

#### 4.

## PROCESSAMENTO DE MATRIZES BIOLÓGICAS PARA ANÁLISE ANTIDOPING

O presente capítulo descreve a rotina das atividades desenvolvidas no laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), caracterizando, notadamente, os processos associados à coleta, armazenagem, registro e identificação das amostras de material biológico submetidas a ensaios analíticos.

Tecnicamente capacitado para desenvolver e realizar análises químicas de fluidos biológicos de cavalos de corrida (puro-sangue inglês), o Laboratório *Antidoping* visa prover evidências técnicas capazes de assegurar a lisura das corridas de cavalo que se constituem num dos objetivos do Jockey Club Brasileiro. O serviço técnico prestado pelo laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB) é de alta qualidade em análises de controle de dopagem e em pesquisa de novas metodologias analíticas para este mesmo fim no âmbito das corridas de cavalo uma vez que seguem práticas e conceitos internacionais. A gerência do LAD/JCB, em consonância com a orientação da direção do Jockey Club Brasileiro, coordena a operação do seu laboratório *antidoping* segundo um sistema de gestão capaz de garantir a implementação e uso de técnicas validadas, procedimentos de operação e de organização que levem o laboratório a produzir laudos com resultados confiáveis e formalmente reconhecidos, operando segundo o rigor da norma NBR ISO/IEC 17025, incorporada ao sistema brasileiro de normalização a partir da norma internacional ISO/IEC 17025.

Em conformidade ao seu sistema de qualidade, toda e qualquer atividade administrativa ou analítica desenvolvida no laboratório deve ser previamente planejada e operacionalmente organizada, assim assegurando que qualquer problema detectado em alguma etapa do processo como um todo possa ser rastreado a qualquer momento permitindo sua solução e garantindo aos operadores e usuários do laboratório a qualidade e confiabilidade do serviço desenvolvido.

A seguir, caracterizam-se as diversas etapas que devem ser registradas e documentadas por meio de formulários e procedimentos normalizados com base

na prática laboratorial que, basicamente, fundamenta-se na norma NBR ISO/IEC 17025 internacionalmente consensada, aceita como a prática laboratorial mais adequada e aplicável a laboratórios prestadores de serviços de calibração e de ensaios.

#### **4.1. A coleta de amostras de matrizes biológicas**

Para a rotina do controle de dopagem do laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), a coleta das amostras de material biológico a serem submetidas às análises se desenvolve em local específico para essa finalidade, denominado “sala de coleta”. As amostras são coletadas pelo veterinário do LAD/JCB após cada páreo corrido pelos cavalos, segundo critérios estabelecidos e acordados pela Comissão de Corridas que, usualmente, adotam práticas internacionais.

Após a coleta do material biológico, este é envasado em quantidades iguais em dois frascos plásticos esterilizados; cada frasco é devidamente fechado, lacrado com um selo de segurança e identificado no ato por uma etiqueta de prova ou de contraprova, conforme ilustrado nas Figuras 2 e 3. Em cada etiqueta, identificada com código de barras, consta a data da corrida e o sexo do animal, informação que é cuidadosamente processada por um médico veterinário designado para a função, procedimento conduzido na presença do representante dos treinadores que, juntamente com o veterinário assina a etiqueta de controle assim assegurando a rastreabilidade da amostra a qualquer tempo. Em seguida, os frascos plásticos já identificados, são colocados em malotes de plástico azuis (prova) e amarelos (contraprova), conforme ilustrado na Figura 4. Todos os malotes são igualmente lacrados e identificados com a mesma numeração do código de barras constantes das etiquetas e finalmente armazenados na câmara de refrigeração do LAD/JCB à temperatura de 4°C, temperatura recomendada por práticas laboratoriais. Na sala de coleta, em um cofre, fica guardado o livro de registros (Figura 5); nele são coladas as etiquetas que contêm além dos dados da amostra, os dados do proprietário e do treinador do animal para uma eventual convocação para contraprova.



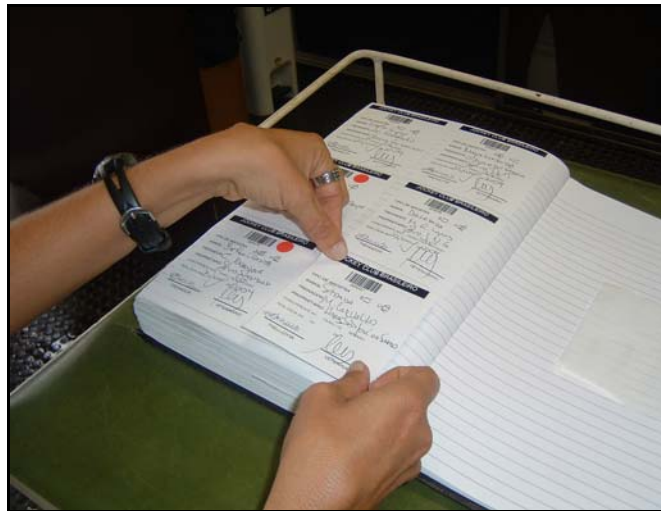
**Figura 2.** Colocação do lacre no frasco plástico.



**Figura 3.** Identificação com etiqueta de prova ou contraprova.



**Figura 4.** Malotes de plástico para prova e contraprova.



**Figura 5.** Livro de registros das etiquetas.

Para os casos em que as amostras a serem analisadas são de procedência externa, a exigência do LAD/JCB é que cada uma dessas amostras seja coletada rigorosamente segundo o mesmo procedimento praticado no Jockey Club Brasileiro. Para garantia do cumprimento dessa exigência são enviados aos clientes formulários de procedimentos de coleta, armazenamento e envio das amostras, conforme caracterizado no Anexo B. No momento da chegada das amostras ao LAD/JCB é preenchido, por um funcionário, o formulário de recebimento de amostras, caracterizado no Anexo C. Nos casos em que não-conformidades são detectadas podendo colocar em risco a integridade da amostra, os clientes são imediatamente avisados, cabendo somente a eles a decisão pela realização ou suspensão das análises.

#### **4.2. Armazenagem das amostras**

Para se manter as condições de armazenagem das amostras segundo procedimentos normalizados, a temperatura nominal de 4°C da câmara frigorífica para provas é monitorada diariamente e registrada em formulário específico, assim provendo evidências da integridade das amostras durante sua permanência no LAD/JCB desde o momento de sua chegada.

Os malotes amarelos (contraprova) são separados e armazenados em câmara frigorífica mantida à temperatura de  $(-20\pm 2)$  °C, pois essas amostras só serão utilizadas numa eventual contraprova. A temperatura da câmara frigorífica para contraprova também é monitorada diariamente e registrada em formulário específico pelo mesmo motivo anteriormente mencionado. As figuras 6 e 7 ilustram, respectivamente, as duas câmaras frigoríficas. O Anexo D caracteriza o formulário de registro da temperatura das câmaras frigoríficas.



**Figura 6.** Câmara frigorífica para armazenagem de amostra (provas)  $-5^{\circ}\text{C} < T < +5^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 7.** Câmara frigorífica para armazenagem de contraprova.  $-20^{\circ}\text{C} < T < -15^{\circ}\text{C}$ .

### 4.3. Registro das amostras

A abertura dos malotes azuis que contêm as amostras de prova é feita na própria manhã do dia em que serão realizadas as análises de controle de dopagem. Após a abertura dos lacres íntegros do malote azul (prova), as amostras são identificadas e registradas por intermédio de um *software* de código de barras, e todos os dados contidos na etiqueta do frasco plástico de prova são registrados em formulário específico, caracterizado no Anexo E.

### 4.4. Identificação das amostras de matriz biológica

O que se denomina “cadeia de custódia da amostra” é efetuada por intermédio de uma numeração cega, determinada pelo LAD/JCB e mantida para todas as etapas subseqüentes do processo analítico. A numeração estará, após o registro da amostra, sempre associada àquele código de barras, permitindo que a amostra seja rastreada em caso de dúvida ou necessidade de re-teste, minimizando possibilidades de troca de amostras.

Após as etapas relacionadas ao processamento das matrizes biológicas acima descritas, cada amostra será submetida aos processos analíticos pertinentes visando a sua análise laboratorial para os fins a que se propõem.

No contexto da presente pesquisa de mestrado, o trabalho concentra na adaptação do método francês (*Methodes Alcalins Sur C18*) às condições laboratoriais do LAD/JCB visando a sua validação assim qualificando-o à detecção da substância dopante cafeína, dando origem ao Método ALCAC-18. O próximo capítulo demonstra que de fato a cafeína é a substância proibida mais freqüente nas análises realizadas pelo LAD/JCB.