



SOCIEDADE BRASILEIRA DE
Toxicologia



**DIRETRIZES SOBRE O EXAME DE
SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM
CABELOS E PELOS:
COLETA E ANÁLISE**

2015



Sociedade
Brasileira de
Toxicologia

DIRETRIZES SOBRE O EXAME DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM CABELOS E PELOS: Coleta e Análise

(Versão 2 - atualizada e corrigida em Dezembro de 2015)

2015

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

Sociedade Brasileira de Toxicologia- SBTox

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 Bloco 13B – CEP: 05508-000 – São Paulo / SP

Telefax: (+5511) 3031 1857

Site: www.sbtox.org.br – e-mail: diretoria@sbtox.org.br

Diretoria (Biênio 2014-2015)

Presidente: Daniel Junqueira Dorta (SP)

Vice-Presidente: Danielle Palma de Oliveira (SP)

Secretaria-Geral: Solange Cristina Garcia (RS)

1o. Secretário: Elisa Raquel Anastácio Ferraz (RJ)

2o. Secretário: Rony Anderson Rezande Costa (PB)

1o. Tesoureiro: Tania Marcourakis (SP)

2o. Tesoureiro: Luiz Carlos da Cunha (GO)

PREFÁCIO

Entre os desafios da Toxicologia no país, a análise de substâncias psicoativas em matrizes biológicas não usuais, como cabelo e pelos, está entre as mais relevantes na atualidade. A inexistência de informações baseadas em conhecimentos científicos e disponíveis em língua portuguesa favorece a falta de uniformidade existente nos processos adotados para tais análises.

Assim, este documento contendo as “Diretrizes para Análise de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos” surge da percepção desta Sociedade do atual aumento de demanda para este tipo de análise, além da necessidade de padronização dos processos analíticos, iniciando no momento da coleta e findando na interpretação dos resultados e favorecendo, desta forma, a reprodutibilidade de resultados em diferentes laboratórios.

Assim as Diretrizes aqui propostas tem o objetivo de prover à sociedade o conhecimento das condições adequadas para a realização de tais procedimentos e ainda fornecer subsídios para os tomadores de decisão. Adicionalmente, a publicação deste documento faz cumprir algumas das premissas desta Sociedade Científica, como a contribuição para divulgação da toxicologia e suas análises como ciência, por meio da divulgação de trabalhos técnicos e científicos na área, congregando sempre profissionais e organizações atuantes nas diversas áreas da Toxicologia.

DANIEL JUNQUEIRA DORTA
Diretor Presidente
Sociedade Brasileira de Toxicologia

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

COORDENADORES

Alice A. da Matta Chasin, Doutora em Toxicologia - Faculdades Oswaldo Cruz, (São Paulo, Brasil)

Myriam C Salvadori, Doutora em Patologia Experimental e Comparada - Laboratório ChromaTox Ltda (São Paulo, Brasil)

Lolita Tsanaclis, Doutora em Farmacologia - Cansford Laboratories (Cardiff, Reino Unido), Laboratório ChromaTox Ltda (São Paulo, Brasil)

CONTRIBUIDORES

Bruno D Sabino - Doutor em Biologia Celular e Molecular – Contraprova Análises, Ensino e Pesquisas Ltda (Rio de Janeiro - RJ, Brasil)

Bruno S De Martinis - Doutor em Química Analítica - Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Química, Laboratório de Análises Toxicológicas Forenses (Ribeirão Preto - SP, Brasil)

Daniel Junqueira Dorta – Doutor em Toxicologia – Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Química (Ribeirão Preto – SP , Brasil)

Grazziele C de Araújo - Especialista em Toxicologia - Psychemedics Brasil Exames Toxicológicos Ltda (São Paulo - SP, Brasil)

Jose Luiz da Costa - Doutor em Química Analítica - Núcleo de Toxicologia Forense, Superintendência da Polícia Técnico-Científica- Instituto de Criminalística, (São Paulo - SP, Brasil)

Lucelaine Morales - Especialista em Biomedicina - Laboratório Sodré - Divisão Toxicológica (Lins-SP, Brasil).

Mauricio Yonamine - Doutor em Toxicologia e Análises Toxicológicas - Laboratório de Analises Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (São Paulo - SP, Brasil)

Rafael A. Menck - Doutor em Toxicologia e Análises Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (São Paulo -SP, Brasil)

Rafael Linden - Doutor em Biologia Celular e Molecular - Universidade Feevale (Novo Hamburgo - RS, Brasil)

Conteúdo

1. Introdução	6
1.1. Objetivo	6
1.2. Finalidade.....	6
2. Coleta da amostra	7
2.1. Introdução.....	7
2.2. Qualificação do Coletor	8
2.3. Local de coleta de amostras	9
2.4. Formulário da Cadeia de Custódia (FCC).....	9
2.5. O Processo da Coleta	10
3. Organização do Laboratório.....	11
4. Laboratório de análises e procedimentos	12
4.1. Recebimento da Amostra	12
4.2. Descontaminação e Extração da amostra.....	13
4.3. Análise da Amostra.....	13
5. Métodos analíticos e critérios de validação.....	14
5.1. Testes de Triagem.....	14
5.2. Ensaios de confirmação.....	14
6. Garantia da Qualidade e controle de qualidade.....	15
6.1. Introdução.....	15
6.2. Pessoal do Laboratório.....	16
6.3. Acomodações e condições ambientais.....	19
6.4. Controle da Qualidade	19
7. Interpretação dos resultados.....	19
7.1. Introdução.....	19
7.2. Base teórica	19
7.3. Valores de corte (Cut-offs) – Critérios para um resultado positivo.....	20
7.4. Emissão de resultados	22
8. Interpretação dos resultados de ensaio de substâncias psicoativas em cabelo	23
8.1. Contaminação passiva.....	23
8.2. Efeitos do tratamento cosmético	23
9. Contraprova.....	24
10. Referências	24
11. Apêndice: Exemplo de Coleta de Cabelo	25

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

1. INTRODUÇÃO

A Sociedade Brasileira de Toxicologia – SBTox, ciente de seu papel de balizar a Ciência que representa decidiu, frente às novas demandas de análises em matrizes queratínicas, especialmente cabelos, tomar para si a tarefa de normatização da execução desses exames para que cumpram sua finalidade precípua que é a de verificação de exposição pregressa a substâncias psicoativas de abuso.

Na figura de seu Presidente, o Prof Dr Daniel Junqueira Dorta, a Diretoria da SBTox, decidiu elaborar diretrizes sobre todas as etapas desse exame, bem como sobre o ambiente onde devem ocorrer para que o resultado seja obtido com o nível de excelência necessário à finalidade forense da qual se reveste essa análise. Devido a falta de normatização para análises de substâncias psicoativas em cabelo e/ou pelo para aplicação na clínica ou pesquisa científica; o padrão de excelência estabelecido nessas diretrizes, para análises forense, também pode ser aplicado para exames cuja finalidade seja clínica ou pesquisa científica também.

Para isso foram convidados, dentro do seu quadro de associados, profissionais dos setores acadêmico e produtivo que atuam nessa área e que trazem a necessária visão e experiência para colaborar com a elaboração das diretrizes.

A coordenação do projeto ficou a cargo das doutoras Alice A. da Matta Chasin, Lolita Tsanaclis e Myriam C. Salvadori, sendo colaboradores: Bruno Sabino, Bruno Spinosa De Martinis, Grazziele C. de Araújo, José Luiz da Costa, Lucelaine Morales, Mauricio Yonamine, Rafael Linden e Rafael Menck de Almeida.

Este documento se baseia nas recomendações da EWDTS (European Workplace Drug Testing Society) publicadas originalmente em 2010 e atualizados em 2014, com publicação prevista para maio/2015 e nas recomendações da Society of Hair Testing (SoHT).

Estas diretrizes deverão ser revisadas no mínimo a cada 2 anos.

1.1. OBJETIVO

Elaborar diretrizes para teste de substâncias psicoativas* em cabelos e pelos incluindo recomendações para os laboratórios que pretendam realizar essas análises, assim como para os fornecedores de exames para essas substâncias no ambiente de trabalho no Brasil.

As recomendações abrangem desde a coleta das amostras, análise e interpretação de resultados, e visa garantir que os testes de substâncias psicoativas em amostras queratínicas sejam realizados dentro de um padrão de qualidade definido como juridicamente seguro e harmonizado com outros países.

* Nota: No original “*drug*” que foi traduzida como “substância psicoativa” para seguir o contexto do presente manual.

1.2. FINALIDADE

Orientar os laboratórios brasileiros interessados na determinação de substâncias psicoativas em cabelo e pelos, para que sejam aptos a produzir resultados confiáveis, com a finalidade de:

- Promover e harmonizar ações, fornecendo orientações para que os resultados obtidos sejam aceitos juridicamente no Brasil;

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

- Garantir que os processos realizados sejam capazes de cumprir preceitos legais;
- Fornecer salvaguardas para proteger os doadores das amostras colhidas;
- Definir a garantia da qualidade e critérios de controle de qualidade normatizados para os laboratórios que demonstrem capacidade de serem acreditados por um organismo externo.

2. COLETA DA AMOSTRA

2.1. INTRODUÇÃO

A coleta de amostras de cabelo e pelos é uma das fases mais difíceis e importantes do processo de exame de substâncias químicas tanto no ambiente de trabalho como na área forense ou médico-legal.

Para isso deve-se respeitar todo o processo inerente à cadeia de custódia. Cadeia de custódia é o conjunto de todos os procedimentos realizados, por exemplo, com uma amostra de cabelo, desde sua coleta até a elaboração do laudo e sua juntada em processo judicial, quando pertinente. Esses procedimentos passam pela coleta, identificação e acondicionamento da amostra; o correto armazenamento, transporte, recebimento e registro nos laboratórios para exames, até a manipulação durante as análises laboratoriais, guarda de parte do material para eventual nova análise devidamente identificado e, finalmente, a elaboração do Laudo ou Relatório de Análise respectivo. Desta forma, busca-se garantir que o resultado final (contido no laudo), realmente trate a respeito da amostra originalmente coletada.

Para garantir a integridade de todo o processo, o profissional responsável pela coleta, aqui designado como “Coletor”, deve ser ético quanto à privacidade e dignidade do doador e, ao mesmo tempo, garantir que a amostra seja coletada de forma precisa e sem qualquer adulteração. Para tal, o Coletor deverá estar devidamente treinado e autorizado pelo laboratório apontado a desempenhar esta função. É o responsável técnico do laboratório quem deve ser integralmente responsabilizado pela cadeia de custódia.

Para assegurar um equilíbrio entre a privacidade do doador e a necessidade de garantir a correta identificação e integridade da amostra os seguintes passos devem ser devidamente documentados:

- A verificação da identidade do doador, através de documento atualizado com foto, apresentados na coleta, e obtenção de impressões digitais e fotografia, quando pertinente ou métodos biométricos;
- A identificação da amostra com a identificação do doador;
- A garantia de que nenhuma adulteração tenha ocorrido;
- A garantia de que nenhum acesso indevido tenha sido autorizado ao espécime;
- A transferência segura da amostra ao laboratório de análise, com registros que comprovem e assegurem a rastreabilidade das amostras.

Esse processo de documentação é o primeiro ato do que é referido como a cadeia de custódia (CC) e deve conter todos os dados passíveis de eventual reconstituição em data posterior. Devem garantir e provar que o resultado final se refere adequadamente à amostra do doador. É o primeiro elo entre o doador e o resultado analítico.

Os procedimentos de coleta de amostras de cabelo para exames de substâncias psicoativas tanto no ambiente de trabalho como na área forense são muito rigorosos. É essencial que o centro de coleta de amostras tenha por escrito os procedimentos operacionais padrão (POP) para que os Coletores

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

cumpram esses procedimentos, a fim de minimizar a possibilidade de erros processuais ou administrativos.

O profissional responsável pela coleta de amostra deve ser devidamente treinado para obtenção da amostra do doador em local apropriado para esse ato. É também responsável pelo correto preenchimento do formulário de custódia e controle analítico.

O Coletor deve realizar apenas uma coleta de cada vez, para evitar erros de identificação da amostra e evitar qualquer desatenção que possa comprometer a segurança da amostra. Deve, também, garantir o tratamento seguro e o adequado armazenamento da amostra a partir do momento em que a amostra é colhida do doador até o transporte para o laboratório. Um exemplo de protocolo para a coleta de amostra de cabelo é fornecido no Apêndice.

2.2. QUALIFICAÇÃO DO COLETOR

Embora não seja necessária certificação especializada ou educação médica, é necessário treinamento adequado para executar a coleta. O treinamento pode, por exemplo, ser organizado por um laboratório ou uma organização/empresa independente.

Os Coletores podem ser treinados por vários métodos, como vídeo, sala de aula, internet, etc., e o treinamento deve incluir, no mínimo, os seguintes pontos:

- O processo de coleta
- O processo da cadeia de custódia
- O processo envolvido com os "problemas" mais frequentes relacionados à coleta (por exemplo, a calvície)
- A responsabilidade do Coletor quanto à manutenção da privacidade do doador, a confidencialidade da informação e a integridade da amostra
- As questões éticas, especialmente em relação à declaração do doador de uso passado e presente de medicamentos prescritos que podem influenciar o resultado
- Os direitos legais, éticos e humanos do doador.

É altamente recomendável que, após a conclusão do treinamento, cada Coletor seja questionado em todos os assuntos abordados no curso de formação para a verificação de sua compreensão dos temas abordados durante o treino. Também é altamente recomendado que cada curso de formação inclua coletas simuladas para avaliar a competência do Coletor.

Na conclusão do treinamento, o Coletor pode começar a executar coletas. No entanto, existem algumas situações impeditivas de que determinado Coletor proceda à determinada coleta, particularmente no ambiente de trabalho. Estas situações são:

- Se o Coletor é o supervisor imediato do doador (a menos que nenhum outro Coletor esteja disponível), ou se o Coletor é um colega de trabalho, um parente ou um amigo próximo do funcionário
- Um funcionário do laboratório que realizará o teste de substâncias psicoativas não pode ser o Coletor da amostra se esse indivíduo tiver qualquer vínculo com o doador ou tiver condições de relacionar o doador ao resultado da análise, a menos que esteja vinculado com confidencialidade profissional.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

2.3. LOCAL DE COLETA DE AMOSTRAS

O local de coleta deverá atender às exigências da Vigilância Sanitária, órgão responsável pelas normas técnicas de infraestrutura de laboratórios, e é uma instalação (permanente ou temporária), selecionada pelo empregador, onde os doadores apresentam-se com a finalidade de fornecer a amostra de cabelo ou pelo.

O acesso ao local de coleta deve ser restrito. Procedimentos para coleta de amostras devem permitir a privacidade individual. De preferência, deve exibir uma placa mostrando a proibição de entrada enquanto a coleta estiver ocorrendo.

A área de coleta deve ser cuidadosamente limpa, dedicada à coleta das amostras e não pode ser usada para o armazenamento de qualquer fonte potencial de contaminação, tais como substâncias psicoativas.

2.4. FORMULÁRIO DA CADEIA DE CUSTÓDIA (FCC)

Cadeia de custódia é o termo usado para o processo de documentação do manuseio e armazenamento da amostra de cabelo, a partir do momento em que o doador fornece a amostra para o Coletor até a destruição da amostra. O FCC é utilizado para documentar o procedimento de coleta e da cadeia de custódia das amostras.

Existem vários tipos de FCC. Quase todos os laboratórios que realizam os exames de substâncias psicoativas possuem uma versão própria deste formulário, a qual varia quanto ao número de cópias para cada formulário. Em geral uma cópia fica com o doador da amostra, outra com o Serviço responsável pela Coleta e a terceira cópia fica retida no Laboratório.

O FCC deverá apresentar a informação de que o resultado do exame poderá ser compartilhado com órgão solicitante do exame, quando for este o motivo da realização, devendo ser consentido através de assinatura do doador.

O FCC deverá ser numerado com um número de identificação unívoco, que é a identificação do espécime (amostra) e inclui etiqueta com esse mesmo número de identificação. O envelope contendo a amostra de cabelo deve ser lacrado com um sistema que permita evidenciar qualquer violação, como o uso de etiqueta de segurança inviolável e autodestrutiva. Esse laço ou etiqueta deve estar devidamente numerado e tem o único propósito de evidenciar que não houve adulteração.

As informações no FCC devem incluir:

- Número único de identificação da amostra;
- Nome, endereço, e-mail e número de telefone do laboratório onde a análise será realizada;
- Nome do Coletor;
- Informações sobre a identificação do doador (por exemplo, data de nascimento, nome e endereço que, a critério do Laboratório poderão constar. A identificação pode ser feita por um código, de preferência com código de barras, utilizado para que a amostra fique propositalmente no anonimato, mas que esteja vinculada ao doador da mesma e que seja conhecido pelo empregador ou pela autoridade legal. O laboratório analisará a amostra sem ter conhecimento da identidade real do indivíduo que está sendo testado, mas o empregador terá esta informação;
- Campo específico para coleta de impressão digital, com o intuito de garantir a identidade do doador em caso de questionamento;

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

- Data e hora da coleta;
- Os nomes e assinaturas de todos os indivíduos que tiveram a custódia da amostra durante o processo de coleta;
- Declaração do doador sobre o uso de medicamentos prescritos e não prescritos, da autenticidade da amostra, eventual correção de rotulagem e embalagem de amostra e permissão para a amostra a ser analisada no laboratório;
- Relato de utilização de substâncias ilícitas e medicamentos, período e frequência de uso;
- Cor do cabelo e tratamento estético e cosmético como alisamentos, descoloração e tintura;
- Substâncias psicoativas a serem analisadas incluindo o período a ser testado. No entanto, quando o teste já está previamente coberto por um contrato, esta informação não é necessária no momento da coleta das amostras;
- Local de coleta: cabelo ou pelo (cabeça, perna, braço, púbico, tórax, axila);
- Opcionalmente, o FCC pode conter informações sobre como contatar o doador durante o dia (ou seja, número de telefone); informações sobre como chegar a um representante do empregador (ou seja, nome e número de telefone);
- Quando aplicável, a revisão de um médico (do inglês MRO- *Medical Review Officer*), informação do médico do trabalho (nome, endereço, telefone, e-mail, fax, etc); informação sobre local de coleta (ou seja, endereço, nome do Coletor, número de telefone);
- Um mínimo de três partes destacáveis ou cópias do FCC a serem distribuídas pelo Coletor da seguinte forma: (i) uma parte ou cópia para o laboratório (com o modelo), (ii) uma parte ou cópia para o doador e (iii) uma parte ou cópia retida pelo Coletor.

2.5. O PROCESSO DA COLETA

Os pontos a seguir descrevem as etapas para uma coleta de cabelo:

- Verificação da identidade do doador.** Quando o doador se apresenta para a coleta, o Coletor deve solicitar documento de identificação com fotografia para verificar a identidade do doador (RG, Carta de habilitação, passaporte, etc). O coletor deverá colher as impressões digitais, por exemplo, dos dedos polegares. Dessa maneira, pode-se proteger o laboratório, no caso de problemas na identificação do doador.
Pode ser aceitável, mas não recomendável, que caso se trate de verificação de uso no ambiente de trabalho, que o supervisor do doador ou outro representante do empregador faça a identificação do doador, porém se uma terceira pessoa atuar para confirmar a identidade do doador, este deve fornecer sua própria identificação com fotografia e sua confirmação deve ser registrada por escrito no FCC.
Importante: Se a identidade do indivíduo não puder ser estabelecida, o Coletor não deve prosseguir com a coleta. Ainda, se o comprovante da identificação não estiver disponível, o doador pode tirar uma fotografia no momento da coleta, que atuará como o documento de verificação posterior da identidade do doador;
- Coleta em menores de 18 anos.** Quando solicitado por juizado especial de vara de família, conselho tutelar, centro de tratamento do governo ou outro, a solicitação deve ser por escrito e assinada e os acompanhantes darão consentimento para a realização da coleta e análise através da apresentação de documentos de identificação do cargo que estabeleça responsabilidade pelo menor. Quando solicitado por pais ou tutor do menor, o responsável deverá apresentar documento que comprove a filiação ou termo de tutela do menor;
- Coleta da amostra.** O cabelo deve ser cortado preferencialmente a partir da região do vértice

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

posterior da cabeça, o mais próximo possível do couro cabeludo, uma vez que essa é a região de menor variação na taxa de crescimento. Deverá ser colhida uma mecha de cabelo e, nos casos de cabelo muito curto ou fino, pode ocorrer a coleta de pequenas mechas ao redor da cabeça para atingir a quantidade mínima necessária. A quantidade de fios na mecha pode variar de acordo com as necessidades do laboratório podendo chegar à espessura de um lápis.

Em geral, estima-se que o cabelo cresça cerca de 1,0 cm por mês. Se for necessária uma análise segmental, cabelo é a amostra preferida. O comprimento de cada segmento e o número de segmentos necessários devem ser especificados (por exemplo, 3 x 2 segmentos mês, os segmentos 2 x 3 meses, etc). O cabelo deve ser recolhido em quantidade suficiente para permitir o teste inicial, seguido da confirmação ou reteste da amostra, se necessário. No caso de indisponibilidade de cabelo, os pelos do corpo (por exemplo, peito, braço, coxas, pubianos, e axilares) podem ser colhidos, se aceitos pela empresa e doador. Pelos e unhas só poderão ser colhidos em casos específicos, sendo que *o cabelo deve ser a matriz de escolha*;

- d. **Preenchimento do envelope com os dados necessários.** A cor, o comprimento, o local do corpo e qualquer tratamento cosmético óbvio do cabelo devem ser anotados. O doador deve ser solicitado a declarar todos os tratamentos cosméticos, além daqueles já observados. A porção proximal (extremidade mais próxima ao escalpo) do cabelo deve ser claramente definida;
- e. **Colocação da mecha de cabelo no kit de coleta.** Quando forem necessárias amostras A e B o Coletor pode dividir a mecha de cabelo em dois envelopes do *kit* de coleta. Assim, evita-se um transtorno estético e duas coletas em regiões diferentes da cabeça, para as amostras A e B (prova e contraprova, respectivamente). Cada envelope deverá conter a quantidade mínima necessária para a análise;
- f. **Lacração do kit.** O Coletor deve colocar a etiqueta lacre inviolável sobre ambos os envelopes do *kit* de coleta (amostras A e B), todo este processo deve ser feito em frente ao doador;
- g. **Instrução ao doador para assinar a lacração dos kits.** O Coletor deve instruir o doador para rubricar e colocar a data em cada um dos selos do kit;
- h. **Anotação no FCC.** O Coletor deve preencher apropriadamente o FCC com as informações do doador (por exemplo, data de nascimento, números de telefone), informações de coleta (por exemplo, data e hora da coleta), entradas de cadeia de custódia e instruir o doador a assinar o FCC, além de coletar impressões digitais do doador;
- i. **Verificação do FCC.** O Coletor deve verificar todas as cópias do CCF em relação à legibilidade e completude. Se todas as cópias estiverem legíveis e completas, o Coletor fornece uma cópia do FCC ao doador e o dispensa;
- j. **Preparação da amostra para o envio ao laboratório.** O Coletor deverá colocar os *kits* de amostras, juntamente com a cópia do laboratório (original) do FCC em um envelope. É importante que o Coletor garanta que cada espécime coletado seja enviado (ou recolhido pelo laboratório), de acordo com a política da empresa. As amostras devem ser armazenadas e transportadas em temperatura ambiente, longe da luz direta, do sol ou umidade.

3. ORGANIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

Laboratórios que realizam a análise do cabelo devem ser acreditados pela norma ISO/IEC 17025, preferencialmente, ou por normas equivalentes e que se embasem na ISO/IEC 17025, que envolvam todo o processo de análise, desde o recebimento da amostra até a emissão dos resultados. As diretrizes da SoHT (Society of Hair Testing) também devem ser consideradas.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

A natureza complexa da análise do cabelo e os desafios analíticos concomitantes requerem cientistas bem treinados (item 6.2) e laboratórios suficientemente equipados.

O laboratório deve ter total disponibilidade de técnicas avançadas, como a cromatografia em fase líquida ou em fase gasosa acopladas à espectrometria de massas (GC-MS, LC-MS) e/ou à tecnologias em serie (MS/MS). Deve evidenciar de forma bem documentada, a validação dos métodos, o processamento de dados e a liberação de resultados analíticos.

Recomenda-se que as análises sejam encaminhadas aos laboratórios designados que tenham a capacidade analítica para alcançar o desempenho exigido para análise do cabelo.

A equipe do laboratório deve ter a capacidade de interagir com operadores de Direito nas áreas Trabalhista, Cível e Criminal.

Devem ser registradas a amostragem, evidências da coleta e de armazenamento adequados para assegurar que os resultados produzidos pelos laboratórios sejam cientificamente precisos, exatos e válidos.

4. LABORATÓRIO DE ANÁLISES E PROCEDIMENTOS

4.1. RECEBIMENTO DA AMOSTRA

O recebimento de amostras no laboratório deve ser indicado por assinatura manuscrita ou eletrônica (ou iniciais). Qualquer transferência de amostras deve ser documentada como parte do registro permanente do laboratório.

As amostras devem ser armazenadas pelo período de tempo acordado com o cliente e de forma segura. No entanto, o armazenamento mínimo de 1 ano é recomendado, principalmente para as amostras positivas.

Ao receber a amostra o laboratório deverá comparar as informações contidas no envelope de coleta com o formulário de cadeia de custódia e qualquer discrepância de informação deve ser documentada, como por exemplo, rasuras. Todo o manuseio feito com a amostra desde seu recebimento até o seu descarte deve ser registrado, contendo o nome do responsável pela ação e a data.

Antes de manusear a amostra o laboratório deve documentar em que condições a amostra foi recebida, como por exemplo, deficiência na integridade do envelope de coleta, no selo de segurança, na quantidade de material e qualquer aparência incomum.

As áreas de possível contaminação devem ser consideradas antes e durante a análise e a interpretação dos resultados. Estas situações podem incluir a exposição a medicamentos e contaminação laboratorial.

A amostra e quaisquer alíquotas de extratos devem ser manuseadas e armazenadas de modo a minimizar a degradação e a perda de analitos, ou contaminação. O cabelo seco deve ser protegido contra as fontes de luz UV e permanecer em temperatura ambiente durante o período de armazenamento.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

4.2. DESCONTAMINAÇÃO E EXTRAÇÃO DA AMOSTRA

Antes da análise da amostra de cabelo ou pelos, a matriz deve ser descontaminada para minimizar eventual contaminação externa do cabelo.

Em geral, o método de descontaminação para remover a contaminação ambiental deve incluir um protocolo de lavagem, antes da análise da amostra. O protocolo de lavagem deve ser validado pelo laboratório e pode utilizar solventes aquosos ou combinação de solventes orgânicos. Os resíduos de lavagem podem, a critério do laboratório, ser armazenados para eventual análise posterior.

Após a lavagem, o segmento de cabelo é submetido a um protocolo de extração validado que pode envolver a secagem, pulverização, corte em pequenos pedaços ou desintegração química da amostra de cabelo.

A quantidade mínima de cabelo usado na análise varia entre os laboratórios e cada um deve estabelecer esta exigência durante a validação do método.

Vários procedimentos de extração têm sido publicados na literatura científica. Estes, de maneira geral, incluem:

- Incubação com metanol
- Incubação com solução ácida
- Incubação com solução alcalina
- Incubação em solução tampão
- Incubação enzimática
- Pulverização

Os procedimentos de extração variam entre laboratórios, porém todos os métodos devem estar validados antes da utilização.

4.3. ANÁLISE DA AMOSTRA

A triagem através de um teste imunoenzimático pode ser aplicada, mas não é mandatório que seja realizada. No entanto, quando utilizada, as amostras presumidamente positivas necessitam ser confirmadas por um segundo método com diferente princípio, geralmente GC-MS (ou GC-MS/MS) ou LC-MS (ou LC-MS/MS). Análises por GC-MS ou LC-MS diretamente, sem que seja realizado um teste de triagem, também são aceitas.

Recomenda-se a reanálise de amostras positivas aos laboratórios com transferências e checagens manuais de amostras e extratos analíticos, onde haja possibilidade de trocas.

A fim de melhorar a relação sinal/ruído, pode-se utilizar técnicas de tratamento da amostra como extração líquido-líquido (LLE) ou em fase sólida (SPE) e outras, seguidas ou não por derivatização.

Os procedimentos de extração / limpeza variam entre os laboratórios e cada um deve validar o procedimento escolhido, antes de utilizá-lo.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

5. MÉTODOS ANALÍTICOS E CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

5.1. TESTES DE TRIAGEM

A análise de triagem tem como objetivo identificar possíveis amostras positivas que deverão, posteriormente, ser confirmadas através da análise confirmatória. As amostras presuntivamente positivas deverão ser confirmadas por técnicas que empreguem o detector de espectrometria de massas. Caso o laboratório prefira, as amostras poderão ser analisadas diretamente pelos métodos confirmatórios, sem necessariamente empregar metodologias de triagem. Esta identificação será baseada em valores de referência (valores de corte) definidos nestas diretrizes.

A precisão do ensaio em torno do valor de corte (*cut-off*) deve ser demonstrada. Os testes de triagem devem ser validados para a matriz cabelo.

Os seguintes critérios de validação são sugeridos para testes de triagem:

- Limite de detecção: os valores estabelecidos para os limites de detecção devem ser inferiores aos valores de corte estabelecidos nestas diretrizes;
- Repetitividade: (imprecisão intraensaio): avaliado a partir do Desvio Padrão Relativo (<30%);
- Reprodutibilidade (imprecisão interensaio): avaliado a partir do Desvio Padrão Relativo (<30%);
- Sensibilidade: calculado utilizando amostras autênticas de cabelo que foram adicionadas dos padrões dos analitos analisados (> 90%).

No entanto, alguns analitos podem ser mais difíceis de analisar e os critérios de validação podem estar fora dos limites acima sugeridos, o que é refletido na incerteza de medição. Desta forma, os valores obtidos no laboratório devem ser comunicados aos clientes e acordado entre as partes antes do início das análises.

Caso o teste de triagem esteja sendo utilizado para um tipo de amostra diferente da amostra aprovada pelo fabricante, o laboratório deverá validar estas mudanças e documentar a separação adequada entre amostras negativas e amostras no valor de corte (*cut-off*).

Para o uso de valor de corte diferente do recomendado pelo fabricante a separação adequada entre as amostras positivas e negativas também deverá estar documentada.

Para modificações nos reagentes são necessários estudos de validações que descrevam os reagentes não modificados e os modificados, além de confirmar a cota de reação cruzada informada pelo fabricante, principalmente se o kit for para detecção de um grupo de substâncias psicoativas.

Para ensaios qualitativos deve-se preconizar a replicação dos calibradores no *cut-off* do ensaio.

5.2. ENSAIOS DE CONFIRMAÇÃO

Os padrões internacionais para identificação por espectrometria de massas e quantificação de substâncias psicoativas devem ser considerados.

A detecção por espectrometria de massas (MS), combinada com métodos adequados de ionização deve contemplar técnicas de aquisição como o registo de espectros de massas totais (full scan) ou a monitorização seletiva de íons (SIM) ou ainda técnicas sequenciais MS-MSn como a monitorização de reações múltiplas (MRM) ou outras técnicas adequadas de MS ou MS-MSn.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

Tolerâncias máximas permitidas para as intensidades relativas de íons com diversas técnicas de espectrometria de massas e as razões das substâncias investigadas presentes nas amostras, calibradores, ou controles dentro do lote de análise devem seguir os padrões internacionais e devem ser descritas no manual de Procedimentos Operacionais Padrão.

Os seguintes parâmetros de validação e critérios de aceitação são sugeridos:

- Seletividade: para garantir que não haja interferência, analisar no mínimo 6 brancos de matriz e, no mínimo, 2 zeros (brancos adicionados de padrão interno). Para ser considerado seletivo, o método não poderá apresentar resultado falso-positivo em nenhuma das amostras de branco ou zeros avaliadas;
- Linearidade: analisar pelo menos 5 replicatas de 5 concentrações diferentes. A linearidade deve ser verificada para eliminar valores aberrantes (teste de Grubbs pode ser usado). Os valores de coeficiente de determinação r^2 devem ser iguais ou maiores que 0,98;
- Exatidão: pode ser calculada através de dois controles diferentes (CQs) ao longo do intervalo de linearidade. A inexatidão aceita é de $< 20\%$. Este parâmetro também poderá ser avaliado através da participação em ensaios de proficiência e/ou ensaios interlaboratoriais;
- Repetitividade (imprecisão intraensaio): calculada em pelo menos dois controles diferentes (CQs) ao longo do intervalo de linearidade. Aceita-se valores de desvio padrão relativo $< 20\%$;
- Reprodutibilidade (imprecisão interensaio): calculada em pelo menos dois controles diferentes (CQs) ao longo do intervalo de linearidade. Aceita-se valores de desvio padrão relativo $< 20\%$;
- Limite de detecção (LD) e limite inferior de quantificação (LIQ): devem ser menores do que o valor de corte (*cut-off*);
- Estabilidade dos extratos intermediários e finais que são sujeitos a armazenamento durante o período da análise;
- As razões de íons para a substância a ser analisada e seu padrão interno correspondente não devem diferir mais de $\pm 20\%$ das respectivas razões obtidas nos controles. Além dos parâmetros de validação acima descritos o laboratório deve, também, calcular a incerteza de medição.

No entanto, alguns analitos podem ser mais difíceis de analisar e os critérios de validação podem estar fora dos limites acima sugeridos, o que é refletido na incerteza de medição. Desta forma, os valores obtidos no laboratório devem ser comunicados aos clientes e acordado entre as partes antes do início das análises.

6. GARANTIA DA QUALIDADE E CONTROLE DE QUALIDADE

6.1. INTRODUÇÃO

Os padrões de qualidade estabelecidos pela ISO/IEC 17025 são recomendados ao laboratório de análises, que deve ser acreditado por um organismo regulador reconhecido, com escopo de ensaio para a detecção de substâncias psicoativas acreditado na matriz cabelo/pelos, preferencialmente com acordo de mútuo reconhecimento internacional, como é o caso do órgão oficial brasileiro de acreditação, a Cgcre (Coordenação Geral de Acreditação), que pertence à estrutura do Inmetro, e portanto atendem às finalidades clínicas, forenses e de pesquisa e aos requisitos de toxicologia forense internacionalmente reconhecidos

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

O manual de Procedimentos Operacionais Padrão, de acordo com as exigências da ISO/IEC 17025, deverá conter no mínimo seções sobre:

- Recebimento, armazenamento e alíquotagem da amostra;
- Procedimentos de registro da transferência da amostra;
- Procedimentos para retenção da amostra;
- Descrição do Programa de Controle e Garantia da Qualidade;
- Critério de aceitação de dados analíticos;
- Protocolos para registro, revisão e relato dos resultados;
- O princípio de cada procedimento analítico;
- Detalhes para preparação dos reagentes, dos padrões, dos calibradores e controles;
- Procedimentos e parâmetros de calibração;
- Procedimentos de validação dos métodos analíticos.

A seguir são listadas áreas específicas relevantes para a análise de cabelo.

6.2. PESSOAL DO LABORATÓRIO

O Laboratório deve ter pessoal devidamente qualificado e deve manter registros de treinamentos que estabeleçam a competência do indivíduo para o cargo que ocupa. O arquivo do colaborador deve incluir CV mostrando suas qualificações e experiência profissional anterior, além de registros de treinamento para as suas tarefas atuais.

Todo o pessoal de laboratório deve ter recebido treinamento em requisitos de segurança laboratorial para garantir conformidade com a legislação pertinente.

6.2.1. Chefe do Laboratório

Deve haver uma pessoa que tenha responsabilidade total com as atividades profissionais, organizacionais, educacionais e administrativas do laboratório que realiza testes de substâncias psicoativas em amostras de cabelo.

Esta pessoa é responsável pela gestão do dia-a-dia do laboratório. Algumas das funções podem ser delegadas a outros profissionais devidamente qualificados, mas a responsabilidade geral de quaisquer funções delegadas permanecerá com o chefe designado do laboratório (normalmente o Gerente ou Diretor do Laboratório).

Qualificações:

- Ter pelo menos um diploma universitário de graduação em química, farmácia, biologia ou medicina;
- Treinamento, experiência e um completo conhecimento dos procedimentos de cadeia de custódia, de práticas de controle da qualidade e da teoria e da prática de todos os métodos e procedimentos analíticos utilizados no laboratório.

Responsabilidades:

- Garantir que haja pessoal suficiente com formação e experiência adequadas para supervisionar e conduzir o trabalho do laboratório de exame de substâncias psicoativas;

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

- Assegurar a educação continuada do pessoal de laboratório, documentando sua formação em serviço revendo seu desempenho no trabalho, e verificando suas habilidades;
- Garantir que o laboratório tenha Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) que cubram as atividades de ensaio em atendimento à norma implantada e que essa documentação esteja atualizada e disponível para o pessoal que executa as análises;
- Manter um programa de controle de qualidade para garantir um desempenho analítico aceitável para todos os controles, além de relatórios de todos os ensaios em conformidade com os POPs;
- Garantir e documentar a validade, a confiabilidade, a exatidão, a precisão e as características de desempenho de cada ensaio;
- Assegurar que sejam tomadas todas as ações corretivas necessárias para manter operação e desempenho adequados do laboratório (por exemplo, em resposta a controle de qualidade que não esteja dentro das especificações de desempenho, ou erros ao reportar o resultado do ensaio, ou ainda na análise de resultados de ensaios externos de garantia da qualidade);
- Garantir que os resultados da amostra não sejam reportados até que todas as ações corretivas apropriadas sejam implantadas;
- Garantir que os resultados fornecidos sejam precisos e confiáveis.

6.2.2. Supervisor de Resultados

É a pessoa responsável pela revisão e certificação dos dados pertinentes e dos resultados de amostras de controle da qualidade, antes da liberação dos resultados analíticos.

Qualificações:

- Formação na área de ciências químicas, farmacêuticas, médicas ou biológicas;
- Formação e experiência na teoria e na prática de todos os métodos e procedimentos utilizados no laboratório, incluindo uma compreensão completa dos procedimentos da cadeia custódia, das práticas de controle da qualidade e dos processos analíticos relevantes para os resultados.

Responsabilidades:

Garantir que os resultados fornecidos sejam precisos e confiáveis.

6.2.3. Analista de Laboratório

É a pessoa responsável pela realização dos procedimentos analíticos do dia-a-dia.

Qualificações:

Treinamento apropriado e experiência na teoria e na prática dos procedimentos usados no laboratório.

Responsabilidades:

- Manutenção da cadeia de custódia;
- Execução dos procedimentos analíticos na rotina diária conforme POPs;
- Tomar as ações corretivas necessárias em resposta a resultados de controles fora dos limites ou resultados não conformes.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

6.2.4. Toxicologista

É a pessoa responsável pela interpretação de um resultado analítico positivo para o cliente ou para o médico (MRO) designado.

Qualificações:

- Ter pelo menos um diploma universitário em, por exemplo, ciências químicas, farmacêuticas ou biológicas/médicas
- Treinamento e experiência em teoria e prática de todos os métodos e procedimentos analíticos utilizados no laboratório, incluindo completa compreensão dos procedimentos de cadeia de custódia, de práticas de controle da qualidade e de procedimentos analíticos relevantes aos resultados que o profissional interpreta. Amplo conhecimento de farmacologia e toxicologia.

Responsabilidades:

Interpretação dos resultados do ensaio ao cliente ou ao representante médico designado pelo cliente.

6.2.5. Perito

É a pessoa que apresenta evidências nos processos administrativos ou disciplinares com base nos resultados analíticos reportados pelo laboratório.

As qualificações e experiência desse indivíduo devem ser aceitas em tribunais ou organização relevante.

6.2.6. Outros funcionários

Outros funcionários de nível técnico ou não, devem ter o treinamento e as competências necessárias para as tarefas a que forem designados.

6.2.7. Gerente da Qualidade

É a pessoa que assume a responsabilidade pela garantia da qualidade no laboratório.

Qualificações:

Treinamento e experiência em auditoria na norma ISO/IEC 17025 ou outro ambiente regulatório relevante.

Responsabilidades:

- Monitoramento de programa de controle de qualidade do laboratório;
- Auditoria das operações de laboratório, de acordo com essas diretrizes;
- Verificar se foram tomadas todas as ações corretivas necessárias para manter em nível satisfatório o funcionamento e o desempenho do laboratório.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

6.3. ACOMODAÇÕES E CONDIÇÕES AMBIENTAIS

As instalações físicas do laboratório de toxicologia forense devem ser dispostas de forma a permitir o controle de acesso, ou seja, apenas visitantes autorizados são permitidos no laboratório.

Os visitantes devem sempre ser acompanhados e devem assinar um livro de registro na entrada e saída do laboratório registrando, também, a finalidade da visita e horários de chegada e partida.

Devido à sua elevada área superficial em relação ao volume, as amostras de cabelo são altamente susceptíveis à contaminação externa. Como medida para evitar contaminação, a análise e o armazenamento de amostras de cabelo em laboratórios onde são analisadas drogas apreendidas devem ser realizados em salas separadas. Como precaução adicional, o avental de laboratório deve ser trocado se o analista faz análise de drogas apreendidas e também de substâncias psicoativas em cabelo.

6.4. CONTROLE DA QUALIDADE

6.4.1. Controle da Qualidade Interna

- Um controle de concentração baixa e outro de concentração alta (CQs) devem ser analisados no início e no fim de cada lote de amostras;
- Sugere-se que um lote de amostras inclua, pelo menos, 5% de controles;
- A concentração do controle baixo (CQ baixo) deve ser próxima à concentração do valor de corte na confirmação (não superior a duas vezes a concentração de corte);
- Para controles adicionais, o laboratório deve definir os limites superior e inferior, de acordo com critérios estatísticos aceitáveis.

6.4.2. Controle da Qualidade Externo

- A participação em programas de ensaio de proficiência deverá ocorrer pelo menos duas vezes ao ano, sempre que forem disponíveis;
- Na ausência de ensaios de proficiência para analitos específicos, ensaios cegos deverão ser introduzidos na rotina, utilizando os mesmos critérios para avaliar e garantir os resultados analíticos, proporcionando um maior controle de qualidade aos laboratórios.

7. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

7.1. INTRODUÇÃO

Quando necessário, a interpretação de resultados pode ser feita por um toxicologista experiente na explicação do significado dos resultados e presença de produtos de biotransformação, quando estes ocorrem.

Os seguintes aspectos devem ser considerados ao interpretar um resultado de análise de cabelo.

7.2. BASE TEÓRICA

O cabelo é uma matriz única porque não há metabolismo e excreção ativos para remover as substâncias químicas nele depositadas.

A concentração dessas substâncias no cabelo tratado depende principalmente de:

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

- Dose;
- Biotransformação;
- Distância da raiz – decréscimo significativo na concentração da substância química pode ser observado após vários meses devido à lavagem e à radiação UV;
- Posição ao longo do fio de cabelo e a polaridade do composto;
- Cor do cabelo;
- Porcentagem de cabelos nas fases anágena e telógena – é por isso que muitas vezes não é fácil correlacionar a concentração das substâncias psicoativas encontradas no cabelo com padrão de consumo.

A taxa de crescimento do cabelo pode variar entre 0,6 cm - 1,5 cm/mês, quando cerca de 80-95% dos folículos permanecem na fase anágena (fase de crescimento ativo). A taxa de crescimento pode ser influenciada por substâncias químicas terapêuticas, idade, sexo, raça e depende, ainda, de flutuações sazonais. O cálculo do período coberto pelo cabelo utiliza a média de 1 cm / mês para dar um período aproximado de detecção abrangida pela amostra de cabelo ou segmento analisado.

O pelo do corpo tem crescimento mais lento (0,5 a 1,1 cm/mês) e um ciclo de crescimento diferente quando comparado ao cabelo. O cálculo do período coberto por pelos do corpo utiliza a média 1 cm/mês para dar um período aproximado de detecção coberto pelo comprimento do pelo. Como 40-60% dos pelos permanecem na fase de repouso (telógena), o período de vigência pode ser prorrogado por 3-4 meses. Pelo do corpo não é adequado para análise segmental.

7.3. VALORES DE CORTE (CUT-OFFS) – CRITÉRIOS PARA UM RESULTADO POSITIVO

O resultado positivo de uma análise do cabelo pode ser utilizado para confirmar se uma pessoa usou ou foi exposta a uma substância psicoativa.

A Society of Hair Testing (SoHT) recomenda os seguintes valores de corte (cut-offs) para ensaios de substâncias psicoativas na matriz cabelo e pelo em casos forenses:

7.3.1. Álcool

Atualmente, de acordo com a Organização Mundial de Saúde e dados obtidos de levantamento bibliográfico, a ingestão crônica de álcool em excesso corresponde a um consumo superior a 60 g de etanol puro por dia durante vários meses.

Não é possível a determinação direta de etanol em cabelo devido à sua volatilidade e ao seu potencial de absorção a partir de fontes externas. Em vez disso, metabólitos secundários do etanol, o etil glicuronídeo (EtG) e/ou etil ésteres de ácidos graxos (em inglês fatty acid ethyl esters - FAEE) podem ser usados no cabelo como marcadores diretos do consumo de álcool.

Para analisar EtG em cabelo devem ser utilizadas cromatografia em fase gasosa ou em fase líquida acoplada à espectrometria de massas em série (tandem), usando EtG deuterado como padrão interno.

Para analisar FAEE, quatro ésteres etílicos de ácidos graxos diferentes podem ser utilizados como marcadores; etil miristato, etil palmitato, etil oleato e etil estearato. Para a interpretação do resultado pode ser utilizada a soma das concentrações destes quatro ésteres. A cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) ou a cromatografia em fase líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) e uso de padrões internos deuterados são técnicas adequadas para a determinação de FAEE em cabelo.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

O valor de corte proposto pela SoHT para EtG no cabelo sugerindo consumo excessivo crônico de álcool é 30 pg/mg de cabelo do couro cabeludo, medido em um segmento proximal 0-3 cm. O mesmo valor de corte pode ser utilizado para pelos corpóreos, com exceção das regiões axilares e pubiana.

Da mesma forma, o valor de corte proposto pela SoHT para a soma dos quatro ésteres no cabelo sugerindo fortemente um consumo excessivo e crônico de álcool é 0,5 ng/mg de cabelo, medido em um segmento proximal 0-3 cm.

EtG é o principal marcador na avaliação de abstinência. Uma concentração de EtG igual ou superior a 7 pg/mg é forte indício do consumo repetido de álcool. No entanto, uma concentração mais baixa não contradiz um auto-relato de abstinência durante o período correspondente que antecede a coleta da amostra.

A análise de FAEE sozinha não é recomendada para determinar a abstinência de álcool, mas pode ser utilizada em casos de suspeita de resultado falso negativo de EtG, utilizando um cut-off para FAEE de 0,2 ng/mg para um segmento proximal de 0-3 cm de cabelo do couro cabeludo.

7.3.2. Opiáceos

- Triagem: a concentração de 0,2 ng/mg para morfina ou 6-acetilmorfina já configura resultado presuntivo;
- Confirmação: o valor de corte recomendado é 0,2 ng/mg para cada composto.

O consumo de heroína deve ser diferenciado do uso de codeína ou de morfina pela presença de 6-acetilmorfina.

7.3.3. Cocaína

- Triagem: a concentração de 0,5 ng/mg para cocaína já configura resultado presuntivo;
- Confirmação: o valor de corte recomendado é $\leq 0,5$ ng/mg de cocaína e $\leq 0,05$ ng/mg para outros compostos.

A análise cromatográfica deve incluir cocaína e, pelo menos, um dos seguintes compostos: benzoilecgonina, cocaetileno ou norcocaina

Obs: Para diferenciar o uso de cocaína fumada das outras formas deve-se analisar o metabólito anidro ecgonina metil ester (AEME).

7.3.4. Anfetamínicos

- Triagem: a concentração de 0,2 ng/mg para cada substância separadamente já configura resultado presuntivo - anfetamina, metanfetamina, MDMA, MDEA ou MDA;
- Confirmação: o valor de corte recomendado é $\leq 0,2$ ng/mg para cada composto.

Nota: Os laboratórios devem estar cientes da possibilidade de ingestão de substâncias psicoativas legais que produzem resultados positivos na triagem para a metanfetamina (por exemplo, selegilina via metabolismo) e anfetaminas (ex. dexanfetamina, lisdexanfetamina).

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

7.3.5. Canabinoides

- Triagem: a concentração de 0,1 ng/mg para THC já configura resultado presuntivo;
- Confirmação: o valor de corte recomendado é $\leq 0,05$ ng/mg para THC e $\leq 0,2$ pg/mg para THC-COOH.

THC pode estar presente na amostra devido à exposição passiva ao fumo de Cannabis e, portanto, a confirmação de THC-COOH é obrigatória para provar definitivamente o uso de canabinoides.

7.3.6. Benzodiazepínicos

- Triagem: a concentração de 0,05 ng/mg para benzodiazepínicos configura resultado presuntivo;
- Confirmação: o valor de corte recomendado é $\leq 0,05$ ng/mg para cada composto.

7.3.7. Novas substâncias psicoativas

Algumas substâncias causam sérios desafios aos laboratórios, como são os casos de cetamina e outras novas substâncias psicoativas (NSP) e hoje em dia, a maioria das análises de rotina não incluem procedimentos de triagem para estes compostos. Além disso, os níveis de corte ainda não foram propostos. No entanto, deve-se considerar esta investigação quando o laboratório está oferecendo testes de triagem e de confirmação para NSP.

Em caso de resultados positivos, a interpretação deve ser realizada por um cientista experiente.

7.4. EMISSÃO DE RESULTADOS

Antes de relatar os resultados, o laboratório deve assegurar que foram cumpridos os critérios de qualidade para os testes de triagem (quando feitos) e de confirmação. Para isso, o resultado deve ser avaliado por duas pessoas qualificadas, como o analista de laboratório e o supervisor de resultados que revisa todos os dados e as ações documentadas no sistema de informação laboratorial.

Os critérios mínimos de qualidade são:

- Os controles da qualidade internos, que acompanham as análises no dia a dia (tanto para testes de triagem quanto para ensaios de confirmação) devem atender aos critérios de aceitação pré-estabelecidos;
- Critérios de identidade cromatográficos e espectrais aceitos internacionalmente devem ser cumpridos.

O relatório do ensaio deve contemplar, no mínimo, as seguintes informações:

- Identificação codificada do doador;
- Data da coleta da amostra;
- Data de recebimento da amostra no laboratório;
- Endereço e/ou e-mail/fax do médico do trabalho ou do médico que solicitou o teste, se for o caso;
- Caracterização da amostra de cabelo:
 - Tipo de cabelo (couro cabeludo ou pelo pubiano, axilar, barba, peito, braço ou perna)
 - Comprimento original do segmento de cabelo

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

- Comprimento do segmento de cabelo analisado
- Cor do cabelo
- Tratamento cosmético
- Tipos de análises realizadas (triagem e/ou confirmação)
- Método analítico utilizado
- Lista de substâncias psicoativas, produtos de biotransformação ou marcadores de álcool analisados e respectivas concentrações detectadas
- Valores de corte (cut-offs) utilizados
- Interpretação do resultado:
 - Decisão sobre resultado positivo ou negativo
 - Declaração sobre o período de tempo (mínimo e máximo) representado pelo comprimento do cabelo ou do segmento analisado
- Nome da pessoa que está autorizada para assinar o relatório da análise.

8. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE ENSAIO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM CABELO

8.1. CONTAMINAÇÃO PASSIVA

Para a exclusão de contaminação passiva são recomendados os seguintes critérios:

- Identificação dos seguintes produtos de biotransformação:
 - Benzoilecgonina ou cocaetileno para a confirmação de consumo de cocaína
 - 6-acetilmorfina e morfina para a confirmação de consumo de heroína
 - Carboxi-THC para a confirmação de consumo de Cannabis
 - MDA para a confirmação do consumo de Ecstasy (MDMA)
 - Norcetamina para a confirmação do consumo de cetamina
- Índices da relação biotransformado/inalterado que devem ser seguidos:
 - Cocaína: benzoilecgonina/cocaína > 0,05. Controles da hidrólise e análise do resíduo de lavagem são empregados no auxílio na interpretação dos resultados.

8.2. EFEITOS DO TRATAMENTO COSMÉTICO

Produtos químicos fortes, bem como influência física e mecânica podem causar efeitos nocivos sobre a cutícula do cabelo: permanente, alisamento, tingimento, descoloração, lavagem excessiva, iluminação intensa com radiação ultravioleta, exposição excessiva ao sol.

Descoloração, clareamento ou luzes envolvem a destruição irreversível de melanina por oxidação e pode ocorrer uma degradação parcial ou mesmo total da melanina. Quando é usada oxigenação intensa para descolorir o cabelo, as propriedades físicas dos fios serão alteradas (por exemplo, aumento na porosidade do fio). Sendo assim, tratamento cosmético como descoloração, tingimento e permanente devem ser considerados ao interpretar um resultado analítico, uma vez que esses procedimentos podem reduzir a concentração da droga a níveis inferiores ao do limite de detecção e, portanto, causar resultados falso-negativos.

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

9. CONTRAPROVA

Quando houver Amostra B o procedimento da contraprova deve ser o seguinte:

- a. A contraprova será realizada segundo leis nacionais ou constituição federal e práticas internacionais
- b. O pedido de contraprova deve ser feito por escrito (carta ou e-mail) pelo doador ou pelo responsável pela Amostra A que foi originalmente analisada;
- c. A análise pode ser feita no mesmo laboratório inicialmente utilizado ou em outro laboratório com acreditação equivalente e com métodos que possuam limites de detecção menor ou igual aos do laboratório que executou a primeira análise (Amostra A). Neste caso a amostra B deve ser enviada ao outro laboratório através de transportadora. Uma cópia da cadeia de custódia original deve acompanhar a amostra;
- d. A análise deve ser acompanhada por cadeia de custódia que garanta a rastreabilidade da amostra dos resultados;
- e. É facultativo ao investigado acompanhar e/ou seu representante legal e/ou um auxiliar técnico na realização da análise;

TODOS OS DADOS DO PRIMEIRO TESTE NA AMOSTRA A E DA CONTRAPROVA DA AMOSTRA B DEVEM SER GUARDADOS ADEQUADAMENTE E, SEMPRE QUE NECESSÁRIO, DISPONIBILIZADOS PARA A COMPARAÇÃO COM OS RESULTADOS OBTIDOS.

10. REFERÊNCIAS

European Workplace Drug Testing Society (EWDTS). Guidelines 2010 e 2014:
<http://www.ewdts.org/ewdts-guidelines.html>

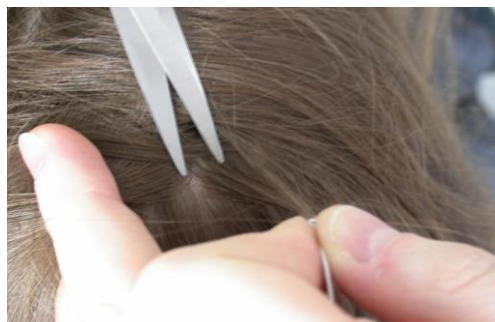
SOHT, (2004). Recommendations for Hair Testing in Forensic Cases:
http://www.soht.org/pdf/Consensus_on_Hair_Analysis.pdf

Consensus on Alcohol Markers (Revision 2014):
<http://www.soht.org/index.php/consensus>

Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise

11. APÊNDICE: EXEMPLO DE COLETA DE CABELO

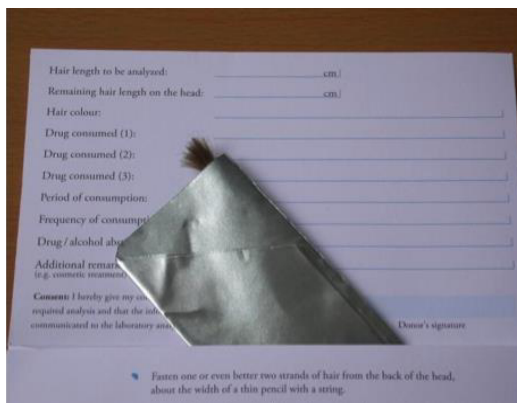
Fotos da European Workplace Drug Testing Society (EWDTS)¹



Cortar uma mecha de cabelo de aproximadamente da largura de um lápis fino (ou vários cachos de cabelo) da parte de trás da cabeça. Cortar o cabelo um pouco acima da pele, ou seja, o mais próximo possível do couro cabeludo.



A mecha de cabelo é colocada em folha de alumínio com a extremidade da raiz exposta, conforme indicado.



Hair length to be analysed: _____ cm.)
Remaining hair length on the head: _____ cm.)
Hair colour: _____
Drug consumed (1): _____
Drug consumed (2): _____
Drug consumed (3): _____
Period of consumption: _____
Frequency of consumption: _____
Drug / alcohol abuse: _____
Additional remarks (e.g. cosmetic treatment): _____
Consent: I hereby give my consent for the required analysis and that the information is communicated to the laboratory and the doctor.
Donor's signature: _____
Fasten one or even better two strands of hair from the back of the head, about the width of a thin pencil with a string.



Request for hair analysis
Collector Name & Tel.: Smith, John
Donor Code or Surname: _____
First name: _____ DOB: _____
Date of collection: _____
Hair collected by: _____
Test's requested: Amphetamines Cannab.
 Opiates Ethyl p.
Other drugs: _____

Inserir o papel alumínio dentro do envelope fornecido. Selar o envelope e preencher com os dados do doador e do teste solicitado. O doador deve assinar a declaração.