso, um estudo de reanálise retrospectiva de 919 amostras de sangue total previamente submetidas a triagem por imunoensaio identificou 709 achados positivos adicionais, envolvendo 67 compostos, quando as amostras foram analisadas por LC-QTOF-MS. O estudo não se restringiu às NSP e não permite concluir, isoladamente, que esses achados representem mortes relacionadas a essas substâncias; entretanto, demonstra de forma concreta que métodos de espectrometria de massas podem ampliar o número de substâncias identificadas em relação à triagem imunoquímica convencional (AYALA; KERRIGAN, 2025).

No que se refere aos nitazenos, Veloso *et al.* (2025) contribuem para a contextualização dos opioides sintéticos ultrapotentes e dos desafios associados à sua identificação. Entretanto, por não constituírem uma avaliação experimental de reatividade cruzada de imunoensaios, seus dados são utilizados aqui como contextualização da classe, e não como evidência direta de desempenho analítico de kits.

Por fim, os achados reforçam que a resposta técnica não precisa ser baseada na substituição integral do imunoensaio pela espectrometria de massas em toda a rotina. Uma estratégia possível é manter métodos de triagem para situações em que sejam adequados e ampliar o uso de LC-MS/MS ou HRMS quando houver incompatibilidade entre o resultado da triagem e o quadro clínico, circunstancial ou anatomopatológico, além de utilizar métodos de maior abrangência em laboratórios de referência. Essa abordagem é compatível com a literatura sobre triagem toxicológica por HRMS e sobre as limitações dos imunoensaios diante das NSP (HEINSVIG *et al.*, 2023; PALMQUIST *et al.*, 2023).

Como limitações deste estudo, destaca-se seu caráter de revisão narrativa, e não sistemática, o que implica ausência de avaliação formal de qualidade metodológica de todos os estudos primários incluídos e possibilidade de viés de seleção. Além disso, os estudos disponíveis utilizam diferentes kits, pontos de corte e matrizes biológicas, o que limita

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

comparações diretas entre resultados. Parte importante dos dados quantitativos de reatividade cruzada foi produzida em laboratórios de outros países, havendo necessidade de estudos brasileiros que avaliem o desempenho dos kits comerciais efetivamente utilizados pelos serviços de toxicologia forense do país.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho partiu da hipótese de que a reatividade cruzada insuficiente entre os imunoensaios de rotina e determinadas novas substâncias psicoativas pode gerar resultados falso-negativos e dificultar a investigação toxicológica de mortes suspeitas. A revisão sustenta que existem limitações de reconhecimento de determinadas NSP em ensaios comerciais, mas também mostra que os resultados dependem da classe química, do composto, do kit e da matriz analisada. As evidências reunidas não permitem afirmar que resultados falso-negativos tenham sido a causa de mortes classificadas como indeterminadas nos estudos brasileiros discutidos.

O objetivo geral foi alcançado dentro dos limites da revisão narrativa: foram discutidas as limitações analíticas dos imunoensaios frente às NSP e seus possíveis desdobramentos para a toxicologia forense. Os resultados negativos de triagem não devem ser interpretados isoladamente quando houver elementos clínicos, circunstanciais ou anatomopatológicos que mantenham a suspeita de intoxicação, sobretudo porque os painéis de imunoensaios não contemplam necessariamente todas as moléculas em circulação.

Os objetivos específicos foram parcialmente atendidos. Foram caracterizados os fundamentos técnicos e as limitações estruturais dos imunoensaios; descritas classes de NSP e aspectos de sua disseminação; sistematizadas evidências de reatividade cruzada para canabinoides sintéticos, catinonas, análogos de fentanil e benzodiazepínicos de desenho; e discutido o papel da espectrometria de massas. Para os nitazenos, contudo, as fontes consultadas não forneceram evidência experimental direta suficiente sobre a reatividade cruzada de kits comerciais, de modo que essa lacuna permanece e impede uma conclusão quantitativa sobre o risco de falso-negativo nessa classe.

Para pesquisas futuras, sugere-se a realização de estudos originais que avaliem, em amostras biológicas de casos periciais brasileiros, a reatividade cruzada dos kits comerciais efetivamente empregados pelos serviços de toxicologia forense frente às NSP atualmente em circulação — sobretudo nitazenos e canabinoides sintéticos. Também são necessários estudos de reanálise retrospectiva de amostras arquivadas de casos de causa indeterminada, com documentação da matriz, do intervalo post mortem e das condições de conservação. Essas

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

pesquisas podem contribuir para dimensionar com maior precisão as limitações analíticas no contexto nacional.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Novas Substâncias Psicoativas (NSP)**. Brasília, DF: Anvisa, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/novas-substancias. Acesso em: 29 set. 2026.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Relatório: novas drogas proibidas e controladas**. Brasília, DF: Anvisa, 2019. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/relatorio-novas-drogas-proibidas-e-controladas. Acesso em: 29 set. 2026.

ALMEIDA, Natália Santiago Pinto de *et al.* Morte por causa indeterminada: estudo dos laudos necroscópicos no Instituto Médico Legal de Vera Cruz, Bahia. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 13, n. 2, p. 100-109, 2024. DOI: 10.15260/rbc.v13i2.710.

ANTUNES, Mónica; BARROSO, Mário; GALLARDO, Eugenia. Analysis of cannabinoids in biological specimens: an update. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, art. 2312, 2023. DOI: 10.3390/ijerph20032312.

AYALA, Jessica; KERRIGAN, Sarah. Comparison of a comprehensive liquid chromatography-quadrupole time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS) screen in whole blood with conventional immunoassay-based techniques. **Journal of Analytical Toxicology**, 2025. DOI: 10.1093/jat/bkaf054.

BATES, Maia N.; HELM, Abby E.; BARKHOLTZ, Heather M. Screening for forensically relevant drugs using data-independent high-resolution mass spectrometry. **Chemical Research in Toxicology**, v. 37, n. 4, p. 571-579, 2024. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.3c00379.

BORDONI, Leonardo Santos; RIBEIRO, Daniel Alves Branco; BORDONI, Polyanna Helena Coelho. Causa indeterminada de morte: possíveis determinantes e implicações para a Medicina Legal da ausência do Serviço de Verificação de Óbitos. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, v. 6, n. 4, p. 500-521, 2017. DOI: 10.17063/bjfs6(4)y2017500.

CASTANETO, M. S. *et al.* Quantitative urine confirmatory testing for synthetic cannabinoids in randomly collected urine specimens. **Drug Testing and Analysis**, v. 7, n. 6, p. 483-493, 2015. DOI: 10.1002/dta.1709.

CIERI, Grace; MOHR, Amanda L. A.; MASTROVITO, Rebecca; LOGAN, Barry K. Evaluating cross-reactivity of new psychoactive substances (NPS) in human whole blood by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Journal of Analytical Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 191-196, 2024. DOI: 10.1093/jat/bkae017.

EUROPEAN UNION DRUGS AGENCY (EUDA). **New psychoactive substances – the current situation in Europe**. European Drug Report 2025. Lisboa: EUDA, 2025. Disponível em: https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2025/new-psychoactive-substances_en. Acesso em: 29 set. 2026.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

FENG, Sheng *et al.* Performance of two fentanyl immunoassays against a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 45, n. 2, p. 117-123, 2021. DOI: 10.1093/jat/bkaa053.

GONÇALVES, Ruben *et al.* Suitability of high-resolution mass spectrometry in analytical toxicology: focus on drugs of abuse. **Toxicologie Analytique et Clinique**, v. 34, n. 1, p. 29-41, 2022. DOI: 10.1016/j.toxac.2021.11.006.

HEINSVIG, Pia Johansson; NOBLE, Carolina; DALSGAARD, Petur Weihe; MARDAL, Marie. Forensic drug screening by liquid chromatography hyphenated with high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 162, art. 117023, 2023. DOI: 10.1016/j.trac.2023.117023.

MASTROVITO, Rebecca *et al.* Determination of cross-reactivity of novel psychoactive substances with drug screen immunoassays kits in whole blood. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 46, n. 7, p. 726-731, 2022. DOI: 10.1093/jat/bkab110.

PALMQUIST, Kaitlyn B. *et al.* Review of analytical methods for screening and quantification of fentanyl analogs and novel synthetic opioids in biological specimens. **Journal of Forensic Sciences**, v. 68, n. 5, p. 1643-1661, 2023. DOI: 10.1111/1556-4029.15282.

SAITMAN, Alec *et al.* False positive urine drug screens. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 50, n. 4, 2026. DOI: 10.1093/jat/bkag007.

SCHACKMUTH, Madison; KERRIGAN, Sarah. Immunoassay-based detection of fentanyl analogs in forensic toxicology. **Forensic Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 231-237, 2019. DOI: 10.1007/s11419-018-0445-6.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). **Novas drogas psicoativas e opioides: um desafio crescente para a toxicologia laboratorial e a saúde pública**. São Paulo: SBPC/ML, 2025. Disponível em: https://noticias.sbpc.org.br/noticia/novas-drogas-psicoativas-e-opioides-um-desafio-crescente-para-a-toxicologia-laboratorial-e-a-saude-publica. Acesso em: 29 set. 2026.

SWORTWOOD, Madeleine J.; HEARN, W. Lee; DECAPRIO, Anthony P. Cross-reactivity of designer drugs, including cathinone derivatives, in commercial enzyme-linked immunosorbent assays. **Drug Testing and Analysis**, v. 6, n. 7-8, p. 716-727, 2014. DOI: 10.1002/dta.1489.

TRUVER, Michael T. *et al.* Application of professional best practices in postmortem forensic toxicology. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 49, n. 8, p. 529-541, 2025. DOI: 10.1093/jat/bkaf061.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME (UNODC). **1,124 NPS reported to UNODC from 134 countries and territories**. Vienna: UNODC, 2022. Disponível em: https://www.unodc.org/LSS/Announcement/Details/40df1bf0-4f70-4862-844e-20536e0d95fd. Acesso em: 3 nov. 2026.

VELOSO, Annelize Rodriguez; CORRÊA, Mateus Dias; NUNES DE PAULA, Adriano. Opioides sintéticos ultra-potentes: características e estratégias frente à crise dos nitazenos. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 7, n. 3, p. 285-293, 2025. DOI: 10.36557/2674-8169.2025v7n3p285-293.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

WHARTON, Rebekah E. *et al.* Detection of 30 fentanyl analogs by commercial immunoassay kits. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 45, n. 2, p. 111-116, 2021. DOI: 10.1093/jat/bkaa181.

WILKENING, G. Lucy; HALE, Genevieve M.; ROSS, Clint. Urine drug screens: considerations for the psychiatric pharmacist. **Mental Health Clinician**, v. 6, n. 1, p. 42-47, 2016. DOI: 10.9740/mhc.2016.01.042.

WILLEMAN, Théo *et al.* Underreporting of synthetic cathinone poisoning with clinical immunoassays: an experimental and observational study. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 62, n. 6, p. 440-446, 2025. DOI: 10.1177/00045632251331404.

ZHAO, Jiang-yang *et al.* Rapid and sensitive detection of fentanyl and its analogs by a novel chemiluminescence immunoassay. **Clinical Chemistry**, v. 70, n. 7, p. 978-986, 2024. DOI: 10.1093/clinchem/hvae071.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.