

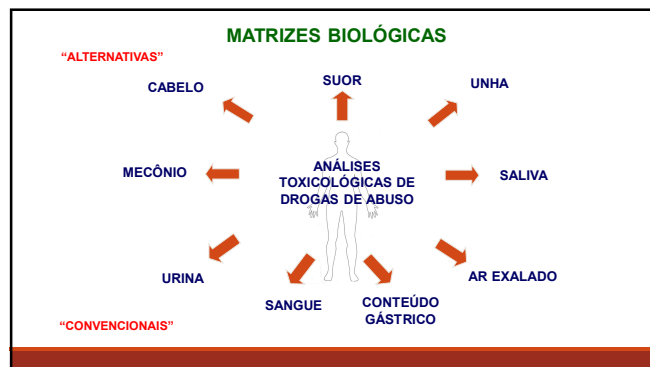
 **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

MATRIZES BIOLÓGICAS EM ANÁLISES TOXICOLÓGICAS DE DROGAS DE ABUSO

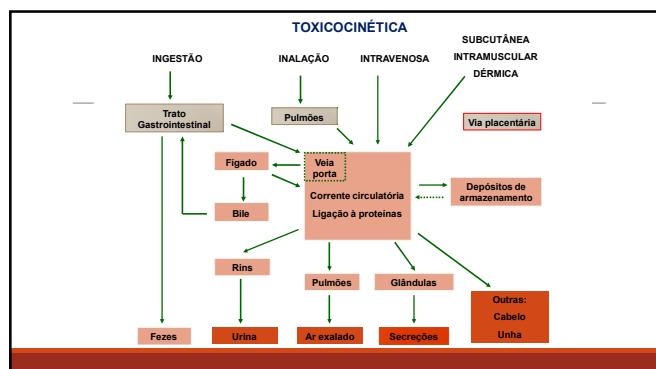


Prof. Dr. Mauricio Yonamine

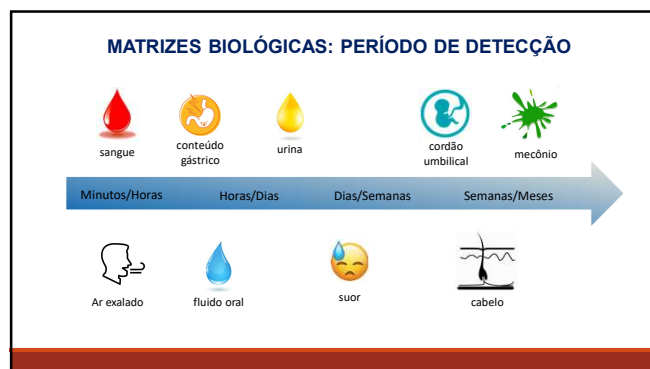
1



2



3



4

MATRIZES BIOLÓGICAS CONVENCIONAIS

5

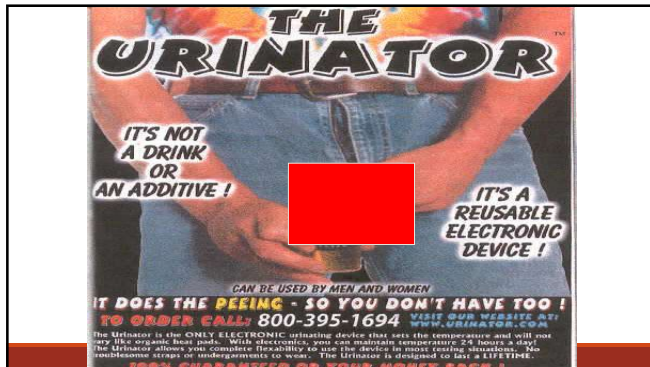
URINA



CARACTERÍSTICAS:

- Coleta não invasiva
- Disponibilidade de grandes volumes de amostra
- Concentração alta
- Facilidade da análise
- Possibilidade de adulteração da amostra
- Período de detecção: alguns dias

6



7



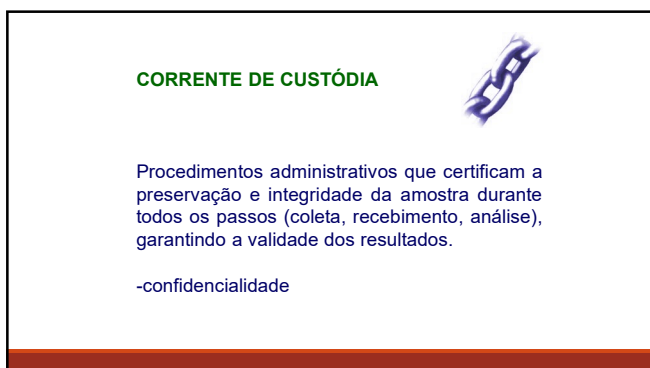
8



9



10



11



12

DROGAS DE ABUSO

“CUT OFF”

- Valores de referência de concentração dos fármacos/metabólitos em uma amostra biológica, recomendados por entidades internacionais, para categorização dos resultados como indicativo ou não do consumo da droga.

“CUT OFF”

Table 4. Threshold Concentrations and Reporting Requirements for Substance Abuse and Mental Health Services Administration-Certified Laboratories.¹³

Drug Class	Immunoscreening Screening (ng/ml)	GC-MS Confirmation (ng/ml)
Amphetamines	1000	Amphetamine: 500 Methamphetamine*: 500
Cannabinoids	50	THC-COOH: 15
Cocaine metabolites	300	Benzoylgonine: 150
Opiates	2000	Morphine*: 2000 Codeine: 2000 6-Monoacetylmorphine: 10
PCP	25	PCP: 25

GC-MS = gas chromatography-mass spectrometry; PCP = phencyclidine; THC-COOH = 9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol.
 *Must contain amphetamine concentration $\geq$ 200 ng/ml.
 If morphine concentration exceeds 2000 ng/ml, test for 6-monoacetylmorphine.

Phan et al. Drug testing in the workplace. Pharmacotherapy, v. 32, 2012.

13

14

URINA

PERÍODO DE DETECÇÃO:

Maconha	
Uso eventual	$\pm$ 7 dias
Uso freqüente	$\pm$ 25 dias
Cocaína	
Uso eventual	$\pm$ 3 dias
Uso freqüente	$\pm$ 7 dias
Anfetaminas	$\pm$ 3 dias

SANGUE

CARACTERÍSTICAS:

- Coleta invasiva
- Necessidade de profissional treinado
- Matriz relativamente complexa
- Período de detecção: algumas horas
- Correlação com estado clínico
- Controle terapêutico



15

16

AR EXALADO

CARACTERÍSTICAS:

- Coleta não-invasiva
- Deteção de compostos voláteis (etanol) - uso de etilômetros (bafômetro)
- Solventes
- Período de detecção: algumas horas
- Correlação com estado clínico



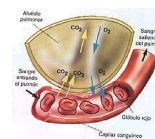
AR EXALADO

▶ ETANOL

Fator r (razão massa/massa de etanol contido na corrente sanguínea e no ar exalado).

$r = 2100:1$ (34°C)

A massa de etanol determinada em 2100 mL do ar expirado corresponde à massa de etanol contida em 1 mL de sangue.



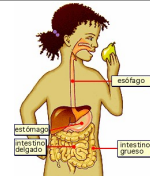
17

18

CONTEÚDO GÁSTRICO

CARACTERÍSTICAS:

Intoxicação aguda
Via oral
(Tentativa de suicídio)
Concentração alta
Resíduos não absorvidos

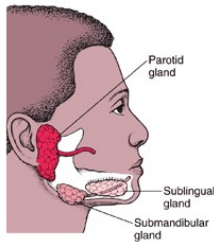


MATRIZES BIOLÓGICAS ALTERNATIVAS

19

20

FLUIDO ORAL



TRANSFERÊNCIA SANGUE/ SALIVA:

-SECREÇÃO ATIVA,
-ULTRAFILTRAÇÃO
(POROS)
-DIFUSÃO PASSIVA

Formas ionizadas e ligadas a
proteínas plasmáticas têm
o transporte dificultado

FLUIDO ORAL

CARACTERÍSTICAS:

Coleta não-invasiva
Facilidade na coleta
Correlação com concentração sanguínea
Período de detecção: algumas horas
Pouco volume de amostra
Concentração baixa

21

22

FLUIDO ORAL

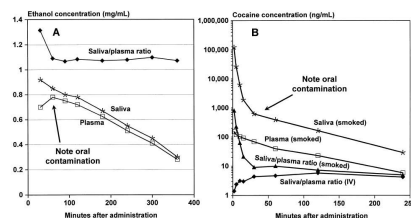


Fig. 2. (A) Concentrations of ethanol in saliva and plasma. From Jones [54]. (B) Concentrations of cocaine in saliva and plasma after smoking of 45 mg and ratio of plasma-saliva after intravenous administration of 40 mg of cocaine. Average of seven individuals. From Jenkins et al. [55].

Kidwell, D.A., et al. Testing for drugs in saliva and sweat. J. Chromatogr. B. 713:111-135, 1998.

23

FLUIDO ORAL

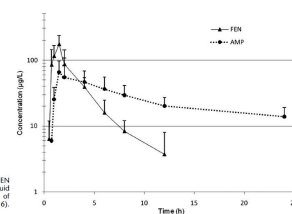


FIGURE 3. Average profile of FEN and AMP concentrations in oral fluid after single-dose administration of 25 mg of FEN hydrochloride (n = 6). Error bars represent SD.

Comiran et al. Fenproporex and Amphetamine Pharmacokinetics in Oral Fluid After Controlled Oral Administration of Fenproporex. Ther Drug Monit. 2012.

24

FLUIDO ORAL

RELAÇÃO SALIVA/PLASMA

- ETANOL ~ 1,1
- ANFETAMINA ~ 2,0
- COCAÍNA ~ 1,3 A 10
- CANABINOIDES ~ Correlação não determinada

25

FLUIDO ORAL

POSSÍVEL APLICAÇÃO: TRÂNSITO

Código de Trânsito Brasileiro (1997):

Lei 12.760/2012. Art. 165: "Dirigir sob a influência de álcool ou de qualquer outra substância psicoativa que determine dependência"

-INFRAÇÃO GRAVÍSSIMA

26

ESTUDO FCF/USP e VIAOESTE S.A (2002-2008):



Amostras de fluido oral foram obtidas de voluntários acima de 21 anos, motoristas de caminhão (n=1.250) que trafegavam em rodovias de São Paulo (Rod. Raposo Tavares, Rod. Castelo Branco e Rod. Sen. José Ermírio de Moraes).

Resultado positivo para 3,1% das amostras:

- 18 para etanol
- 8 para anfetamina (em um caso + metanfetamina)
- 7 para cocaína
- 5 para THC
- 1 para cocaína e THC

Yonamine et al. Traffic Injury and Prevention. v. 14, p. 127-131, 2013.

27

TESTES RÁPIDOS – FLUIDO ORAL



ORALAB



DRUGWIPE

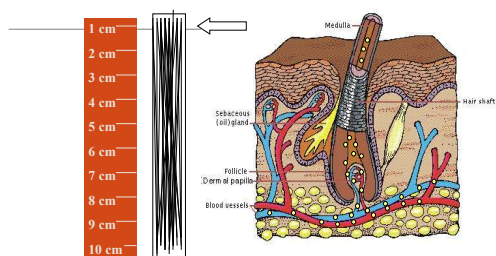


COZART RAPISCAN



28

CABELO



29

CABELO

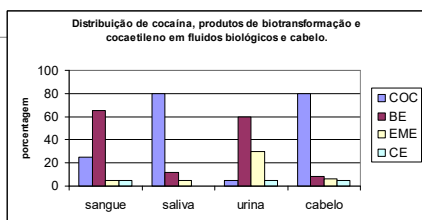
CARACTERÍSTICAS:

- Coleta não-invasiva
- Período de detecção: meses
 - Retrospectiva e cronológica
- Deteção: exposição frequente
- Disponibilidade: ????
- Baixa concentração
- Amostra estável
- Possibilidade de contaminação



30

CABELO



Spiehler, V. Society of Forensic Toxicology Conference on Drug Testing in Hair, Tampa, FL, October 29, 1994.

Table 1
Recommended cut-offs for substances and metabolites in hair to identify use.

Screening	Sub-off (ng/mg)	Target analyte	Confirmation
Amphetamines	0.2	Amphetamine	0.2
		Methamphetamine	0.2
		MDA	0.2
		MDMA	0.2
Cannabinoids	0.1	THC	0.05
		THC-COOH	0.0002
Cocaine	0.5	Cocaine	0.5
		BE, EME, CE, NC	0.05
Opiates	0.2	Morphine	0.2
		Codaine	0.2
		6-Acetylmorphine	0.2
Methadone	0.2	Methadone	0.2
		EDDP	0.05
Buprenorphine	0.01	Buprenorphine	0.01
		Norbuprenorphine	0.01

Society of Hair Testing, www.soht.org, May, 2018.

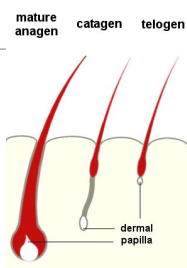
31

32

CABELO

Fisiologia:

Cerca de 85% do cabelo humano está na fase anágena.



33

CABELO

ESTABILIDADE:

➤ **COCAÍNA:**
MÚMIAS PERUANAS
1000 ANOS



34

Fatores que podem afetar a concentração de drogas no cabelo:

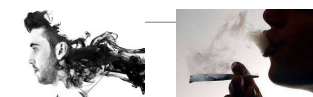
TRATAMENTOS COSMÉTICOS:

- ✓Tintura
- ✓Alisamento
- ✓Descoloração
- ✓Secagem



35

Influência da contaminação externa:



Estratégia laboratorial:
• Procedimentos de descontaminação externa



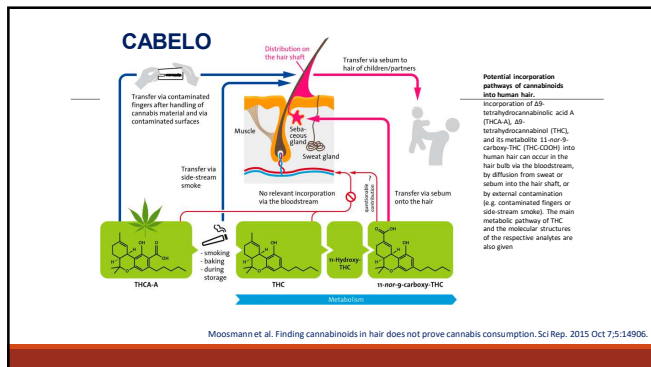
Lavagem com detergente e/ou solventes

Nenhum procedimento de lavagem é 100% eficaz



Kintz et al. Hair Analysis and Forensic Toxicology, 2015.

36



37

Influência da cor do cabelo/ questões étnicas:

Substâncias básicas (cocaína, anfetaminas) tendem-se a incorporar com maior facilidade em cabelos escuros (com maior quantidade de melanina)

Kintz et al. Hair Analysis and Forensic Toxicology, 2015.

38

MECÔNIO

CARACTERÍSTICAS:

- Exposição fetal
- Coleta não-invasiva
- Matriz complexa -dificuldade na análise
- Período de detecção: meses
- Disponibilidade

39

MECÔNIO

ESTUDO LAT-USP/ HU-USP

- 342 amostras aleatórias
- Análise de mecônio para AEME, EME, BE, HE, COC, CE.

Resultado:
19 (5,6%) positivos

*Em 5 amostras: AEME, em 3 amostras: CE

Mantovani et al. Journal of Chromatogr B, v. 957, p. 14-23, 2014.

40

CORDÃO UMBILICAL (TECIDO)

CARACTERÍSTICAS:

- Reflete longo período de detecção, similar ao mecônio;
- A análise pode ser realizada imediatamente após o nascimento (ao contrário do mecônio);
- Abordagem recente: poucos estudos

Table 5
Comparison of maternal and infant characteristics in cocaine negative and cocaine exposed groups.

	Cocaine non-exposed	Cocaine exposed
Maternal characteristics		
Age (years), mean $\pm$ SD	25.9 $\pm$ 6.1 (n=202)	22.7 $\pm$ 2.6 (n=15)
Smoking (Y)	10.5 (n=205)	57.1 (n=14)
Alcohol (Y)	5.6 (n=205)	42.9 (n=14)
Infant characteristics		
Birth weight (g), mean $\pm$ SD	3277.8 $\pm$ 422.5 (n=300)	2855.3 $\pm$ 431.9* (n=15)
Birth weight <2500 g (Y)	3.0 (n=300)	26.7 (n=15)
Birth length (cm), mean $\pm$ SD	49.0 $\pm$ 2.1 (n=274)	47.1 $\pm$ 2.3* (n=10)
Head circumference (cm), mean $\pm$ SD	34.4 $\pm$ 1.4 (n=279)	33.3 $\pm$ 1.7* (n=15)
Gestational age (weeks), mean $\pm$ SD	36.8 $\pm$ 1.4 (n=293)	36.3 $\pm$ 1.8 (n=15)
Premature (gestational age <37 weeks) (Y)	6.5 (n=293)	23.1 (n=15)

SD—standard deviation.
* p < 0.05 compared with cocaine negative group (t Student test).

Mantovani et al. Journal of Chromatogr B, v. 957, p. 14-23, 2014.

41

Gallardo & Queiroz. Biomed. Chromatogr. 22: 795–82, 2008.

42

MECÔNIO X CORDÃO UMBILICAL

Utah - Estados Unidos

Estudo: 118 grávidas suspeitas de usarem drogas ilícitas.

Coleta de mecônio e cordão.

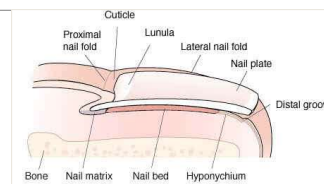
Nível de concordância (mecônio x cordão):

- ▶ Anfetaminas: 96,6%
- ▶ Opiáceos: 94,9%
- ▶ Cocaína: 99,2%
- ▶ Canabinoides: 90,7%

Montgomery et al. *Journal of Perinatology*, 26, 11-14, 2006

43

UNHA



44

UNHA

CARACTERÍSTICAS:

- Coleta não-invasiva
- Baixa concentração
- Dificuldade na análise
- Matriz complexa
- Período de detecção: meses
- Exposição intensa

45

SUOR



ADESIVOS
"SWEAT PATCH"
-CELULOSE
-HIPOALERGÊNICO
-NÃO-OCCLUSIVO

46

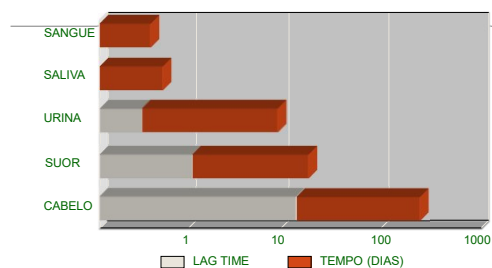
SUOR

CARACTERÍSTICAS:

- Coleta não-invasiva
- Coleta através de adesivos "patch"
- Baixa concentração
- Dificuldade na análise
- Não existem muitos estudos
- Monitorar pacientes

47

'LAG TIME' E PERÍODO DE DETECÇÃO (CANNABINOIDES)



48