

Exame toxicológico de larga janela de detecção¹

A tecnologia de exames toxicológicos em amostras de cabelo – também chamada de “exames toxicológicos de larga janela de detecção” foi originalmente pesquisada pela Marinha de Guerra Americana – US NAVY – que buscava uma alternativa mais aos exames de urina utilizados em seus programas de controle do consumo de Álcool e Drogas e prevenção de acidentes.

Em 1988 foi lançado comercialmente nosso único serviço – e o mantemos único até hoje por uma questão de foco – o RIAH, que é um exame de detecção de consumo de drogas de larga janela de detecção e alta sensibilidade.

O exame toxicológico de larga janela de detecção é obrigatório para renovação, emissão e alteração de categorias de CNHs C, D ou E e para motoristas de empresas nas contratação e desligamento destes profissionais em regime de CLT das mesmas categorias de CNHs.

Características RIAH

Ampla gama de drogas pesquisadas.

O RIAH atualmente detecta 12 drogas, entre elas:

- Cocaína e derivados;
- Maconha e derivados;
- Anfetaminas (diferenciamos o consumo terapêutico do abusivo);
- Metanfetaminas;
- Ecstasy (MDMA, MDA e MDE);
- Heroína;
- Morfina;
- Codeína;
- Oxicodeine;
- Anfepramona (exclusivo para DENATRAN e Ministério do Trabalho);
- Mazindol (exclusivo para DENATRAN e Ministério do Trabalho);
- Femproporex (exclusivo para DENATRAN e Ministério do Trabalho);

¹ Publicado pelo site Toxicologia Pardini Forense e Ocupacional, ano 2020. Disponível em: <<https://www.toxicologiapardini.com.br/exame-toxicologico/larga-janela-de-deteccao/>> Acesso em 8.2.2021.

Novas substâncias são adicionadas à lista sem custos extras com o objetivo de mantermos o RIAH atualizado.

Avaliação da quantidade da droga consumida

Nossos laudos toxicológicos positivos apresentam uma avaliação estatística que leva em conta vários fatores com o objetivo de classificar o padrão de consumo, de levíssimo a pesadíssimo. É importante entender que trata-se de uma avaliação estatística que não deve ser levada em consideração isoladamente.

Perfeita cadeia de custódia e laudos com validade jurídica

O kit de coleta para o exame toxicológico RIAH apresenta uma série de lacres e documentos de apoio especialmente desenvolvidos para atender a legislação brasileira; Além disso todos os passos de cada um dos exames RIAH que processamos são registrados, assinados e microfilmados e armazenados por 10 anos, possibilitando um levantamento a qualquer momento de qualquer exame. Nossos laudos, quando realizados dentro dos padrões de cadeia de custódia, são emitidos com validade jurídica, o que é importante em certas aplicações, como por exemplo em processos admissionais ou nas aplicações previstas na Lei 13.013 – a “Lei dos Caminhoneiros”.

Coletas simples e sem constrangimentos

Cabelos ou pelos podem ser colhidos facilmente, fora de um ambiente laboratorial. Além disso podem ser testemunhadas – para exames com cadeia de custódia – sem constrangimento.

Facilidades logísticas

A queratina não é perecível ou contaminante como a urina ou o sangue; Na prática isso é muito vantajoso uma vez que amostras de cabelos podem ser armazenadas sem refrigeração e despachadas por correios ou Sedex sem problemas ou riscos; Ideal para empresas que possuem várias unidades geograficamente espalhadas.

Possibilidade de confirmações a qualquer tempo

Uma das características únicas dos exames toxicológicos baseados em amostras de cabelo é que eles podem ser facilmente estocados para confirmações posteriores em casos de contestação dos resultados. Os exames RIAH tem parte das amostras armazenados por 5 anos.

Laudos a prova de falsificação

Nossos laudos são impressos em papel de segurança da casa da moeda, com selos holográficos e com assinatura eletrônica para autenticação via internet.

Bases científicas

Quando um indivíduo utiliza alguma droga, esta droga e seus metabólitos entram em sua corrente sanguínea e alimentam os bulbos capilares que produzem continuamente cabelos e pelos. Ocorre que uma pequena parte dessa droga e mais tarde de seus metabólitos são depositados em quantidades proporcionais as consumidas, na estrutura do cabelo ou pelo que está sendo formada naquele momento. Essas quantidades são muito pequenas, mas através de técnicas especiais podem ser detectados e quantificados com extrema precisão e segurança.

Nem todos exames de cabelo são iguais.

Existem exames de drogas baseados em cabelos que, realizados sem o rigor científico necessários, são ineficazes e passíveis de contestações. Isso não se aplica ao RIAH. Nós possuímos todas as aprovações possíveis dos principais institutos científicos do mundo, entre eles o FDA, ANAC, CAP-FDT e ISO 17025 forense.

Tecnologia empregada, passo a passo

Coleta e cadeia de custódia

Coleta fácil e rápida, sob rigoroso processo de cadeia de custódia que inclui testemunhas (opcionalmente impressão digital e fotos digitalizadas dos doadores). Todas as amostras são acondicionadas em embalagens especiais invioláveis; Nós disponibilizamos vídeos de treinamento completo para nossos clientes.

Classificação e marcação eletrônica

Todas as amostras são submetidas a procedimentos de identificação eletrônica para impossibilitar a troca de exames, toda a trilha de auditoria permanece disponível por 10 anos.

Extensa descontaminação externa

Em uma recente pesquisa americana foram contaminadas externamente diversas amostras de cabelo e encaminhadas para laboratórios que fazem exames de drogas em cabelo;

Somente a Toxicologia Pardini foi capaz de apontar corretamente as amostras contaminadas indevidamente; Isso é resultado de um perfeito sistema de descontaminação externa, exclusivo de nossa empresa.

Liquefação enzimática das amostras de queratina com o uso de marcadores específicos para cada metabólito

Técnica patenteada mundialmente pela **Toxicologia Pardini**, a liquefação enzimática aumenta a sensibilidade de nosso exame toxicológico em até 10x quando comparado com outros exames de larga janela que empregam solventes para tentar separar os metabólitos da estrutura de queratina.

Análise

Depois da preparação das amostras elas são submetidas a um processo inicial de análise por imunoensaio desenvolvido e fabricado pela **Toxicologia Pardini** (RIA), as amostras presumidamente positivas são confirmadas e quantificadas utilizando-se então espectrometria de massa gasosa – CG/MS/MS a mais avançada técnica de contraprova.

Classificação estatística da gravidade do consumo de drogas

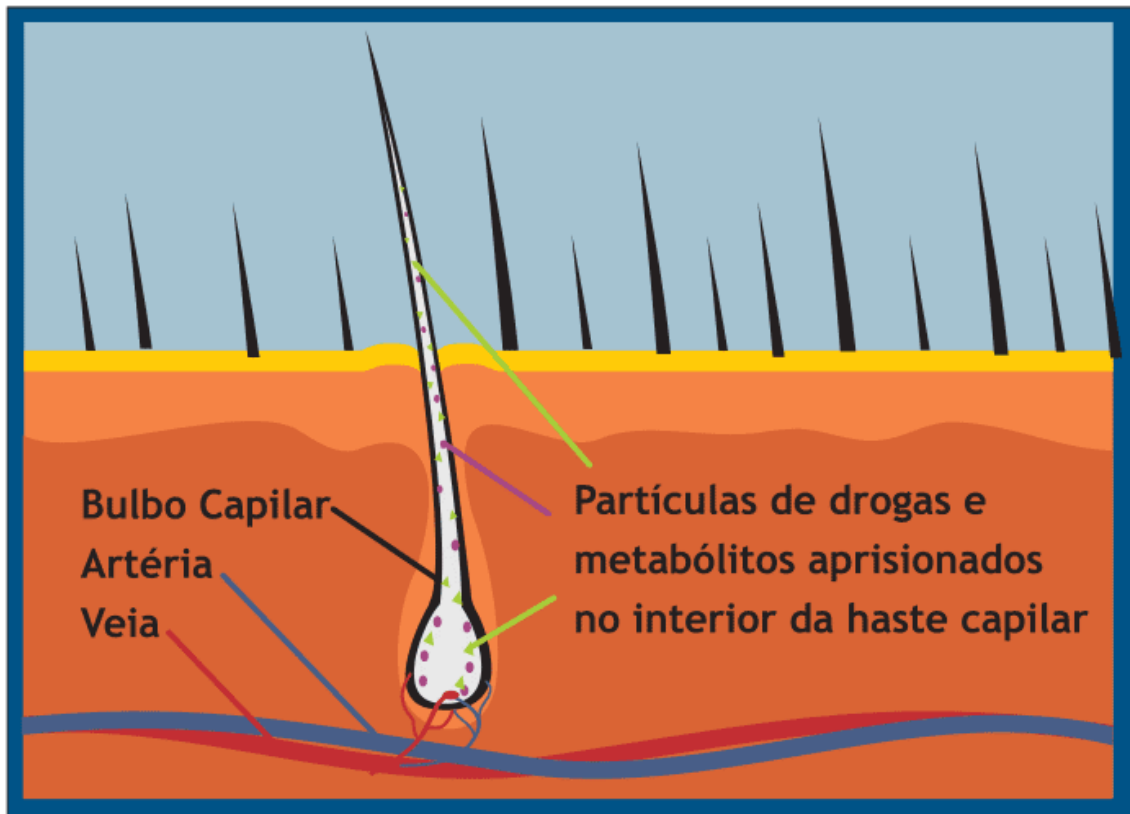
Graças a separação da melanina em associação a outros fatores da amostra, podemos, estatisticamente, classificar o doador usuário em 5 categorias diferentes, de levíssimo a gravíssimo; Essa classificação pode ajudar o correto encaminhamento clínico.

Laudos

Nossos laudos toxicológicos são emitidos com documentação completa, em papel de segurança, com selo holográfico, impressão digital do doador e autenticação eletrônica em duas vias (uma para a contratante e outra para o doador); Opcionalmente com fotos digitalizadas do doador.

Pedidos de reanálise

Armazenamos uma parte de todas as amostras positivas, sob cadeia de custódia junto com a documentação da trilha de auditoria por 5 anos. Podemos, sem custos adicionais, comprovar – com geração de laudo específico – a fidelidade da fonte doadora original com novas amostras.



Corte do bulbo capilar

Todas as análises capilares são realizadas em nosso laboratório central localizado em Culver City, Califórnia, EUA, próximo ao Aeroporto Internacional de Los Angeles. A área total construída da estrutura térrea é de 2.136,7 m², que foram divididos em três principais áreas funcionais: espaço de 836,1 m² para o laboratório de análises, 400 m² para a administração e 836,1 m² de área para armazenamento de registro e inventário. Este espaço é devotado unicamente para a análise de amostras de cabelos, exceto por uma pequena área de várias dezenas de metros quadrados reservada para testes de urina.

A Toxicologia Pardini está em fase de estudos para implementação de um laboratório classe mundial no Brasil em 2016

Em relação à equipe organizacional, existem quatro principais unidades supervisoras sob o controle do diretor de laboratório e do diretor substituto de laboratório:

- Acessamento;
- Laboratório de Radioimunoanálise;
- Extrações;
- Espectrometria de Massa, e Cientistas Certificadores.

Existem duas funções de equipe: Diretor da Garantia da Qualidade (GQ), e Armazenamento de Registros e Amostras. O Diretor de Laboratório tem o apoio adicional de equipe do Diretor Científico e do Diretor Médico. A automação é um elemento fundamental das operações do laboratório. Atualmente a Equipe de Acesso tem capacidade de operar 17 estações para pesagem de amostras usando balanças Sartorius ligadas diretamente ao banco de dados do computador para registrar pesos e números de amostras, isto é, capacidade para processar 5000 amostras dentro de 6 horas usando escaneamento de código de barras para verificação. No Laboratório de Imunoanálise (IA), 12 estações de pipeteamento MultiProbe são usadas para subdividir automaticamente cada digesto capilar em cinco porções iguais para os cinco painéis primários de filtragem de drogas. A contagem radioativa é realizada por seis Contadores Packard modelo Cobra, também ligados ao banco de dados do computador principal.

A Seção de Extração tem uma equipe de químicos em tempo integral, capazes de extrair positivos presumíveis derivados de uma carga de trabalho diário recebida estimada em 10.000 amostras. Na espectrometria de massa, para confirmação estrutural de resultados IA, são usados dezenas de Espectrômetros de Massa marca Finnigan Tandem para confirmar a presença de carboxi-THC, o metabólito humano da Maconha. Para a análise dos quatro outros grupos de substâncias, são empregados dezenas de Espectrômetros de Massa com Sifão de Íons marca Finnigan Tandem, e um espectrômetro de massa com Sifão de Íons marca Varian. Mais recentemente, a Toxicologia Pardini introduziu a mais recente tecnologia ultra-sensível de 4 espectrômetros de massa de cromatografia líquida marca PE Biosystems para detecção melhorada de cocaína e de seus metabólitos. Esse conjunto de espectrômetros de massa para confirmação representa um importante investimento de capital de quase 8 milhões de dólares.

Para armazenamento de registros e de amostras, a Toxicologia Pardini dedicou cerca de 836 metros quadrados administrados por um Administrador de Amostras. Esta instalação permite a guarda de registros vitais de todas as amostras positivas dentro do laboratório por um período de 5 (cinco) anos e de 01 (um) mês para amostras negativas.

Embora somente os principais itens de equipamento tenham sido tratados acima, o laboratório possui considerável estoque de equipamentos computadorizados de apoio e os terminais ligados diretamente ao banco de dados mestre são consideráveis. O fluxo e o rastreamento das amostras são monitorados por um sistema de banco de dados especialmente configurado desenvolvido na Toxicologia Pardini que auxilia o relatório de amostras ao cliente.

Os Sistemas Informatizados da Toxicologia Pardini utilizam tecnologias de rede locais e de área ampla para integrar mais de 150 computadores, impressoras, impressoras térmicas de transferência de códigos de barra, scanners e decodificadores laser de códigos de barra.

O servidor de rede e os sistemas operacionais da estação de trabalho incluem o Novell Netware, SQL Server, Microsoft NT, e Microsoft Windows. Os programas aplicativos compõem-se de aplicativos comerciais direto de lojas tais como o Microsoft Office, bem como de aplicativos de banco de dados configurados sob encomenda.

Todos os Formulários de Solicitação de Teste, Amostras, e relatórios recebem códigos de barra identificadores específicos. As identidades nos códigos de barra são escaneadas à medida que uma amostra e seus registros são encaminhados através dos processos de acessamento e de teste. Isto assegura que os técnicos de laboratório não tenham qualquer visibilidade para dar informação de qualquer tipo durante os testes, e assegura que os resultados dos testes sejam corretamente ligados ao doador e ao registro do cliente ao final do processo.

No laboratório, a análise capilar em busca de narcóticos envolve uma abordagem em três partes:

(A) Filtro Primário com Imunoanálise (IA) para Identificação de Positivos Presumíveis. Uma amostra de 10-11 mg do cabelo do objeto do teste é pesada, colocada em um tubo de ensaio etiquetado com código de barras com o Número de Acessamento Laboratorial específico da amostra (ALE) e em seguida digerida e liquefeita. A vantagem do procedimento de digestão empregado é que todos os analitos de drogas são removidos da matriz de proteína dissolvida com basicamente 100% de eficácia (como comparação, alguns laboratórios podem simplesmente aspirar as drogas das camadas superficiais de cabelo com solvente).

O líquido resultante é dividido em cinco porções iguais distribuídas em 5 tubos de ensaio. As cinco porções são em seguida analisadas por Imunoanálise, cada uma para um grupo separado de substâncias, a saber Cocaína, Opiatos, Anfetaminas, PCP e Maconha (para exames toxicológicos objetivando a Lei 13.103 há três tubos adicionais para os anfetamínicos anfepramona, mazindol e femproporex).

As amostras presumivelmente positivas resultantes são então identificadas para teste analítico adicional. As amostras negativas são reportadas imediatamente ao cliente. Para análises sob condições de produção de massa e com populações contendo uma preponderância de amostras negativas, é vantajoso identificar amostras presumivelmente positivas através de um filtro preliminar de Radioimunoanálise.

Como com qualquer teste de drogas, os usuários de drogas tentaram aplicar uma variedade de manobras para evitar a detecção. No caso do cabelo, isto envolveu esforços para retirar dos cabelos as drogas procuradas, usando métodos tais como a lavagem extensa com xampus especiais, bem como através de permanentes, tingimento ou clareamento dos cabelos. Até o momento, esses tratamentos mostraram-se ineficazes, já que tais manobras evasivas não conseguem remover completamente as drogas derivadas do sangue que ficaram presas no domínio inacessível. Deve ser observado que esta conclusão pode não ser válida para métodos que usam métodos menos eficientes de extração baseados em solvente em lugar de procedimentos de dissolução de cabelos.

(B) Reanálise da Segunda Amostra por meio de Imunoanálise (IA) após Lavagem das amostras de queratina. Uma vez que não se pode supor que as práticas normais de higiene dos pacientes tenham frequência ou eficácia suficiente para remoção de drogas depositadas externamente, os espécimes de cabelo são submetidos a procedimentos de descontaminação no laboratório antes da extração e análise das drogas. Uma outra porção da amostra de cabelo originalmente coletada, cerca de 15 mg, é então extensivamente lavada para remover contaminação externa. Os procedimentos de lavagem incluem uma lavagem inicial com um solvente não avolumador de cabelos, o isopropanol seco, para remover resíduos oleaginosos ou de drogas depositados na superfície do cabelo seguida por lavagens tampão de fosfato de 3 a 30 minutos no mínimo a temperatura de 37 °C. O propósito das lavagens tampão de fosfato é permitir que a estrutura do cabelo inche para liberar para a solução de lavagem qualquer droga que possa ter entrado na estrutura capilar a partir da superfície, como por exemplo, através do suor.

A eficácia dos procedimentos de lavagem é monitorada por diversos parâmetros cinéticos envolvendo a medição das drogas nas lavagens e aquelas presentes no digesto final dos cabelos. Se a análise cinética indicar que a lavagem dos cabelos ficou abaixo do nível ótimo, é obtido um novo espécime, que será submetido a duas lavagens tampão de fosfato adicionais com duração de 60 minutos.

A amostra de cabelo é então digerida ou liquefeita e a solução resultante é centrifugada para concentrar o componente de cor do cabelo, a melanina, no fundo do tubo de ensaio. Esta fração de melanina, removida do digesto capilar por meio de centrifugação antes da análise, invalida qualquer possível tendência devido à alegação de efeitos da cor de cabelo ou da melanina independente da veracidade da alegação. A amostra digerida é novamente

analisada através da IA e positivos presumíveis são subseqüentemente confirmados por espectrometria de massa.

Já foi sugerido por vários pesquisadores que o cabelo pode tornar-se contaminado por drogas presentes no ambiente, tornando impossível distinguir usuários de não usuários. Essas alegações foram refutadas por numerosos estudos cegos em campo, incluindo estudos em policiais realizados pelo Dr. Mieczkowski, da Universidade do Sul da Flórida. Neste último estudo, agentes disfarçados da divisão de narcóticos foram monitorados através de análises capilares em busca de evidências de contaminação passiva. Estes agentes foram pesada e freqüentemente expostos a cocaína, entretanto, esta contaminação foi facilmente removida com testes da Toxicologia Pardini e nenhuma quantidade significativa foi encontrada nos digestos capilares após a lavagem. Estes resultados atestam quanto à resistência do cabelo à contaminação e quanto à eficácia dos procedimentos de lavagem com isopropanol e com tampão de fosfato para remoção de contaminação externa. A medição dos metabólitos no domínio inacessível do cabelo, isto é, as regiões no cabelo as quais os contaminantes ambientais não têm acesso, fornece uma medida adicional de segurança contra falsos positivos devido à contaminação externa. Esta conclusão, entretanto, não se aplica a métodos que não usam procedimentos agressivos de lavagem para remoção de drogas ou métodos diferentes da completa dissolução que liberam completamente as drogas da amostra.

(C) Confirmação Estrutural via Espectrometria de Massa. A carga de confirmação para várias substâncias narcóticas detectadas no cabelo pela Radioimunoanálise no cabelo (tais como anfetamina, metanfetamina, cocaína e benzoilecgonina, cocaetileno, codeína, morfina, 6-acetilmorfina e 11-nor-9-carboxi-9-tetrahydrocannabinol) foi apoiada na espectrometria de massa devido a suas intensidades na reprodutibilidade, repetibilidade, especificidade, e limite de detecção. Tendências atuais indicaram que esta confiança aumentada baseia-se na capacidade para prover detecção, confirmação e quantificação em uma única análise. A Toxicologia Pardini utiliza GC/MS, bem como quadripolo de estágio triplo GC/MS/MS e LC/MS/MS de última geração.

Adulteração de testes

Questões atuais em torno de adulteração/diluição de testes são questões quase que exclusivamente referentes a testes de urina. Uma das mais evidentes vantagens do teste capilar, além de uma janela de detecção muito mais ampla, é que os empregadores não têm que se preocupar com questões como adulteração/diluição. O teste capilar simplifica o processo de

coleta, reduz a carga de custos adicionais causada pelo tempo extra necessário para coleta (necessidade de sala privada para coleta, segurança da sala), possibilidade de adulterantes serem adicionados, despesa adicional de laboratório para testes em busca de adulterantes, etc.

O teste da Toxicologia Pardini não pode ser burlado como no caso da análise de urina, onde os usuários de drogas podem trocar por amostras limpas, falsificar espécimes ou simplesmente absterem-se por três dias e passar no teste.