

MATEUS FERNANDES DA SILVA SANTOS

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS, Santos,
SP, Brasil.*

EDGAR MATIAS BACH HI

<http://orcid.org/0000-0002-8795-9534> 
*Centro Universitário Lusíada, UNILUS, Santos,
SP, Brasil.*

Recebido em janeiro de 2025.

Aprovado em julho de 2025.

A CIÊNCIA POR TRÁS DA DETECÇÃO DE DROGAS ILÍCITAS EM FIO DE CABELO

RESUMO

Acidentes envolvendo caminhões são frequentes nas estradas brasileiras. Estes eventos estão relacionados a utilização de psicoativos por caminhoneiros. A legislação N° 13.103 aborda a detecção de drogas psicoestimulantes em cabelo ou pêlos corporais através do exame toxicológico. A obrigatoriedade deste teste implica sobre motoristas das categorias C, D ou E da CNH. O objetivo do trabalho foi apresentar os procedimentos que são utilizados para a detecção de drogas ilícitas utilizadas por motoristas profissionais. Foi realizado um levantamento bibliográfico com base nos descritores: cabelo, drogas ilícitas, cromatografia e espectrometria de massas. Assim observa-se que os métodos de cromatografia são ferramentas poderosas para o controle e fiscalização do uso de drogas psicoestimulantes.

Palavras-Chave: cabelo; exame toxicológico; caminhoneiros; drogas ilícitas; métodos cromatográficos; lc-ms; gc-ms.

THE SCIENCE BEHIND THE DETECTION OF ILLICIT DRUGS IN HAIR STRANDS

ABSTRACT

Accidents involving trucks are frequent on Brazilian roads. These events are related to the use of psychoactive drugs by truck drivers. Legislation No. 13.103 addresses the detection of psycho-stimulant drugs in hair or body hair through the toxicology test. This test is mandatory for drivers in categories C, D or E of the CNH. This study aimed to present the procedures used to detect illicit drugs used by professional drivers. A bibliographic survey was carried out using the descriptors: hair, illicit drugs, chromatography and mass spectrometry. It was observed that chromatography methods are powerful tools for controlling and monitoring the use of psychostimulant drugs.

Keywords: hair; toxicology; truck drivers; illicit drugs; chromatographic methods; lc-ms; gc-ms.



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial (CC BY-NC). Essa licença permite que reusuários distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do material em qualquer meio ou formato, exclusivamente para fins não comerciais, e desde que seja atribuída a devida autoria ao criador original.

INTRODUÇÃO

No Brasil, acidentes com caminhões são o segundo tipo mais frequente de ocorrências de trânsito (OLIVEIRA; ALMEIDA; BARROSO; GOUVEA et al., 2016). Em 2014, registraram-se cerca de 44 mil mortes, sendo o uso de psicoativos por motoristas um dos principais fatores (SINAGAWA, 2015). Os caminhoneiros têm uma carga horária de trabalho alta o que leva muitos ao uso de anfetaminas sintéticas (MDMA, MDA, MDEA, MBDB), cocaína e maconha (PANIZZA, 2020; OLIVEIRA; ALMEIDA; BARROSO; GOUVEA et al., 2016).

Devido a esses índices, a Lei nº 13.103/2015 e a Resolução nº 691/2017 do CONTRAN tornaram obrigatório o exame toxicológico de larga janela para CNHs das categorias C, D e E da CNH, permitindo verificar o consumo de substâncias psicoativas nos últimos 90 dias por meio de cabelo ou pelos corporais (UNIÃO, 2017; REPÚBLICA, 2015).

Cabelo e pelos destacam-se em análises toxicológicas por sua coleta não invasiva, resistência a adulterações, ampla janela de detecção e estabilidade no armazenamento (DE LIMA; DA SILVA, 2007); (BULCÃO; GARCIA; LIMBERGER; BAIERLE et al., 2012). Essa matriz permite investigar o uso crônico, esporádico ou abstinência de drogas por períodos mais longos em comparação a urina, sangue ou saliva, que refletem consumo mais recente (Tabela 1) (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011).

Além disso, o perfil de consumo pode ser avaliado por níveis de analitos detectados em coletas periódicas do mesmo indivíduo, auxiliando na interpretação do hábito de consumo (TSANACLIS; WICKS; CHASIN, 2011).

Tabela 1 – Comparação entre matrizes mais utilizadas para análises toxicológicas.

Matriz	Adulteração	Janela de detecção	Concentração da droga	Estabilidade
Cabelo	Baixo risco	Longa (meses)	Variável	Alta
Urina	Alto risco	Pequena (dias)	Alta	Alta (congelada)
Sangue	Médio (contaminação)	Restrita (minutos/horas)	Variável	Baixa (coagulação)
Fluido Oral	Baixo risco	Restrita (minuto/horas)	Baixa recuperação	Baixa

Fonte: (LISBOA, 2016).

OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo principal reunir informações sobre os procedimentos que são utilizados para a detecção de drogas ilícitas utilizadas por motoristas profissionais. Secundariamente iremos abordar a coleta de amostras de cabelo, explicando sua estrutura, fases de crescimento e meios de incorporação de drogas nesta amostra. Toda a pesquisa foi apoiada na lei 13.103, que aborda o exame toxicológico de longa janela de duração.



METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa sobre o tema proposto. Priorizamos a descrição da detecção de substâncias ilícitas determinadas pelo CONTRAN. Para isto utilizamos artigos indexados nas bases Scielo, Medline, Google Acadêmico e Pubmed. Utilizamos na busca os descritores MeSH (Medical Subject Headings): Detecção de substância de abuso, cabelo, drogas ilícitas, cromatografia e espectrometria de massas.

Os artigos que foram incluídos no estudo foram selecionados a partir do ano de publicação de 2014 e relacionados a temática proposta. Foram excluídos artigos que abordam a detecção de drogas ilícitas em matrizes biológicas diferentes do cabelo, bem como artigos publicados em idiomas distintos do português e inglês.

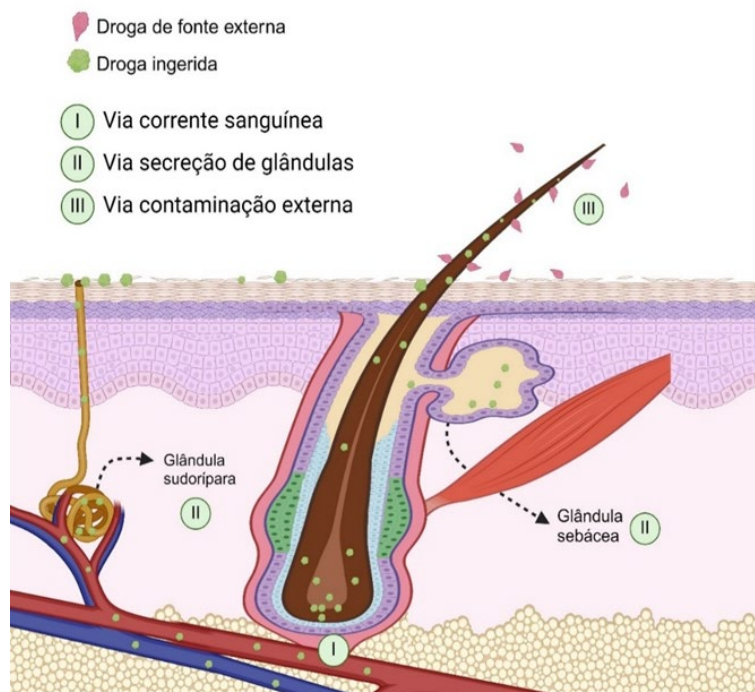
Algumas imagens utilizadas neste trabalho foram captadas na Central Analítica da LABET Exames Toxicológicos (Santana de Parnaíba, SP), com autorização da (Diretora de Operações) Dra. Karen Norato.

INCORPORAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS NO FIO DE CABELO

Os fios têm diferentes afinidades e mecanismos de fusão com drogas, sendo influenciados por fatores como pKa, lipofilidade, ligação a proteínas e afinidade à melanina (KINTZ; SALOMONE et al., 2015). Pesquisas mostram correlação entre a dose ingerida e a distribuição nos fios, mas outros estudos defendem que não há relação direta entre dose e distribuição ao longo do tempo de exposição (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006).

De forma geral, os estudos na área mostram que há pelo menos três mecanismos principais de incorporação das drogas ao cabelo: pelo suprimento sanguíneo direto da papila dérmica durante o crescimento capilar; através da excreção contínua de suor e sebo das glândulas; exposição passiva do cabelo às drogas em contaminações externas (Figura 1) (BARROSO; GALLARDO et al., 2011).

Figura 1: Rotas de incorporação de substâncias na haste capilar por difusão. (I) - incorporação via suprimento sanguíneo direto da papila dérmica durante o crescimento capilar; (II) - incorporação através da excreção contínua de suor e sebo das respectivas glândulas; (III) - incorporação via exposição passiva do cabelo às drogas em contaminações externas.



Fonte: Adaptado de KINTZ, 2015.

Incorporação via corrente sanguínea

Nesta via, as drogas chegam aos capilares do folículo piloso, atravessando a membrana celular por difusão passiva e penetrando nas células da matriz em crescimento. A taxa de transporte depende da solubilidade lipídica da droga e do gradiente de pH entre a célula e o plasma. O pH dos melanócitos/queratinócitos varia entre 3 e 5, enquanto o plasma é em torno de 7, o que favorece a afinidade por drogas básicas em relação às ácidas (BALÍKOVÁ, 2005). Isso explica por que algumas drogas ou certos metabólitos são detectados apenas em concentrações mínimas, como é o caso do metabólito ácido carboxílico do delta-9-tetraidrocanabinol (THC). Uma vez no interior da célula, as moléculas das drogas passam por um processo de ionização, o que impede sua difusão de volta para o plasma sanguíneo (BARROSO; GALLARDO et al., 2011).

Incorporação via secreção de glândulas sebáceas e sudoríparas

As secreções (sebo e suor) podem carregar as substâncias e metabólitos presentes no plasma, incorporando à haste capilar através de difusão durante a sua formação. Esse efeito é possível devido aos poros contidos no cabelo que permitem a anexação de líquidos, facilitando o transporte de xenobióticos pela extensão do fio (GORDO, 2013).

Essa rota de incorporação é crucial para entender o perfil da droga. As concentrações sanguíneas, de suor e sebo devem ser correlacionadas com a excreção. Em casos de suor excessivo,



pode haver maior transferência de compostos para a matriz, resultando em concentrações mais altas de drogas ou metabolitos nas secreções do que no sangue (GORDO, 2013).

Incorporação via contaminação externa

Contaminações externas no cabelo podem gerar resultados falsamente positivos, ocorrendo por inalação passiva de drogas ou deposição na superfície dos fios de pessoas próximas a usuários de substâncias voláteis ou fumos (como cannabis, crack etc.). O contato das mãos que manusearam drogas também pode contaminar o cabelo (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006); (KINTZ; SALOMONE et al., 2015).

Estudos mostram que 60 minutos de exposição à fumaça de maconha podem gerar metabolitos detectáveis, como THC e CBN, por GC-MS. As concentrações dependem da concentração do ar e podem ser influenciadas por tratamentos capilares, cosméticos, porosidade e desgaste dos fios. (THORSPECKEN; SKOPP et al., 2004).

Além dos fatores influentes na incorporação das drogas, destaca-se o local de coleta do fio, podendo ter riscos de contaminação por urina e secreções das glândulas nos pelos pubianos e fragmentos de epiderme nos pelos da barba durante o barbear. (KINTZ; SALOMONE et al., 2015).

COLETA E ENVIO DA AMOSTRA

Laboratórios que realizam exames toxicológicos de larga janela de detecção devem seguir a diretriz da SBTOX (Sociedade Brasileira de Toxicologia) sobre coleta e análise de substâncias psicoativas em cabelos e pelos (UNIÃO, 2017).

Esta diretriz se baseia principalmente nas recomendações da Society of Hair Testing (SoHT) (UNIÃO, 2017). O exame toxicológico em cabelo segue processos rigorosos da cadeia de custódia, garantindo que a análise e o resultado sejam da amostra coletada, assegurando a integridade e autenticidade dos dados (KINTZ; SALOMONE et al., 2015).

Seguindo a cadeia de maneira correta, o laboratório deve prosseguir com os seguintes passos: coleta, identificação, acondicionamento; o correto armazenamento (da amostra a ser testada e da contraprova); transporte; recebimento e registro da amostra para os exames; manipulação da fase analítica; elaboração do laudo e/ou um relatório de análise. A cadeia de custódia é responsabilidade do responsável técnico do laboratório. (SBTOX, 2015).

O colaborador responsável pela coleta recebe um kit com instruções claras para a recolha do material (Figura 2), que inclui o formulário de cadeia de custódia (FCC) (Figura 3), folha de alumínio, envelope de coleta, selos de segurança, saco de evidências e envelope de transporte. Além disso, o profissional deve registrar a cor do cabelo, o local da coleta e qualquer tratamento cosmético visível (SBTOX, 2015).

Figura 2 – Modelo de instruções para coleta de cabelo cedido pelo laboratório ao responsável pela coleta.

INSTRUÇÃO PARA CABELO
Comprimento mínimo: 4cm

LADO DA RAIZ
+/- 7 mm

CABELOS LONGOS
Deixe 1 cm do lado da raiz para fora, no lado inclinado da folha de alumínio.

- 1- Dobre levemente a folha de alumínio.
- 2- Insira os cabelos na folha de alumínio (mínimo 120 fios) observando o lado da raiz.
- 3- Comprima a folha de alumínio fixando o cabelo.
- 4- Se o cabelo for comprido, enrole a sobra por fora da folha de alumínio.
- 5- Coloque a folha de alumínio dentro do envelope com a lado da raiz para a esquerda.
- 6- Feche o envelope, preencha o verso, etiquete e rubrique.

INSTRUÇÃO PARA PELOS

- 1- Utilize a folha de alumínio para auxiliar a coleta.
- 2- Insira os pelos no copo dosador no formato de uma bola de algodão.
- 3- Deposite os pelos do dosador na folha de alumínio.
- 4- Dobre, comprima e coloque a folha de alumínio dentro do envelope.
- 5- Feche o envelope, preencha o verso, etiquete e rubrique.

Em caso de dúvidas, entre em contato com a nossa Central de Atendimento ou acesse o site rede.labet.com.br

Utilize esta régua para auxiliar na medição do comprimento do cabelo

Fonte: Foto gentilmente cedida por LABET exames toxicológicos.

Figura 3 – Modelo de formulário de cadeia de custódia fornecido pelo laboratório ao responsável pela coleta.

FCC - FORMULÁRIO DA CADEIA DE CUSTÓDIA
para coleta de cabelos / pelos / unhas

LABET
EXAMES TOXICOLÓGICOS

ATENÇÃO: Ambos os envelopes devem conter a mesma fonte de um motorista. **Jamais misture fontes.**

FONTE

Apenas cabelo ☐ CABEÇA	Apenas pelo (permite coletar mais de uma região) ☐ PERNA ☐ TÓRAX ☐ PÚBLIS ☐ BRAÇO ☐ AXILA	Apenas ☐ UNHA
--	--	---

Este envelope somente deverá ser rubricado após estar devidamente lacrado.

CANDIDATO RUBRICA TESTEMUNHA RUBRICA COLETOR RUBRICA

Cole aqui a etiqueta com código de barras

Autorizo a inserção do resultado: CNH - Prontuário ☐ SIM ☐ NÃO Autorizo o envio para o empregador: CLT - Relatório Médico ☐ SIM ☐ NÃO

CANDIDATO NOME COMPLETO CPF DATA DA COLETA

Certifico que sou doador da amostra inserida neste envelope e presenciei seu fechamento e lacre.

ASSINATURA

TESTEMUNHA NOME COMPLETO CPF ASSINATURA

COLETOR NOME COMPLETO CPF ASSINATURA

Fonte: Foto gentilmente cedida por LABET exames toxicológicos.

O corte no cabelo é feito o mais próximo possível da região posterior do vértice da cabeça (Figura 4) (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012). Essa área do couro cabeludo é preferida por



apresentar menor variação na taxa de crescimento ativo, garantindo maior linearidade na fase anágena (KINTZ; SALOMONE et al., 2015).

Figura 4 – Região do corte de cabelo a ser analisado na região posterior do vértice do escalpo.



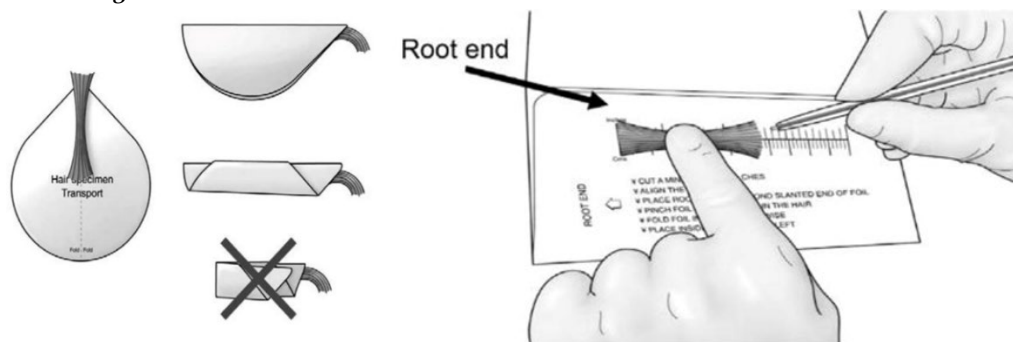
Fonte: Adaptado de Kintz, 2015.

Para análise, é considerada uma mecha do cabelo com a espessura de um lápis variando de 100-200 mg. A quantidade de cabelo deve ser suficiente para permitir o teste inicial, confirmação ou repetição do ensaio caso pertinente, podendo ser necessárias amostras A e B. Em caso de indisponibilidade de cabelo, outros pelos corporais (peito, braço coxas, pubianos e axilares por exemplo) são aceitos dependendo da empresa que realizar a coleta e do doador (SBTOX, 2015).

Após cortar a mecha, o coletor deve seguir as orientações do kit de coleta para armazenamento e identificação do material, evitando assim possíveis contaminações (LEBEAU; MONTGOMERY et al., 2011).

A porção de cabelo cortada deve ser alinhada em folha de alumínio com a raiz identificada e dobrada longitudinalmente para fixação da mecha (Figura 5) (KINTZ; SALOMONE et al., 2015). Posteriormente, a amostra é colocada em envelopes próprios, selados, assinados e datados. O envelope com a amostra e o FCC é armazenado em saco de evidências, mantido à temperatura ambiente, longe de luz, sol e umidade, e enviado ao laboratório para análise (SBTOX, 2015).

Figura 5 – Mecha do cabelo cortado alinhado com a raiz e identificado.



Fonte: Adaptado de Kintz, 2015.



De acordo com a SoHT, torna-se obrigatório que amostras úmidas sejam submetidas a processos de secagem antes de serem guardadas e analisadas (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012). Se feitos de maneira correta, esses procedimentos permitem uma melhor estabilização das substâncias e metabolitos contidos na amostra sendo assim possível a detecção destes analitos mesmo após seu armazenamento (GORDO, 2013).

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

O cabelo está sujeito a vários fatores externos de contaminação justamente por ser uma matriz biológica externa e estar exposta ao ambiente (KINTZ; SALOMONE et al., 2015). Sendo assim, antes de ser enviado para a análise, é necessário proceder com uma descontaminação deste material, a fim de evitar resultados falsos positivos em função da exposição ambiental passiva (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006). A preparação correta de descontaminação da amostra envolve uma série de etapas que incluem principalmente a lavagem, segmentação (opcional), extração e a obtenção de uma porção representativa do material disponível (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

Descontaminação ou lavagem do cabelo

A descontaminação baseia-se na premissa de que drogas transferidas por exposições passivas estão fracamente ligadas à superfície capilar, podendo ser removidas por lavagem adequada (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006); (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012). Contudo, é crucial identificar amostras com resíduos que ainda excedem o limite de detecção após a lavagem (CAIRNS; HILL et al., 2004).

Resíduos como produtos, sujeira e sebo podem prejudicar a análise, tornando a descontaminação um processo essencial (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012). A SoHT recomenda etapas de lavagem com solventes orgânicos e soluções aquosas (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012; SBTOX, 2015).

O solvente orgânico remove contaminantes superficiais sem afetar a estrutura do cabelo, enquanto soluções aquosas promovem a difusão de compostos para a solução de lavagem (KINTZ; SALOMONE et al., 2015). No geral, soluções de lavagem comuns incluem xampus, laurel sulfato de sódio (0,1%) e tampão fosfato, e solventes como acetona, metanol, éter dietílico, etanol e diclorometano (GORDO, 2013).

Além da lavagem, o laboratório deve incluir um protocolo de extração validado, com etapas de secagem, pulverização, corte ou desintegração química para homogeneizar a amostra (SBTOX, 2015).

Segmentação

A análise segmentar do cabelo é útil quando a concentração do analito varia ao longo dos fios devido a diferentes níveis de exposição e datas de uso da substância (BAYSAL; AKMAN, 2010).

Um comprimento de segmento utilizado é a porção proximal de 3 cm, no qual representa o crescimento do cabelo durante 3 meses. Contudo, dependendo do caso, diferentes estratégias de segmentação podem ser aplicadas (KINTZ; SALOMONE et al., 2015). Por exemplo, vários segmentos curtos do cabelo podem fornecer muito mais detalhes do perfil de exposição de um indivíduo ao



xenobiótico do que um único segmento, partindo do pressuposto que as concentrações de drogas no cabelo podem diminuir da raiz para a extremidade distal do fio (KINTZ; SALOMONE et al., 2015).

Por tanto, a análise segmentar é crucial para determinar a cronologia da ingestão repentina e substancial do analito durante o crescimento do fio (BAYSAL; AKMAN, 2010).

Homogeneidade da amostra

Diferente de outros fluidos corporais como urina e sangue, o cabelo é uma amostra sólida que necessita de uma homogeneização específica, considerando que a porção recolhida seja representativa para a análise (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012). Esta técnica reduz o tamanho da amostra, aumenta sua área superficial e melhora a recuperação de compostos na extração (GORDO, 2013).

Após lavagem e secagem, o cabelo deve ser cortado em pequenos pedaços ou triturado até virar pó (Figura 6). Cada amostra, entre 10-50 mg, é então pesada em balança de precisão (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

Figura 6 – Amostra de cabelo cortada em pequenos pedaços (pó).



Fonte: Foto gentilmente cedida por LABET exames toxicológicos.

Extração e incubação da amostra

Após a lavagem, as amostras de cabelo atingem um platô de concentração da droga, onde os componentes restantes representam somente a fração não solubilizada e inacessível do cabelo (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006). Portanto, esses procedimentos de extração/digestão visam recuperar os fármacos incorporados mais internamente na matriz (Figura 7) (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006).



Figura 7 – Incubação das amostras na fase de digestão.



Fonte: Foto gentilmente cedida por LABET exames toxicológicos.

O processo de extração deve solubilizar a droga ao modo que suas propriedades e metabolitos permaneçam intactos (sem perda ou alteração) (USMAN; NASEER et al., 2019). Esse cuidado é essencial para drogas quimicamente instáveis, como a cocaína, que pode ser convertida em benzoilecgonina sob condições de extração alcalina (USMAN; NASEER et al., 2019) (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

Segundo a literatura científica, os métodos mais comuns para extrair e solubilizar os analitos do interior do cabelo são:

- a) Digestão alcalina
- b) Digestão ácida
- c) Digestão enzimática

1 - Digestão Alcalina

A digestão alcalina com hidróxido de sódio ou potássio é pouco usada, sendo aplicada principalmente em compostos alcalinos estáveis, como anfetaminas e canabinoides. Não é recomendada para heroína, cocaína e seus metabolitos, pois pode danificar proteínas (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006); (OLIVEIRA, 2005) (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006) (USMAN; NASEER et al., 2019).

A amostra é incubada a 37°C com 0,1 ~ 2,5 M NaOH, depois ajusta-se o pH para 9 e continua-se com a extração em fase sólida (SPE) (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006).



2 - Digestão Ácida

A extração ácida ocorre com incubação do cabelo em 0,1 – 0,6 M HCl ou 0,005 M H₂SO₄ a temperatura ambiente ou 37°C durante a noite, extraíndo substâncias sensíveis à digestão da fibra. É comumente usada para retirar heroína da matriz (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006); (OLIVEIRA, 2005); (PANTALEÃO, 2012).

Um método simples e eficaz é a incubação em solventes orgânicos, com o cabelo digerido por ultrasonicação a 45°C usando metanol acidificado ou etanol. Após a evaporação dos solventes, a amostra é analisada por GC-MS (USMAN; NASEER et al., 2019).

3 - Digestão Enzimática

Nesta técnica, os cabelos são tratados com uma solução enzimática contendo protease E, arilsulfatase, proteinases K e VIII ou β -glucuronidase. (OLIVEIRA, 2005).

Essas enzimas atuam na destruição da estrutura capilar, principalmente da queratina sem alterar a concentração da droga e metabólitos (USMAN; NASEER et al., 2019).

A digestão enzimática em pH neutro é um procedimento universal de extração, dissolvendo totalmente a matriz capilar e melhorando a recuperação dos compostos solubilizados (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006).

Embora amplamente utilizada, a digestão enzimática pode gerar resultados falso-positivos em análises ELISA, pois pode desnaturar anticorpos usados na detecção preliminar de drogas (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006; USMAN; NASEER et al., 2019). Outra desvantagem é o alto custo do método (USMAN; NASEER et al., 2019).

SEPARAÇÃO DE EXTRATOS

Após a extração das drogas na fase de digestão, os extratos geralmente passam por limpeza secundária para remover interferentes, isolar os analitos e permitir análises cromatográficas quantitativas e qualitativas após os testes de triagem (SILVA, 2024); (GORDO, 2013).

Em geral, as técnicas de “clean-up” mais utilizadas para a pré-concentração dos analitos em análise toxicológica incluem as tradicionais LLE (do inglês liquid-liquid extraction) e a SPE (do inglês solid-phase extraction) (ROVERI, 2017).

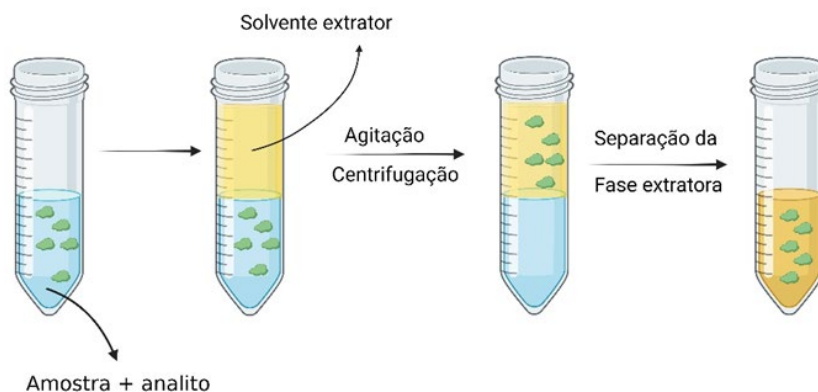
Extração líquido-líquido (ELL)

A ELL é uma técnica amplamente usada para extrair substâncias não voláteis, baseada na partição entre duas fases líquidas imiscíveis, orgânica e aquosa, considerando suas relativas solubilidades (SIQUEIRA, 2017). O efeito da técnica depende da afinidade da droga pelo solvente, da proporção entre as fases, da polaridade do extrator e do número de extrações (BORDIN; MONEDDEIRO et al., 2015).

Espera-se que as drogas sejam inicialmente solúveis na fase orgânica, utilizando-se um solvente imiscível em água para isolar a droga por separação (SIQUEIRA, 2017).

A técnica envolve a adição do solvente extrator, seguida de agitação (manual ou mecânica) para maximizar o contato entre as fases orgânica e aquosa. Após centrifugação, a fase de interesse é separada para análise (Figura 9) (BORDIN; MONEDDEIRO et al., 2015).

Figura 9 – Etapas da ELL.



Fonte: Adaptado de GORDO (2013).

Extração em fase sólida (SPE)

Essa técnica permite concentrar analitos, essencial para detectar toxicantes em baixas concentrações em amostras de cabelo (SIQUEIRA, 2017).

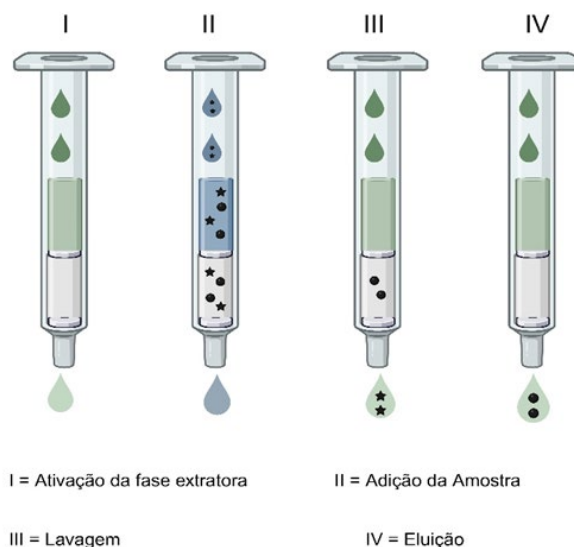
O princípio da SPE (Solid Phase Extraction) baseia-se nas interações intermoleculares entre o analito e o sorvente, resultando em uma separação líquido-sólido, similar à retenção de analitos na cromatografia líquida em coluna (BORDIN; MONEDDEIRO et al., 2015).

O procedimento usa sorventes em cartuchos tipo barril ou seringa, consistindo em um tubo de polipropileno com 50 a 500 mg de sorvente com partículas de 40 a 60 μ m, fixadas por dois filtros (QUEIROZ; COLLINS et al., 2001).

De maneira geral, a SPE ocorre em 4 etapas (Figura 10) (SIQUEIRA, 2017); (BORDIN; MONEDDEIRO et al., 2015):

- Ativação da fase extratora: o sorvente é ativado pela passagem de solvente orgânico polar (como metanol), seguido de água ou tampão, expondo os sítios ativos para ligação com os analitos.
- Adição da amostra: ao passar pela fase sólida em velocidade adequada, os analitos entram em contato com a fase extratora, permitindo a retenção do alvo e de alguns interferentes.
- Limpeza da coluna para remover interferentes menos retidos que o analito. Nesta etapa, usa-se água, tampões ou solventes orgânicos polares para a lavagem.
- Eluição e coleta do analito com solventes orgânicos, para arrastar as substâncias retidas na fase extratora.

Figura 10 – Etapas da SPE.



Fonte: Adaptado de GORDO (2013).

Processo de screening

Assim como nas análises toxicológicas forenses, as amostras do exame toxicológico de larga janela geralmente não incluem dados do caso ou do indivíduo. Assim, técnicas de triagem, como o ELISA, são usadas para identificar amostras positivas, que depois são confirmadas por métodos cromatográficos com espectrômetro de massas (CRUZ, 2017); (SBTOX, 2015).

De acordo com a SBTOX, a triagem não é obrigatória, permitindo que a amostra seja analisada diretamente por métodos confirmatórios (SBTOX, 2015). No entanto, é essencial que o laboratório siga as recomendações da SoHT, assegurando alta sensibilidade para detectar tanto a droga no cabelo quanto seus metabólitos em baixas concentrações. Isso possibilita traçar o perfil de exposição do indivíduo e minimizar o risco de falsos-positivos (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012) ; (GORDO, 2013).

Ademais, recomenda-se o uso de testes mais específicos, como cromatografia acoplada à espectrometria de massas, caso o imunoensaio seja positivo para o analito alvo (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

Métodos cromatográficos utilizados

O passo final para a detecção e confirmação dos analitos é feito com métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012), que permitem separar, detectar e quantificar drogas e seus metabólitos no cabelo (USMAN; NASEER et al., 2019).

Os sistemas cromatográficos mais usados são a Cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) e a Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas (GS-MS) (SBTOX, 2015).

A SoHT recomenda que as técnicas de confirmação tenham sensibilidade para detectar baixos níveis de drogas e seus metabólitos, ajudando a distinguir entre contaminação e ingestão (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS)

A LC-MS é usada para triagem e confirmação de uso de drogas no exame toxicológico (SBTOX, 2015). Com a melhoria para cromatografia líquida com espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), a técnica alcançou alta sensibilidade, permitindo detectar mínimos níveis de xenobióticos no cabelo, conforme recomendado pela SoHT para testes confirmatórios (USMAN; NASEER et al., 2019); (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

O sistema LC/MS/MS é composto por um conjunto de bombeamento, injetor, coluna e espectrômetro de massas, com interface programada conectada a um computador (Figura 11) (BUSTILLOS, 2020). A amostra é separada na coluna com fase estacionária sólida (sílica) (MCMASTER, 2005), com base em interação com a fase sólida em: adsorção, partição ou troca iônica (NOVAIS; POLETTI).

Já a espectrometria de massas ioniza a solução, separa os íons pela razão massa/carga e fragmenta o íon para identificar a estrutura da amostra (NOVAIS; POLETTI).

A instrumentação permite comparar padrões de fragmentação da molécula principal com bancos de dados para identificar e quantificar os analitos (MCMASTER, 2005).

Figura 11 - Sistema LC-MS com cromatógrafo, espectrômetro e interface computadorizada (cromatograma).



Fonte: Foto gentilmente cedida por LABET exames toxicológicos.

Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)

O GC-MS separa e identifica componentes de misturas com base em polaridade e volatilidade, permitindo a análise de drogas e metabólitos voláteis e semivoláteis, como cocaína, anfetaminas sintéticas e metabólitos de THC (Figura 12) (BUSTILLOS, 2023); (WITTMANN, 2007).

Para compostos semivoláteis, é necessária derivatização prévia devido à exigência de volatilidade adequada (GORDO, 2013).

Na separação, a amostra é injetada no GC, volatilizada e direcionada à coluna cromatográfica por um gás transportador (geralmente hélio). A polaridade e o ponto de ebulição dos analitos determinam seus tempos de retenção (WITTMANN, 2007).

Após separação, os compostos são ionizados no espectrômetro, fragmentando-se em íons que geram espectros massa/carga (m/z) únicos, formando uma “impressão digital” molecular (BUSTILLOS, 2023).

Posteriormente, os íons são acelerados e filtrados no analisador quadrupolo, então levados ao detector, que amplifica os sinais e gera um espectro de massas (ANDREGHETTI, 2023).

O software então converte esses dados em um cromatograma de massas, relacionando intensidade do sinal ao tempo de retenção (ANDREGHETTI, 2023).

Figura 12 - Sistema GC-MS.



Fonte: Foto gentilmente cedida por LABET exames toxicológicos.

Deteção da classe de droga e valor de cut-off

A detecção de drogas varia conforme o sistema cromatográfico, apresentando sensibilidades diferentes para cada substância (GORDO, 2013).

O valor de corte de uma substância pode indicar o nível de exposição a um xenobiótico, com concentrações na ordem de pg/mg, diferenciando a contaminação ambiental do uso real da droga (USMAN; NASEER et al., 2019). A SoHT dispõe de valores de corte específicos para cada droga e metabólito analisados nos ensaios cromatográficos (Tabela 2) (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012).

Tabela 2 – Valores de corte (cut-off) propostos pela SoHT para a detecção das principais drogas ilícitas e seus metabólitos encontrados em cabelo e pelos corporais (COOPER; KRONSTRAND et al., 2012). COC – cocaína; BZE – benzoilecgonina; EME – éster metílico de ecgonina; CE – cocaetileno; NC – norcocaína; THC – tetrahydrocannabinol; THC-COOH – carboxi-tetrahydrocannabinol; MDMA - 3,4-metilenodioximetanfetamina; MDA - 3,4-metilenodioxianfetamina; MDEA - 3,4-metilenodiox-N-etilamfetamina.

Grupo	Droga/Metabólito	Cut-off (ng/mg)	Sistema utilizado
Cocaína	COC	0,5	LC-MS
	BZE, EME, CE e NC	0,05	
Canabinoides	THC	0,05	GC-MS
	THC-COOH	0,2 (pg/mg)	
Anfetaminas Sintéticas	MDMA	0,2	GC-MS
	MDA		
	MDEA		

Fonte: Adaptado de (SBTOX, 2015).

Cocaína e metabólitos

A detecção de cocaína pelo sistema LC-MS permite a identificação simultânea da droga e de seus metabólitos (benzoilecgonina - BZE, norcocaína - NC e cocaetileno - CE). Após a digestão capilar por incubação em HCl 0,1 M, os componentes são extraídos por SPE. Na fase móvel, a amostra é transportada por uma mistura de tampão fosfato, metanol e acetonitrila (USMAN; NASEER et al., 2019).

O valor indicativo de uso de cocaína na triagem é 0,5 ng/mg, com confirmação para valores iguais ou inferiores. Para seus metabólitos (BZE, EME, CE e NC), o limite é 0,05 ng/mg.

A SBTOX destaca que a análise do metabólito anidro ecgonina metil éster (AEME/EME) é essencial para diferenciar o uso de cocaína fumada de outras formas (SBTOX, 2015).

Canabinoides

A análise capilar de canabinoides é inicialmente realizada por ELISA e confirmada por GC-MS por ser padrão ouro para o tetrahydrocannabinol (THC) e seus metabólitos, embora exija derivatizações (SHAH; AL-DABBAGH et al., 2019). Os principais analitos canabinoides identificados no cabelo incluem Δ -9-THC, Canabidiol (CBD), Canabinol (CBN), 11-OH-THC e THC-COOH/THCA (BOUMBA; ZIAVROU et al., 2006).

A presença de THCA é considerada evidência definitiva do consumo de cannabis, pois se converte em THC durante o aquecimento da planta (como ao fumar). Porém, é crucial realizar um procedimento de lavagem adequado para remover contaminações externas, como digestão alcalina seguida de SPE (HILL; SCHAFFER et al., 2016).

Segundo a SoHT, os valores de cut-off para THC são: 0,1 ng/mg para resultado presuntivo na triagem e $\leq 0,05$ ng/mg para confirmação de THC, e $\leq 0,2$ pg/mg para THC-COOH (SBTOX, 2015).



Derivados sintéticos da anfetamina

A CG-MS é o meio cromatográfico mais utilizado para detectar estimulantes da classe das anfetaminas substituídas, incluindo MDMA (ecstasy), MDA, MDEA e MBDB (PANTALEÃO, 2012), sendo a SPE frequentemente empregada no processamento dessas substâncias (USMAN; NASEER et al., 2019).

Na triagem, o valor de corte presuntivo é de 0,2 ng/mg, com o valor de corte confirmatório recomendado de $\leq 0,2$ ng/mg para cada composto (SBTOX, 2015).

CONCLUSÃO

A Lei 13.103 resultou em uma redução significativa nos acidentes envolvendo caminhões nas rodovias brasileiras. O uso do cabelo como matriz para testes oferece benefícios, como a praticidade na coleta e a capacidade de detectar xenobióticos presentes por longos períodos, refletindo o uso recente ou crônico e o histórico de abuso.

O exame ressalta alta segurança contra adulteração ou substituição da amostra, pois é realizado por profissionais capacitados, seguindo rigorosamente a cadeia de custódia desde a coleta até a análise, garantindo resultados válidos.

Em suma, os testes toxicológicos, aliados a métodos sensíveis e específicos como cromatografia acoplada à espectrometria de massas, são essenciais para o controle do uso de drogas psicoestimulantes por motoristas das categorias C, D e E da CNH.

REFERÊNCIAS

- ANDREGHETTI, C. X. S. H. M. Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Araraquara, 30/Nov/2023 2023. Disponível em: <https://www.iq.unesp.br/#/lacaque/cromatografia-em-fase-gasosa-acoplada-a-espectrometria-de-massas-gc-ms/apresentacao/>.
- BALÍKOVÁ, M. J. B. P.-p. U. i. O. Hair analysis for drug abuse. Plausibility of interpretation. 149, n. 2, p. 199, 2005.
- BARROSO, M.; GALLARDO, E.; VIEIRA, D. N.; LÓPEZ-RIVADULLA, M. et al. Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology. 3, n. 1, p. 67-79, 2011.
- BAYSAL, A.; AKMAN, S. J. S. A. P. B. A. S. Determination of lead in hair and its segmental analysis by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. 65, n. 4, p. 340-344, 2010.
- BORDIN, D. C. M.; MONEDDEIRO, F.; CAMPOS, E. d.; ALVES, M. et al. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. 7, n. 2, p. 125-143, 2015.
- BOUMBA, V. A.; ZIAVROU, K. S.; VOUGIOUKLAKIS, T. J. I. J. o. T. Hair as a Biological Indicator of Drug Use, Drug Abuse or Chronic Exposure to Environmental Toxicants. 25, p. 143 - 163, 2006.



- BUSTILLOS, O. J. R. A. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em Tandem HPLC-MS/MS. 106, 2020.
- BUSTILLOS, O. V. A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas-GC/MS. 2023.
- CAIRNS, T.; HILL, V.; SCHAFFER, M.; THISTLE, W. J. F. S. I. Removing and identifying drug contamination in the analysis of human hair. 145, n. 2-3, p. 97-108, 2004.
- COOPER, G. A.; KRONSTRAND, R.; KINTZ, P. J. F. s. i. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. 218, n. 1-3, p. 20-24, 2012.
- CRUZ, A. C. H. d. C. Quantificação de cocaína e seu produto de biotransformação, benzoilecgonina, em amostras de cabelo: desenvolvimento, validação e aplicação de método. 2017.
- GORDO, J. M. d. O. O cabelo como amostra biológica em toxicologia forense: colheita, análise e áreas de aplicação. 2013. -, [sn].
- HILL, V. A.; SCHAFFER, M. I.; STOWE, G. N. J. J. o. A. T. Carboxy-THC in washed hair: still the reliable indicator of marijuana ingestion. 40, n. 5, p. 345-349, 2016.
- KINTZ, P.; SALOMONE, A.; VINCENTI, M. Hair analysis in clinical and forensic toxicology. Academic Press, 2015. 0128017104.
- LEBEAU, M. A.; MONTGOMERY, M. A.; BREWER, J. D. J. F. s. i. The role of variations in growth rate and sample collection on interpreting results of segmental analyses of hair. 210, n. 1-3, p. 110-116, 2011.
- LISBOA, M. P. Matrizes biológicas de interesse forense. 2016.
- MCMASTER, M. C. LC/MS: a practical user's guide. John Wiley & Sons, 2005. 0471736570.
- NOVAIS, F.; POLETTI, E. REVALIDAÇÃO DE MÉTODO DE DETECÇÃO DE DROGAS DE ABUSO EM FLUIDO ORAL ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM SÉRIE.
- OLIVEIRA, C. D. R. d. Determinação de canabinóides em cabelo por microextração em fase sólida por headspace e análise por espectrometria de massa associada à cromatografia em fase gasosa. 2005. -, Universidade de São Paulo.
- PANTALEÃO, L. d. N. Análise toxicológica de anfetaminas e benzodiazepínicos em amostras de cabelo por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. 2012. -, Universidade de São Paulo.
- QUEIROZ, S. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. J. Q. N. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. 24, p. 68-76, 2001.
- ROVERI, F. L. Desenvolvimento de método de triagem de substâncias psicoativas em amostras de cabelo através de técnicas imunológicas. 2017. -, Universidade de São Paulo.
- SBTOX, S. B. d. T.-. DIRETRIZES SOBRE O EXAME DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM CABELOS E PELOS: Coleta e Análise Diretoria, São Paulo, pp. 25.



- SHAH, I.; AL-DABBAGH, B.; SALEM, A. E.; HAMID, S. A. et al. A review of bioanalytical techniques for evaluation of cannabis (Marijuana, weed, Hashish) in human hair. 13, p. 1-20, 2019.
- SILVA, W. R. Desenvolvimento e aplicação de polímeros molecularmente impressos para pré-concentração, extração e detecção de compostos de interesse forense e ambiental. 2024.
- SIQUEIRA, R. L. d. M. M. M. E. P. B. d. Ciências Farmacêuticas - Toxicologia Analítica, 2ª edição. Rio de Janeiro: 2017. 327 p. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/978-85-277-2860-7>. Acesso em: 18/08/2024.
- THORSPECKEN, J.; SKOPP, G.; POTSCHE, L. J. C. c. In vitro contamination of hair by marijuana smoke. 50, n. 3, p. 596-602, 2004.
- UNIÃO, D. O. D. RESOLUÇÃO Nº 691, DE 27 DE SETEMBRO DE 2017. TRÂNSITO, C. N. D. Brasil : Portal da Imprensa Nacional: 164 p. 2017.
- USMAN, M.; NASEER, A.; BAIG, Y.; JAMSHAD, T. et al. Forensic toxicological analysis of hair: a review. 9, n. 1, p. 1-12, 2019.
- WITTMANN, C. J. M. c. f. Fluxome analysis using GC-MS. 6, p. 1-17, 2007.