MATRICI BIOLOGICHE

«Attualità d'uso di Sostanze Illecite»

Sangue/Siero o Saliva

(«finestra temporale» di alcune minuti/ore)

«Uso/Abuso pregresso di Sostanze Illecite»

Matrice Cheratinica (capelli, peli)

(«finestra temporale» di alcuni mesi)

«Consumo recente di Sostanze Illecite»

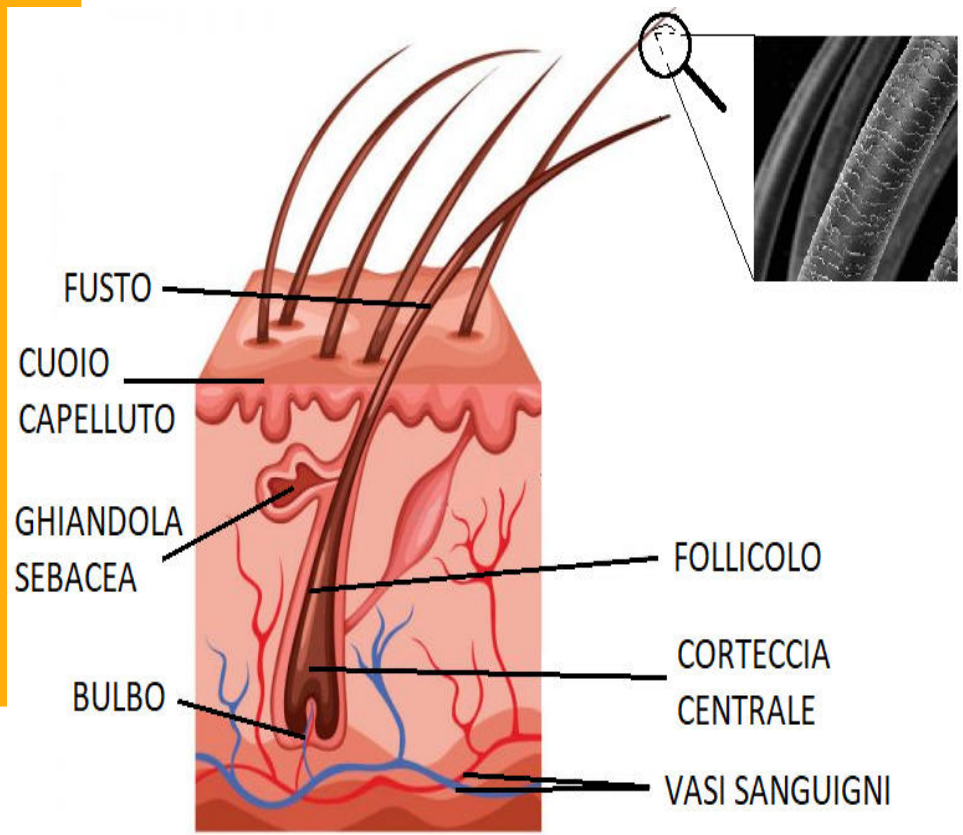
Urine

(«finestra temporale» di alcuni giorni)

CAPELLO

- Composti da: **proteine** per il **65-85%**, **lipidi** tra **1-9%, acqua 15 – 35%** e **minerale < 1%.**
- Ogni capello è composto da una **corteccia centrale** ricoperta da una **cuticola esterna** e un **follicolo** a triangolo collegato con una **ghiandola sebacea e apocrina** (sudoripara).

CUTICULA ESTERNA



CAPELLO

- Il capello alterna **fasi di crescita** (fase **anagen**, di formazione del capello) a **fasi di quiescenza** (**catagen** e **telogen**). Se si considera un **soggetto adulto**, circa l'**85%** dei capelli si troveranno nella **fase anagen** mentre il restante **15%** si troveranno nella fase di **quiescenza**. La fase di crescita di un capello è compresa tra i 4-8 anni (< 6 mesi per le altre matrici cheratiniche) con un tasso di crescita compreso tra 0,22 e 0,52 mm al giorno o **0,6 e 1,42 cm al mese**.

- I fattori che influenzano il tasso di crescita includono il tipo di capello, elementi fisiologici e posizione anatomica. Il meccanismo preciso con cui gli xenobiotici passano nel capello è ancora sconosciuto, ma sono state proposte **tre vie**:

- attraverso il sangue durante lo sviluppo di un follicolo;

- da sostanze presenti nel sebo e nel sudore;

- fattori ambientali esterni.

CAPELLO

- Considerando tutte le aree della testa, il **vertice posteriore** (la parte posteriore della testa) è la parte migliore dove poter campionare i capelli, dal momento che è l'area in cui:

- la crescita è costante ed uniforme;

- la maggior parte dei capelli si trovano nella fase di crescita (fase anagen);

- sono minori le differenze età – sesso correlate.

- Il capello è in grado di fornirci la cronologia di assunzione di una sostanza esogena; **ogni centimetro** di lunghezza del capello partendo dalla parte prossimale corrisponde a **circa un mese**. (ad esempio **3 centimetri** tagliati dalla parte prossimale coprono una finestra temporale di circa **3 mesi**).
- E' possibile quindi effettuare anche un'**analisi segmentale** del capello campionato per ricostruire il trend di assunzione.

CAPELLO

- Gli accertamenti tossicologici in alternativa al capello possono essere effettuati su altre formazioni cheratiniche (**peli del pube, peli ascellari, etc**), coprendo una finestra temporale di circa **9-18 mesi** da cui si può valutare essenzialmente l'uso pregresso della sostanza.
- Il Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (GTFI) nelle proprie Linee Guida suggerisce di valutare con cautela il dato quantitativo relativo ai **peli pubici** perché è **possibile** una **contaminazione** derivante dalle **urine** del soggetto stesso.
- Le principali Linee Guida Internazionali che riguardano la matrice cheratinica sono quelle della **Society Hair Testing (SoHT)** e della European Workplace **Drug Testing Society (EWDTS)**.

ANALISI DEL CAPELLO

- Questione fondamentale nell'analisi tossicologica su capello è quella di evitare i falsi positivi che possono essere il risultato di una esposizione passiva, risulta necessaria quindi una **decontaminazione** preventiva del capello.

1 – preparazione del capello: sminuzzare finemente o polverizzare;

2 – incubazione: in acido, idrossido di sodio, metanolo, tamponi o soluzioni acquose;

3 – estrazione: L/L, SPE o SPME;

4 – analisi: cromatografia (liquida o gassosa) associata alla spettrometria di massa o immunochimica

ANALISI DEL CAPELLO

- Strumentazione analitica: **Gascromatografia** o **Cromatografia Liquida** abbinata alla **Spettrometria di Massa** a **Singolo** o **Triplo Quadrupolo**.

- Il Gruppo Toss taliani (GTFI), ne orta che è possibile l'utilizzo di metodi di screening immunochimici per la ricerca di sostanze stupefacenti nelle formazioni pilifere solo se accuratamente validati nel Laboratorio con particolare riguardo alla sensibilità (valutazione dei veri negativi e dei falsi negativi).

- Il **Test Immunochimico** per avere **valenza medico legale** in ca **positività** deve essere **confermato** rianalizzando il campione a la spettrometria di massa.

ANALISI DEL CAPELLO

Drug	Confirmation Cut-Off Concentration	Expected Concentration
Heroin	0,2 ng/mg of 6-acetylmorphine, morphine	0,5 – 70 ng/mg, in most cases < 30 ng/mg
Cocaine	0,5 ng/mg of cocaine and 0,05 ng/mg of benzoylecgonine and cocaethylene Presence of norcocaine and/or cocaethylene	0,5 – 100 ng/mg in most cases < 50 ng/mg, in crack abusers > 300 ng/mg is possible
Amphetamine, MDMA	0,2 ng/mg for each drug	0,5 – 50 ng/mg
Cannabis	0,05 ng/mg for THC 0,2 pg/mg for THC-COOH	THC: 0,05 – 10 ng/mg, in most cases < 2 ng/mg THC-COOH: 0,2 – 50 pg/mg, in most cases < 5 ng/mg
Methadone	0,2 ng/mg for methadone 0,05 ng/mg for EDDP	0,2 – 50 ng/mg
Buprenorphine	0,01 ng/mg for buprenorphine0,01 ng/mg for norbuprenorphine	< 1 ng/mg

ANALISI DEL CAPELLO

La SoHT nelle proprie Linee Guida riporta che:

EtG

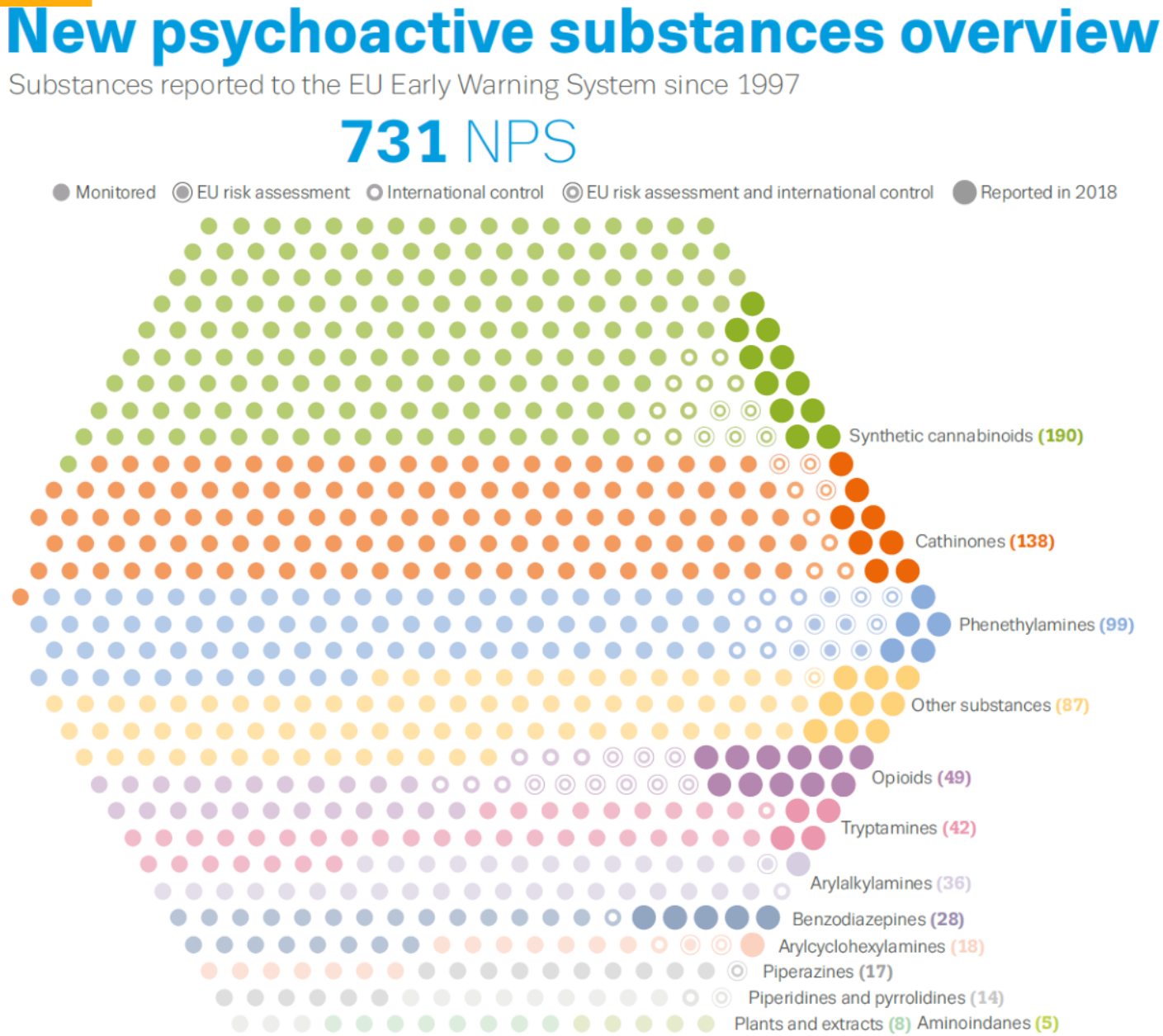
- le analisi di EtG con un risultato uguale o **inferiore a 5 pg/mg nel segmento prossimale dai 3 cm fino ai 6** cm non contraddicono il soggetto che ha riportato **astinenza da alcool**;

- le analisi di EtG con un risultato **superiore a 5 pg/mg** nel segmento prossimale dai 3 fino ai 6 cm suggeriscono un **consumo di alcool ripetuto**;

- una concentrazione **uguale o superiore a 30 pg/mg** nel segmento prossimale compreso dai 3 fino ai 6 cm depone fortemente per un **eccessivo consumo cronico di alcool**.

I cut-off segnalati sono applicabili sia al capello che alle matrici pilifere ad esclusione del pelo ascellare;

NPS (Fonte EMCDDA – EU drug market report – 2019)

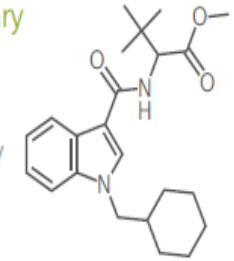


NPS (Fonte EMCDDA – EU drug market report – 2019)

Synthetic cannabinoids — MDMB-CHMICA

First detected: September 2014, Hungary

MDMB-CHMICA is typically sold as a 'legal' replacement for cannabis. Because of its high potency and the way that 'legal high' products are produced, users are at risk of serious poisoning.



29 deaths in 6 countries

Risk assessment: Jul 2016
European drug control: Feb 2017
International drug control: 2017

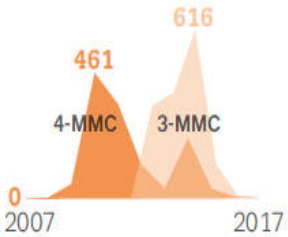
Number of detections

Cathinones — mephedrone (4-MMC)

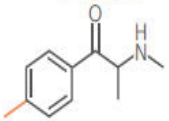
First detected: March 2008, Finland

Mephedrone was sold as a 'legal' replacement for a cocaine and MDMA or mixed with or sold as these a chemically similar cathinone, appeared in 2012.

Quantity seized (kg)



4-MMC

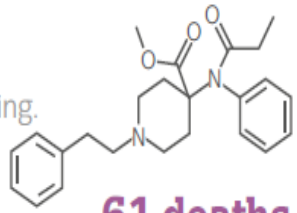


Risk assessment: Ju
European drug cont
International drug c

Synthetic opioids — carfentanil

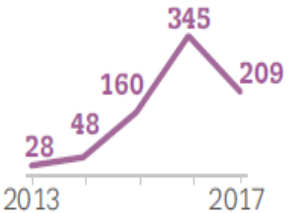
First detected: February 2013, Latvia

One of the most potent opioids known. In overdose it stops people from breathing. Used as a veterinary medicine for the immobilisation of large animals.



61 deaths in 8 countries

Number of detections



50 % of cases detected in mixtures with heroin/fentanyl derivatives.

Risk assessment: Nov 2017
International drug control: 2018

NPS

Nell'ambito del Servizio Nazionale di Allerta Precoce (SNAP):

Due soggetti trai i 40 e i 50 anni in cura al SerD, sottoposti ad un prelievo volontario a scopo scientifico sono risultati positivi:

Carfentanil, Butiril fentanil , THF-F (Tetraidrofuranilfentanil), Ocfentanil e il 3-metil-norfentanil.

Conclusioni:

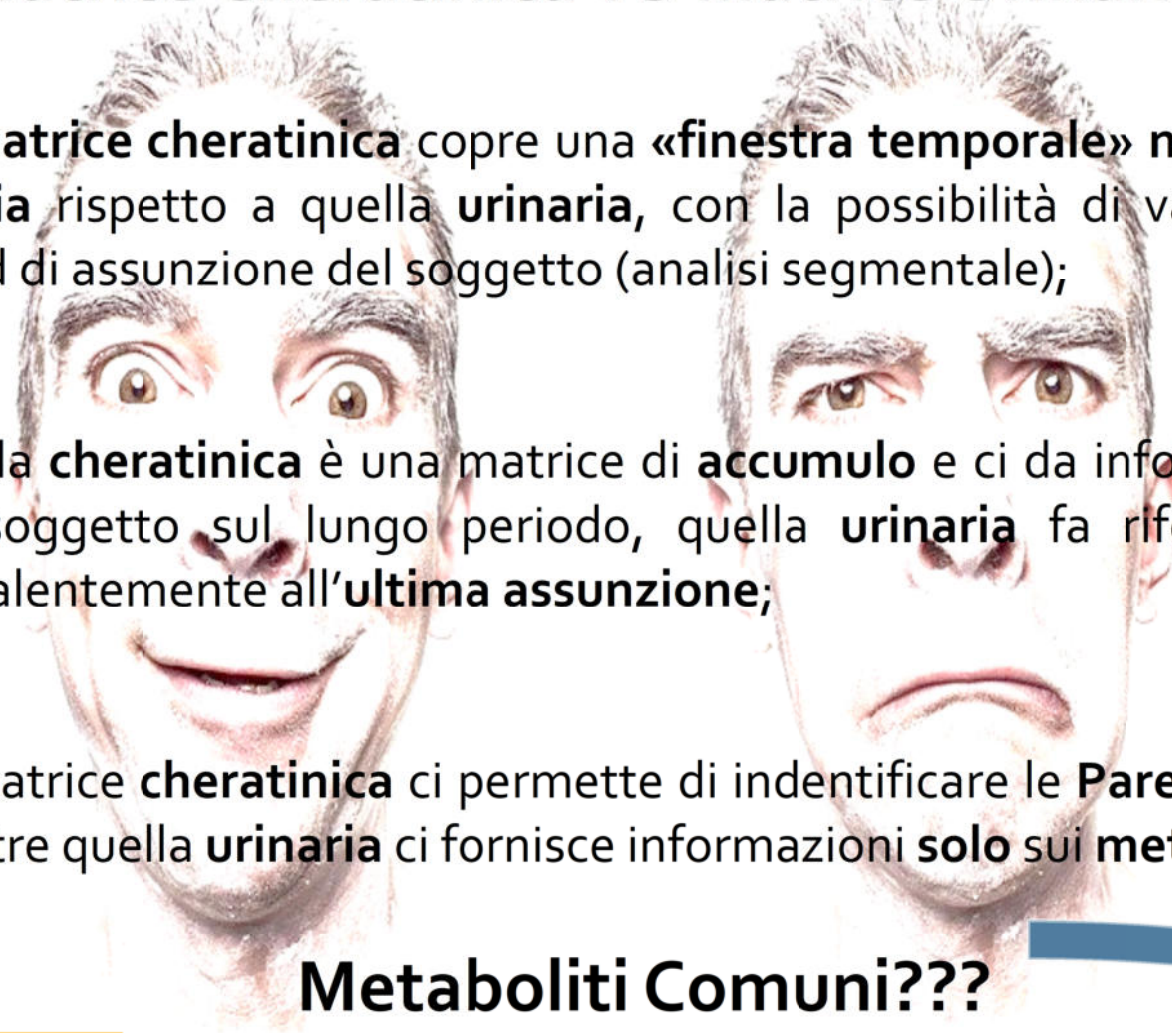
Matrice Cheratinica VS Matrice Urinaria

Aspetti utili ai fini Diagnostici

=

Aspetti Logistici e Rischio Biologico

Aspetti utili ai fini Diagnostici
Matrice Cheratinica VS Matrice Urinaria

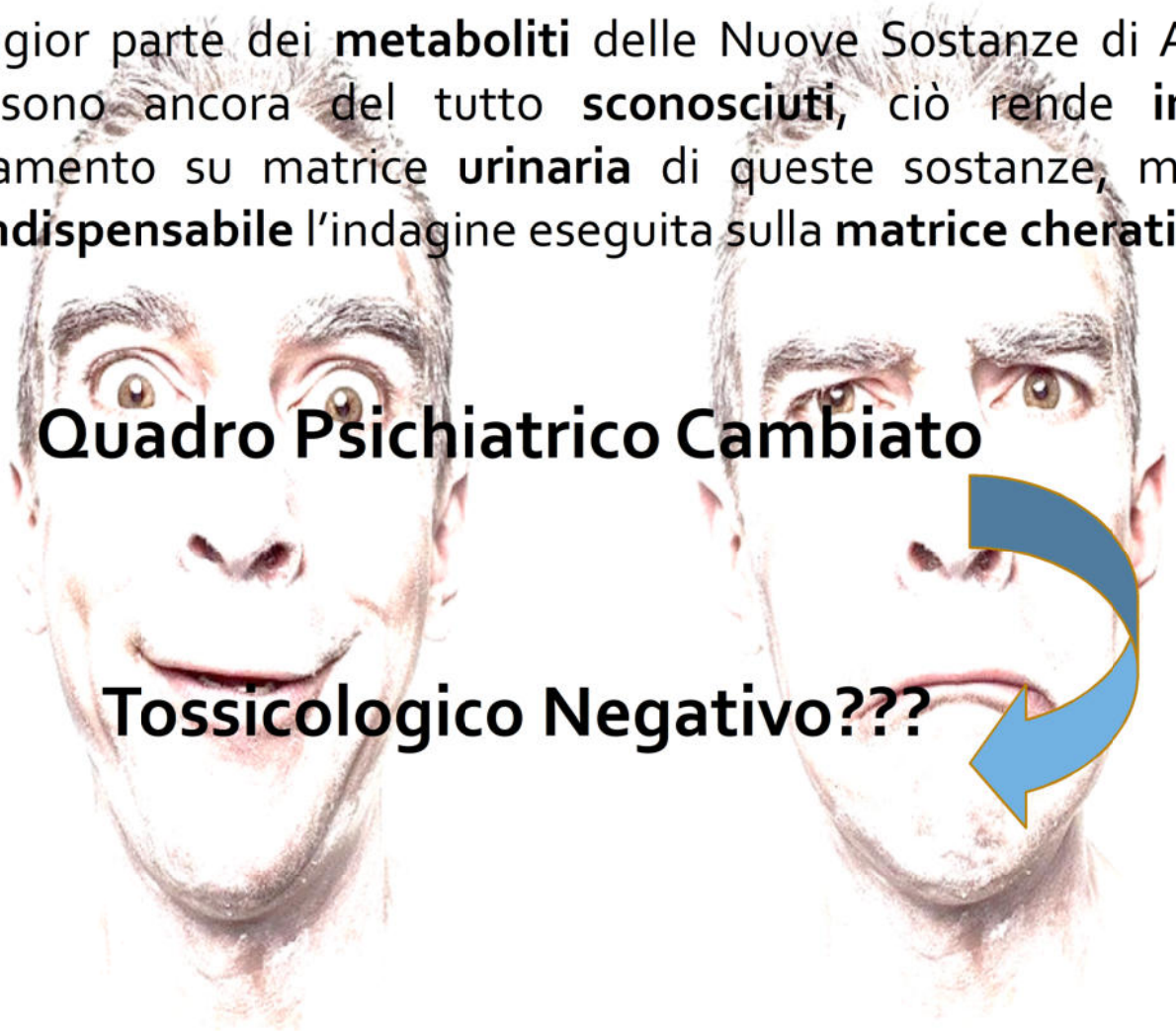


- La **matrice cheratinica** copre una **«finestra temporale» molto più ampia** rispetto a quella **urinaria,** con la possibilità di valutare il trend di assunzione del soggetto (analisi segmentale);
- Quella **cheratinica** è una matrice di **accumulo** e ci da informazioni sul soggetto sul lungo periodo, quella **urinaria** fa riferimento prevalentemente all'**ultima assunzione**;
- La matrice **cheratinica** ci permette di indentificare le **Parent Drug,** mentre quella **urinaria** ci fornisce informazioni **solo** sui **metaboliti**.

Metaboliti Comuni???

Aspetti utili ai fini Diagnostici
Matrice Cheratinica VS Matrice Urinaria

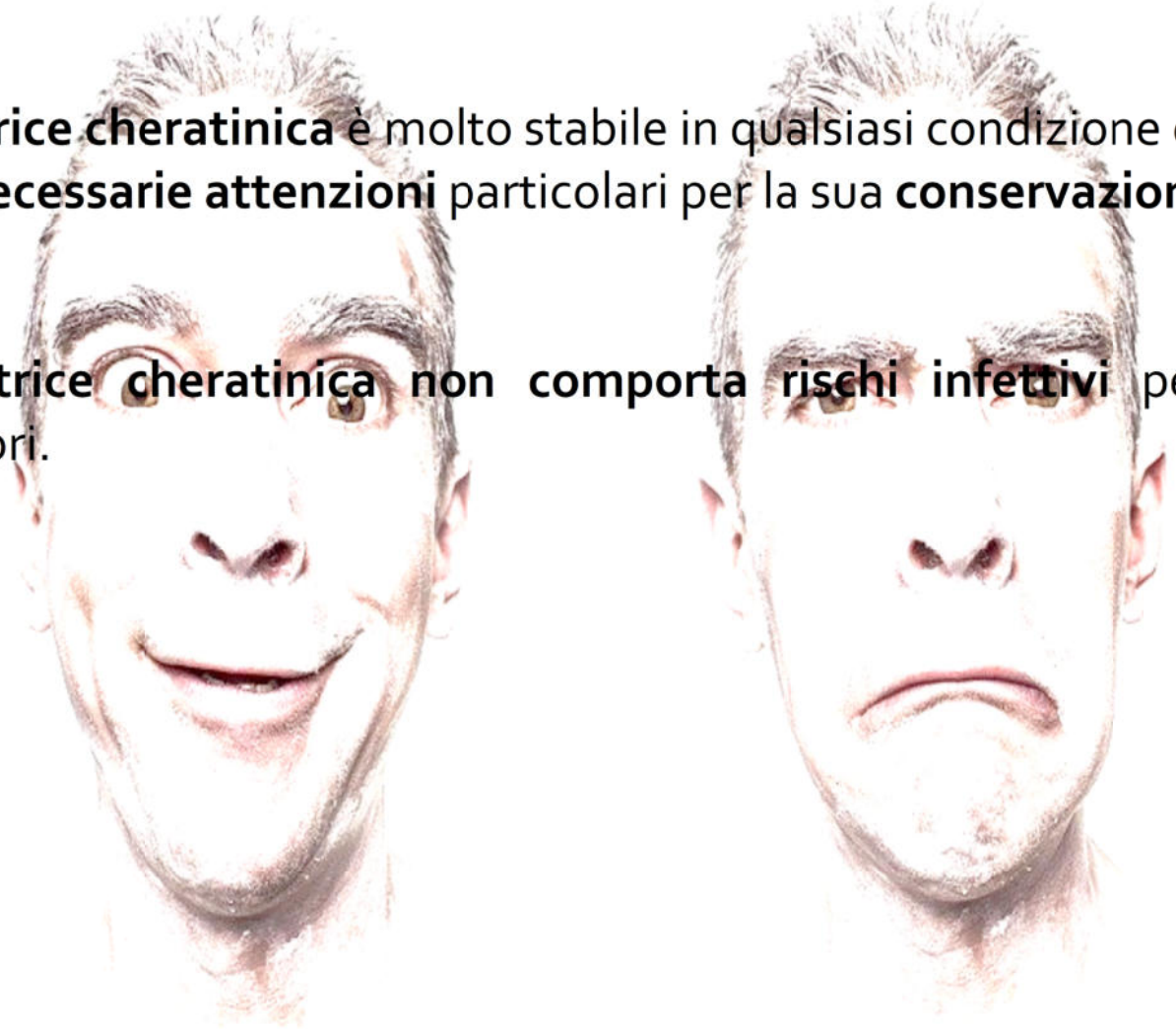
- La maggior parte dei **metaboliti** delle Nuove Sostanze di Abuso (**NPS**) sono ancora del tutto **sconosciuti**, ciò rende **inutile** l'accertamento su matrice **urinaria** di queste sostanze, mentre rende **indispensabile** l'indagine eseguita sulla **matrice cheratinica.**



Aspetti Logistici e Rischio Biologico
Matrice Cheratinica VS Matrice Urinaria

- La **matrice cheratinica** è molto stabile in qualsiasi condizione e **non sono necessarie attenzioni** particolari per la sua **conservazione**.

- La **matrice cheratinica non comporta rischi infettivi** per gli operatori.



Bibliografia:

1. Pascal Kintz, Hair Analysis in Forensic Toxicology: An Uptated Review with a Special Focus on Pitfalls, Current Pharmaceutical Design, 2017, 23, 5480 – 5486.
2. LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITA' TOSSICOLOGICO FORENSI E MEDICO LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE – Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (GTFI) Revisione n.5 29 maggio 2017.
3. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. Forensic Science International 218 (2012) 20-24.