

La ricerca delle sostanze d'abuso su matrice cheratinica





1995 – Fondazione della SOHT, sede a Strasburgo

2003 – Recommendations for Hair Testing in Forensic Cases

**(Canada, Cile, Francia, Germania, Grecia, Italia, Lussemburgo,
Norvegia, Polonia, Portogallo, Spagna, Svezia, Svizzera,
Regno Unito, USA)**

**2009 – Consensus of the Society of Hair Testing on hair
testing for chronic excessive alcohol consumption**

(EtG, FAEE)



Campi di applicazione

- **Evidenza (o non-evidenza) di esposizione cronica alla droga in diversi contesti giuridici**
- **Responsabilità criminale**
- **Affidamento e custodia di minori**
- **Sorveglianza in caso di uso pregresso di droghe d'abuso**
- **Esposizione prenatale a sostanze d'abuso**
- **Studi epidemiologici di prevalenza in popolazioni selezionate**
- **Verifica della compliance nel monitoraggio terapeutico**

Composizione e crescita del capello

Componente primario del capello è la cheratina (65-95% in peso del totale)

Il pH della cheratina è acido, quindi rispetto al sangue il capello accumula sostanze basiche

Il capello cresce con velocità media di 1.0 cm/mese (0.7-1.3)

Analisi su matrice cheratinica

Vantaggi

- droga e metaboliti rimangono sequestrati nel capello senza evidente degradazione nel tempo (finestra di rilevamento più ampia rispetto alle altre matrici)
- il prelievo del capello è relativamente semplice, non invasivo e riproducibile per eventuali ripetizioni
- l'adulterazione del campione è più difficile rispetto all'urina

Svantaggi

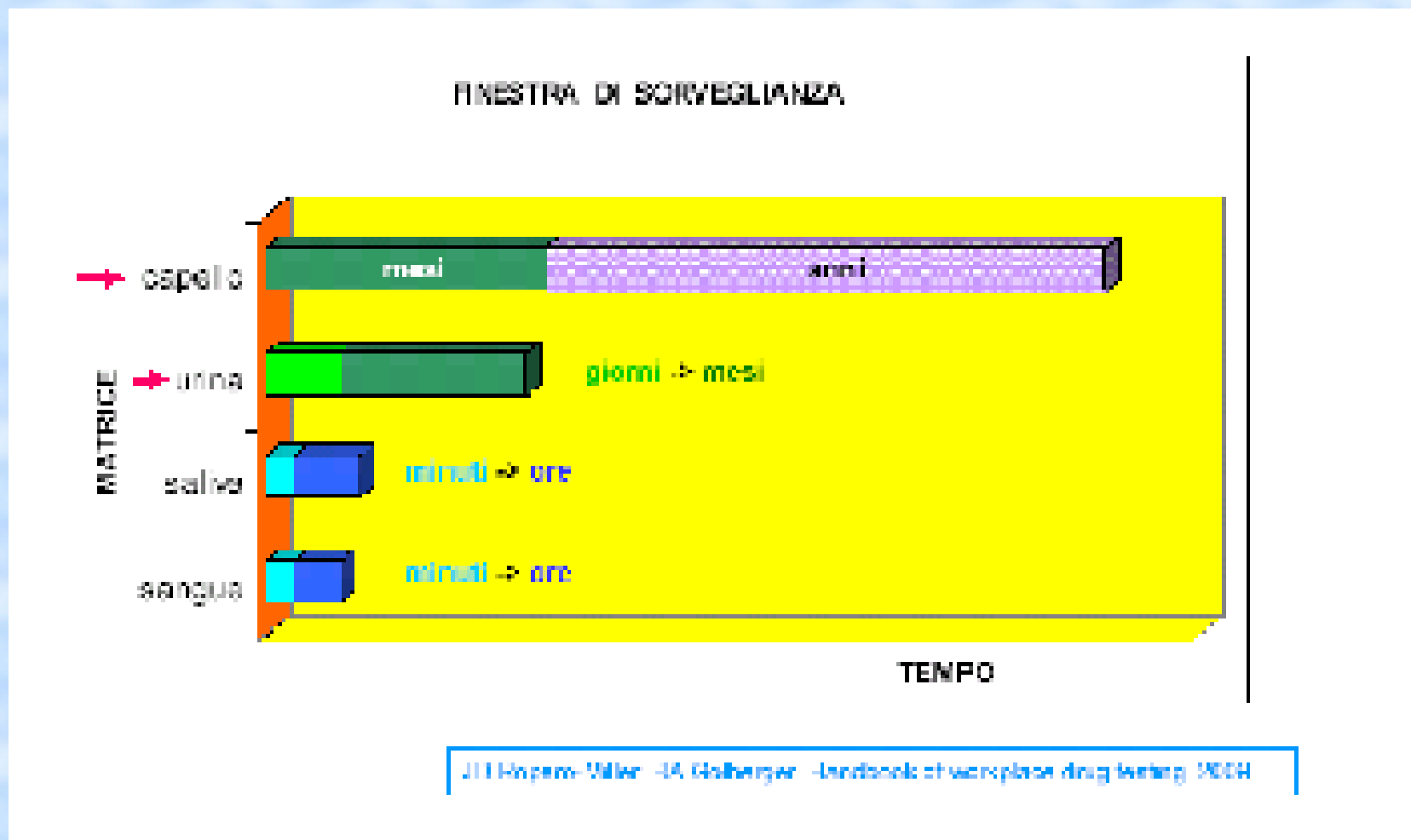
- la matrice cheratinica è più soggetta di altre a contaminazione ambientale (possibilità di FP)
- deviazioni fisiologiche e non-fisiologiche (partecipazione di sudore e sebo all'incorporazione della droga, legame con la melanina, razza, trattamenti cosmetici)
- non esiste relazione dose assunta - concentrazione

Confronto con la matrice urinaria

CARATTERISTICHE DELLE DUE MATRICI BIOLOGICHE IN ESAME

CARATTERISTICHE	URINA	CAPELLO
prelievo	disagevole	comodo/non invasivo
appartenenza al soggetto	non sempre certa	certa
adulterazione	possibile	difficile
contaminazione passiva	difficile	possibile
ripetibilità prelievo	impossibile	possibile
conservazione	4°C/-20°C	temp. ambiente
trasporto	temp. controllata	temp. ambiente
tecnica analitica *	immunochem./cromatografica	immunochem./cromatografica
tempo di risposta	+ /+++	+ /+++
concentrazione in matrice	elevata	bassa
tipo di misura	incremento	cumulativo
analiti principali	metaboliti	sost. madre
finestra di rilevazione *	2/3 giorni	mesi/anni

Finestra di rilevazione delle droghe nelle diverse matrici



MECCANISMI DI INCORPORAZIONE DI XENOBIOTICI NEL CAPELLO

Trasporto dello xenobiotico attraverso la membrana del bulbo pilifero

Biotrasformazione dello xenobiotico

Affinità dello xenobiotico per la melanina

MECCANISMI DI INCORPORAZIONE DI XENOBIOTICI NEL CAPELLO

- **Trasporto attraverso membrana**



- **Grandezza e forma della molecola**
- **Legame con le proteine plasmatiche**
- **Polarità (carattere lipofilo o idrofilo)**
 - **pKa (carattere acido-base)**

MECCANISMI DI INCORPORAZIONE DI XENOBIOTICI NEL CAPELLO

Biotrasformazione

Enzimi di biotrasformazione nel follicolo sono poco attivi (concentrazione *parent-drug* >> concentrazione metaboliti)

Affinità xenobiotico-melanina

(concentrazione nei capelli decolorati/pigmentati = 0,70)

Cosa si trova nei capelli...

SOSTANZE D'ABUSO E METABOLITI PRESENTI IN URINA E CAPELLI

SOSTANZE	URINE	CAPELLI
Ecstasy	HMMA MDMA MDMA	MDMA
Cocaina	BZE Cocaina	Cocaina BZE
Eraina	M-glicuronide M	MAM M H
Metadone	EDDP EMDP Metadone	Metadone EDDP
THC	TH-COOH THC	THC
Nicotina	Colina Nicotina	Nicotina Colina

FATTORI DI VARIABILITÀ

- **XENOBIOTICO**
- **Via di somministrazione** (intranasale > endovenosa)
- **Dose**
- **Vari studi dimostrano assenza di correlazione dose-concentrazione per le principali droghe d'abuso**

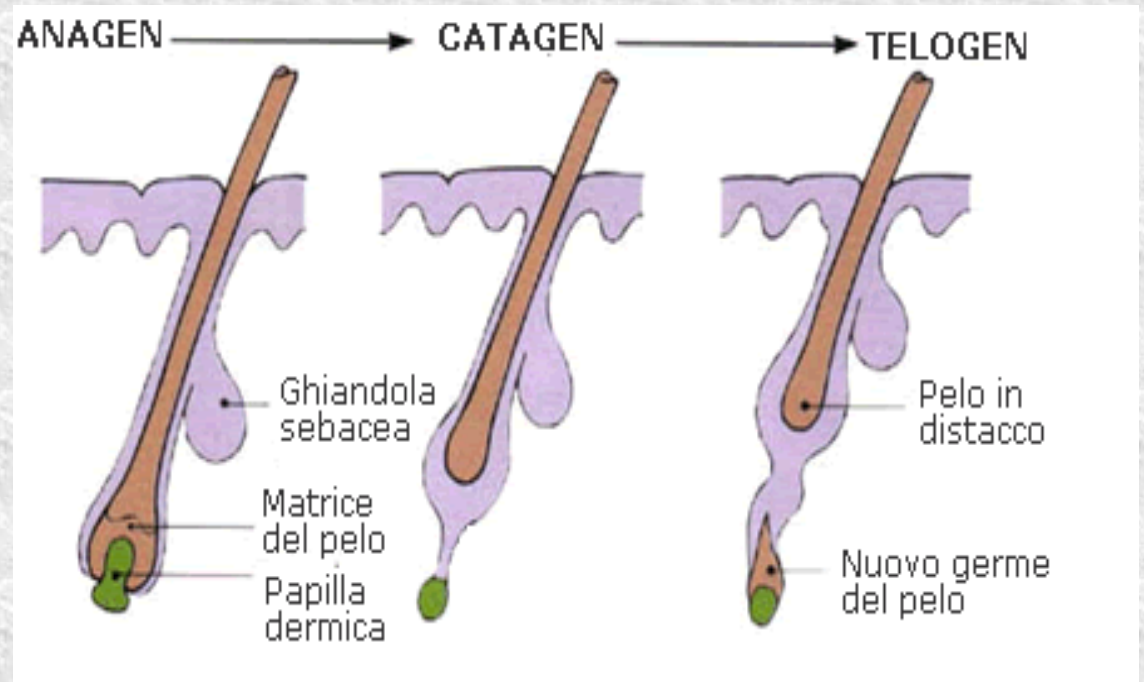


- **Esistono ulteriori fattori di variabilità dipendenti dal capello**

FATTORI DI VARIABILITÀ

- **CAPELLO**
- **Stadio di crescita**
- **Razza**
- **Età**
- **Trattamenti cosmetici**
- **Contaminazione esterna**

FATTORI DI VARIABILITÀ



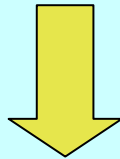
- **Stadio di crescita**
- **Fase anagenica (4-6 anni)**
- **Fase catagenica (qualche settimana)**
- **Fase telogenica (qualche mese)**
- **L'incorporazione dello xenobiotico è massima nella fase anagenica, tuttavia data la crescita irregolare del capello**
- **la correlazione tempo (fase)-distanza dal follicolo è difficile**

FATTORI DI VARIABILITÀ

- **Razza**
- **Incorporazione nel capello di asiatico > africano > caucasico**
- (differenza di melanina, sudore, ghiandole sebacee)

- **Età**
- **Incorporazione nel capello di neonato/bambino > adulto**

- **crescita più lenta del capello**



- **maggiore concentrazione di xenobiotico**

FATTORI DI VARIABILITÀ

Trattamenti cosmetici

decolorazione: stress ossidativo-alcaldino (6-12% H_2O_2 con attivatore persolfato di K o NH_4^+)

permanente: stress ossidativo (apertura dei legami S-S con mercaptani e successivo ripristino con H_2O_2)

tintura: preceduta da decolorazione

La riduzione di
6-MAM, Morfina, Codeina
Cocaina, BEG può arrivare al 90%

Trattamenti cosmetici...ampia letteratura

Int J Legal Med (1997) 110: 159–163

© Springer-Verlag 1997

ORIGINAL ARTICLE

C. Jurado · P. Kintz · M. Menéndez · M. Repetto

Influence of the cosmetic treatment of hair on drug testing



Forensic Science International
84 (1997) 43–52

Forensic
Science
International

On cosmetically treated hair – aspects and pitfalls of interpretation

G. Skopp^{a,*}, L. Pötsch^b, M.R. Moeller^c

^aInstitute of Legal Medicine, Ruprecht-Karls-University, Volkm. 2, D-69115, Heidelberg, Germany

^bInstitute of Legal Medicine, Johannes-Gutenberg-University, Am Palasturm 3,
D-55131 Mainz, Germany

^cInstitute of Legal Medicine, University of the Saarland, D-66421, Homburg / Saar, Germany

Trattamenti cosmetici...ampia letteratura

Influenza dei trattamenti cosmetici dei capelli sulle determinazioni delle droghe e metaboliti

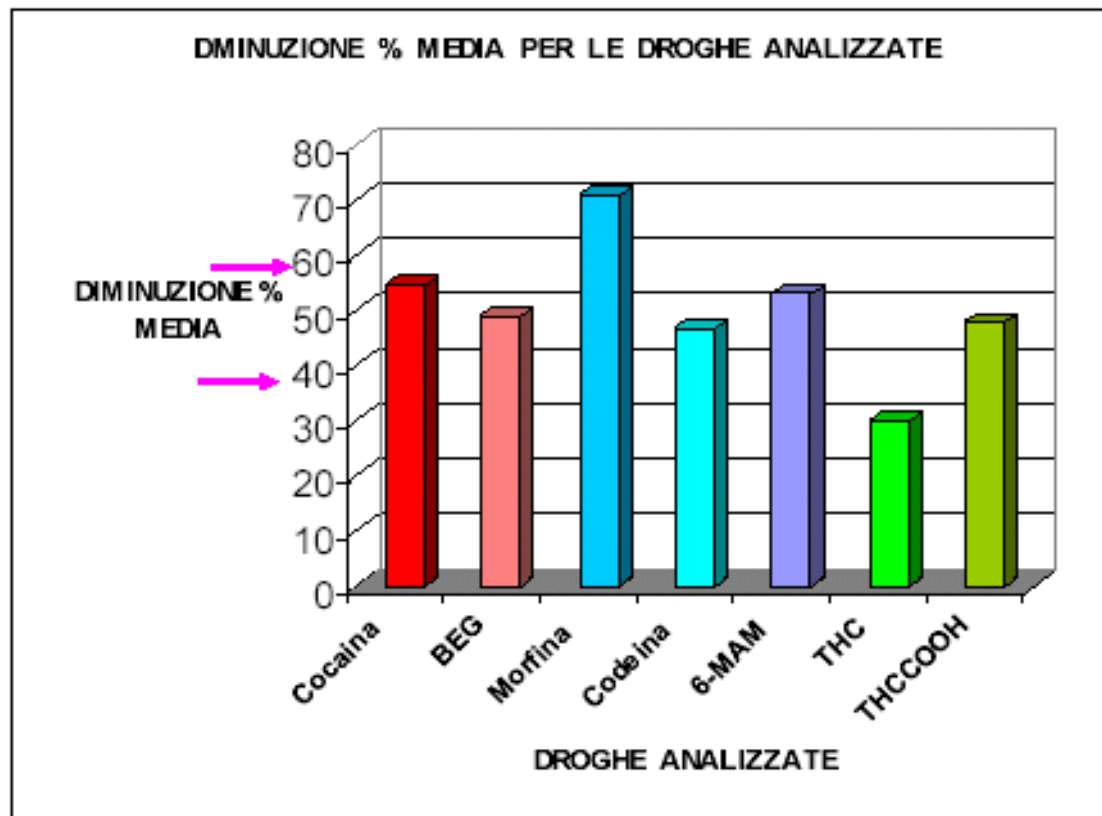
Diminuzione % della concentrazione dei capelli trattati **rispetto** ai capelli non trattati

La diminuzione è
proporzionale al danno
apportato alla matrice
cheratinica

molecola	Capello decolorato media (%)	Capello colorato media (%)
cocaina	66	43
BEG	61	37
morfina	81	61
codeina	69	29
6-MAM	66	41

Trattamenti cosmetici...ampia letteratura

Influenza dei trattamenti cosmetici dei capelli sulle determinazioni delle droghe e metaboliti



Trattamenti cosmetici...ampia letteratura non solo scientifica

Mariuana.it - Il Test del Capello: 2 Metodi per Aggirarlo - Microsoft Internet Explorer

File Modifica Visualizza Preferiti Strumenti ?

Indietro Cerca Preferiti

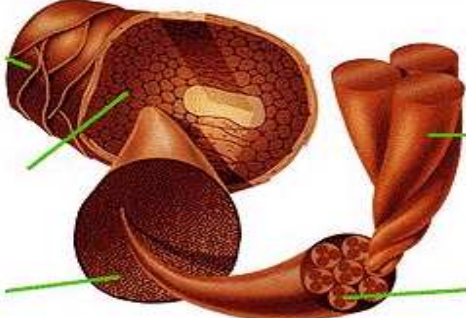
Indirizzo <http://mariuanait.com/modules.php?name=News&file=article&sid=432> Vai Collegamenti >>

Menù

- Home
- Tutti gli Articoli
- Altri Contenuti
- Downloads
- FAQ
- Forum
- Game
- Il Tuo Account
- Immagini
- Inserisci Articolo
- Messaggi Privati
- M it FAQ
- New Search
- Scrivici ...
- Sondaggi
- Top

Marijuana & Legge: Il Test del Capello: 2 Metodi per Aggirarlo

Posted by [Webmaster](#) on 02 giugno 08



Ciao, sono contento che rendiate pubblica questa cosa. Bisogna iniziare a tutelarci fra di noi visto che stiamo andando sempre più verso l'assurdo. Spero possa aiutare più gente possibile questo metodo. Prima di spiegare il tutto però vorrei partire dalle basi.

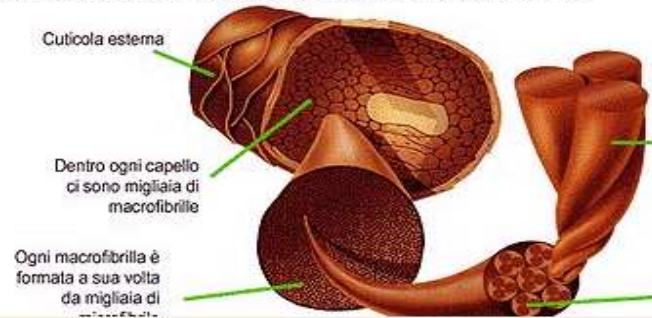
Parte 1 - Il Capello

Il capello è formato da 3 parti

- una parte esterna detta cuticola
- una parte sotto la cuticola detta corteccia
- una parte all'interno della corteccia detta midollo

Quando si fa uso di droghe, i metaboliti vengono trasportati dal sangue all'interno del capello attraverso le vene. Siccome il nostro organismo per sua natura tende a eliminare tossine, questi metaboliti passano dalla parte più interna del capello (midollo) verso la corteccia non riuscendo ad andare oltre a causa della cuticola (parte esterna del capello) che è la barriera dei capelli fatta con una struttura tipo tegole molto difficile da penetrare.

I metaboliti si depositano quindi in questa zona. I normali shampoo, quelli all'aloè vera o gli shampoo detossificanti che vendono in America, non riescono a penetrare nella corteccia quel tanto da purificarla. Per fare ciò, abbiamo bisogno di agenti chimici più potenti.



Cuticola esterna

Dentro ogni capello ci sono migliaia di macrofibrille

Ogni macrofibrilla è formata a sua volta da migliaia di microfibrille

Ogni proteofibrilla è costituita da tre eliche di cheratina avvolte su sé stesse

Ogni microfibrilla è costituita da proteofibrille

Login

Nickname

Password


Non hai ancora un tuo account? [Crealo Qui!](#). Come utente registrato potrai sfruttare appieno e personalizzare i servizi offerti.

Links & Argomenti Correlati

Articoli più Letti su Analisi:

1. ANALISI DELLE URINE (120486)
2. Il Test del Capello: 2 Metodi per Aggirarlo (28048)
3. 2003 - Marijuana e Donare il Sanque? (19953)
4. SHAMPOO ANTI-THC - DA NON PROVARE !!! (18288)
5. Sostituzione dell'Urina, Urina Sintetica & Urinator (13748)

Argomenti



start | Menu Principale | Gestione Operativa | capello.odp - OpenOf... | Mariuana.it - Il Test d... | IT | 14:23

FATTORI DI VARIABILITÀ

Trattamenti cosmetici

Il sito web MARIJUANA.IT consiglia 2 metodi per “passare” il test sul capello

1) trattamento con **NaHCO₃** (basico, serve ad aprire la cuticola), seguito da **Topexan** (detergente) e da 2-3 lavaggi con **NaClO** (ossidante, distrugge la droga)

2) decolorazione con **H₂O₂** seguita da **tintura** di un **colore simile al proprio**

I 2 trattamenti devono essere alternati e/o ripetuti per **2-3 volte al giorno** da almeno 1 settimana prima del prelievo e seguiti dall'applicazione di **almeno 5 balsami al giorno!**

FATTORI DI VARIABILITÀ

D'altra parte, la letteratura internazionale è ancora più esaustiva..... Digitando:

Pass Hair Drug Test

su Google si trovano **918000 risultati in 0,15 secondi.....**



PASS HAIR DRUG TEST

Cerca

[Ricerca avanzata](#)Cerca: nel Web pagine in Italiano pagine provenienti da: ItaliaWeb [+ Mostra opzioni...](#)Risultati **1 - 10** su circa **918.000** per **PASS HAIR DRUG TEST**. (0,15 secondi)**Pass Hair Drug Test** - [[Traduci questa pagina](#)]

If you have an important **hair** test coming do risk it. Get the Best! Your Price: 35.95. Qty: Aloe Rid will help you **pass a hair drug test** ...

www.testclear.com/Pass-Hair-Drug-Test-C2.aspx - [Copia cache](#) - [Simili](#)**How to Pass a Drug Test** - wikiHow - [[Traduci questa pagina](#)]

15 Sep 2010 ... The easiest way to **pass** such a test is not to take the drugs being ... A **hair drug test** involves cutting 50-80 strands of **hair** from the base ...

www.wikihow.com/Pass-a-Drug-Test - [Copia cache](#) - [Simili](#)**Hair Test Information** - [[Traduci questa pagina](#)]

hair drug test solutions to pass a drug test **pass hair drug test** is guaranteed ... passing a hair drug test is easy with ultra clean shampoo ...

www.alwaystestclean.com/hair_drug_test.htm - [Copia cache](#) - [Simili](#)**Pass Hair Follicle Drug Test - Hair Drug Testing** - [[Traduci questa pagina](#)]

Pass a Drug Test. Random, Permanent and Same Day Solutions. **Drug Testing Kits** Designed for **Passing** Any Urine, Blood, Saliva or **Hair Follicle Drug Test**.

www.ipassedmydrugtest.com/hair_follicle_drug_test_products.asp - [Copia cache](#) - [Simili](#)**Pass The Drug Test, Guaranteed! Buy 2, Get 1 FREE and Pass Drug Test!** - [[Traduci questa pagina](#)]

Do you need to **pass** a urine **drug test**, a blood **drug test**, a **hair drug test** or **pass** a saliva **drug test**? We have all the solutions you need in order to beat ...

www.passthedrugtest.com/ - [Copia cache](#) - [Simili](#)how can i **pass a hair drug test** - [[Traduci questa pagina](#)]

I need to **pass a hair drug test** tomorrow! How can i do it?

Link sponsorizzati

Vendita Test Antidroga

Disponibili per: Ospedali, Polizia, Medicina del Lavoro, Rivenditori, ecc
www.screenitalia.it/TestAntidroga

[Visualizza il tuo annuncio qui »](#)

Internet



Menu Principale



Gestione Operativa



capello.odp - OpenOf...



PASS HAIR DRUG TE...



IT 14:16

Alcuni prodotti in commercio



\$35.99

BUY NOW!

Congratulations! You have just passed your drug test!



Effect of the shampoo Ultra Clean on drug concentration in human hair

Rohrich J, et al. Int J Legal Med 2000; 113:102-6

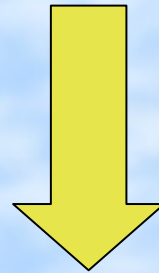
droga	decremento della droga
cocaina	5%
6-MAM	9%
morfina	26%
THC	36%

Un singolo trattamento con lo shampoo Ultra Clean non rimuove le droghe in maniera tale da non essere rilevate con i metodi analitici utilizzati. *Rohrich J, et al. 2000*

FATTORI DI VARIABILITÀ

Contaminazione esterna

per sostanze presenti in fase di vapore (crack, THC)



**necessità di lavaggio del campione di capelli
con solventi organici e/o tamponi acquosi come riportato nelle
Linee Guida ISS**

LINEE GUIDA ISS PER L'ANALISI DEL CAPELLO

- **1 - PRELIEVO**
- **2 - LAVAGGIO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE**
- **3 - DIGESTIONE DELLA MATRICE CHERATINICA**
- **4 - ESTRAZIONE DEGLI ANALITI**
- **5 - ANALISI DI SCREENING**
- **6 - ANALISI CROMATOGRAFICA DI CONFERMA**
- **7 - ESPRESSIONE DEI RISULTATI**

1 - Prelievo dei capelli

- Deve essere effettuato in un ambiente non contaminato e da personale istruito
- Selezionare una ciocca delle dimensioni di una matita dalla zona nucale
- Arrotolarla su sè stessa prima del taglio per effettuare una recisione uniforme
- Usare forbici lavate con alcool e ben asciutte
- Quantità sufficiente per analisi ed eventuale conferma (almeno 200 mg).
- Se i capelli sono lunghi, evidenziare la parte prossimale annodando uno spago entro 0.5 cm dal taglio
- Se i capelli sono corti, evidenziare comunque la parte prossimale avvolgendola con alluminio o fissandola su foglio di carta
- Se sono più corti di 1 cm. prelevare **peli ascellari e/o pubici**
- L'analisi deve essere eseguita su un segmento misurato

Prelievo dei peli ascellari e pubici

L'utilizzo dei peli ascellari e pubici è richiesto nel caso di rasatura della testa o di forte decolorazione dei capelli

I peli ascellari devono essere prelevati da entrambe le ascelle

I campioni positivi all'analisi del capello sono risultati positivi anche all'analisi dei peli

I peli pubici hanno concentrazioni più alte delle altre formazioni pilifere (velocità di crescita minore)

**Cellesi V., Bertol E., Di Milia M.G., Meini M., Trignano C., Mari F.
Bollettino per le farmaco-dipendenze e l'alcolismo
XXVII, N.3-4/2004, 31-36**

CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Conservare i campioni in busta di carta **a temperatura ambiente** con identificazione di:

TIPO DI CAMPIONE (CAPELLI, PELI)

DATA DEL PRELIEVO

NOME DEL PAZIENTE

IDENTIFICATIVO RICHIESTA

VERBALE DI PRELIEVO

**COMPILARE UNA SCHEDA
CON I DATI DEL SOGGETTO
COMPRESI EVENTUALI
TRATTAMENTI COSMETICI**

VERBALE RACCOLTA CAMPIONE IDEOLOGICO CHIEMTICO	
Struttura Indirizzo	
Città del paziente Ora del prelievo	
N. prog. /flascio	
Lunghezza approssimativa campione da ritirare al momento del prelievo. (cm) (N.B.: dopo essere raccolto - mediante taglio alla radice - un campione di lunghezza non inferiore a 2-3 cm)	
Dati del soggetto	
Cognome Nome	
Data di nascita Luogo di nascita	
Residenza in Residenza telefonica	
Descrizione di identità tipica numero	
Dati del Medico o Personale che ha il prelievo	
Cognome Nome	
NOTE	
In caso di rasatura avvenuta nelle 48 ore precedenti al prelievo, indicare la data e l'ora:	
.....	
.....	
.....	
Trattamenti cosmetici per capelli usati nei 30 giorni precedenti al prelievo:	
.....	
.....	
.....	
Causa naturale dei capelli:	
Esempi: alopecia del Medico/Suntati a	
Esempi: dichiarazioni a capelli e del soggetto:	
Attenzione! Alla partenza del lavoratore, il campione chimico non deve essere conservato per un periodo superiore a 24 ore. Il campione deve essere conservato in un contenitore sigillato e etichettato nel momento stesso del prelievo. Il campione deve essere conservato in un contenitore sigillato e etichettato nel momento stesso del prelievo. Il campione deve essere conservato in un contenitore sigillato e etichettato nel momento stesso del prelievo.	
.....	
Firma del lavoratore: Firma del Medico / Sanitario addetto:	
Il presente verbale deve essere archiviato in due copie:	
- Copia del verbale per il lavoratore	
- Copia del verbale per il Medico/Suntati a (o altro personale)	
- Copia del verbale in qualità di archivio per essere conservato in un contenitore sigillato e etichettato.	

2 - Lavaggio e preparazione del campione

- Eliminare le sostanze depositate nella parte esterna **senza estrarre quelle incorporate all'interno** (effetto della scelta del/dei solventi e del tempo di contatto)



Esempio:

“lavare i capelli integri in provetta di vetro da 10 ml
2 volte con 2 ml di CH_2Cl_2 ,
vortex 1 min., centrifugare 5 min.”
(SIBIOC)

- Asciugare su carta bibula o in corrente di N_2
- Triturare con forbici (1-3 mm.) o polverizzare con mulino a sfere

Preparazione del campione

- Il mulino a sfere è la procedura di elezione perchè, massimizzando la superficie esposta, facilita la successiva fase di digestione

Giare di macinazione "comfort" per PM 100, PM 200 e PM 400

Risultati di macinazione ottimizzati

Il risultato e le performance di riduzione dipendono tanto dalla tipologia di giare di macinazione utilizzate quanto dal livello di riempimento della stessa, vale a dire dal numero di sfere impiegate. La scelta va fatta in funzione della quantità di campione processato nonché dei requisiti di finezza finale e di garanzia richiesti dalla successiva procedura analitica.

Le giare di macinazione della serie "comfort" sono state sviluppate in particolare per condizioni sperimentali estreme quali test di lunga durata, elevati stress meccanici, massimi regimi di rotazione nonché per l'illuminazione meccanica.

Nei modelli PM 100 e PM 400 ciascuna stazione di macinazione è predisposta per poter impiegare due giare di macinazione "comfort" da 50 - 50 ml. L'impiego delle giare da 50 ml richiede l'impiego di un apposito adattatore opzionale, mentre le giare più piccole possono essere impiegate direttamente l'una sull'altra.



I vantaggi esclusivi delle giare di macinazione "comfort"

- Particolarmente facili e sicure nell'uso
- Accoppiamento a rotazione simultaneo grazie alla protezione antiribaltone integrata e al sistema di centraggio a spina del fondo giara
- Esecuzione con guarnizione per macinazione ermetica ai gas e alle polveri
- Pressa spaziale e sicura grazie ai bordi ergonomici di giare e coperchi
- La distanza tra i bordi del coperchio e giara facilita l'apertura di quest'ultima
- Guaina protettiva in acciaio inox (per giare in agata, ossido di alluminio stabilizzato, ossido di zirconio e carburo di tungsteno)
- Identificazione univoca della giara (codice di riferimento, materiale e volume)
- Superficie liscia per assicurarsi da parte dell'operatore (ad es. materiale contaminato)

All'interno di apposite giare ruotanti vengono poste sferette di materiale e dimensioni adatte ad ottenere granulometrie diverse del capello

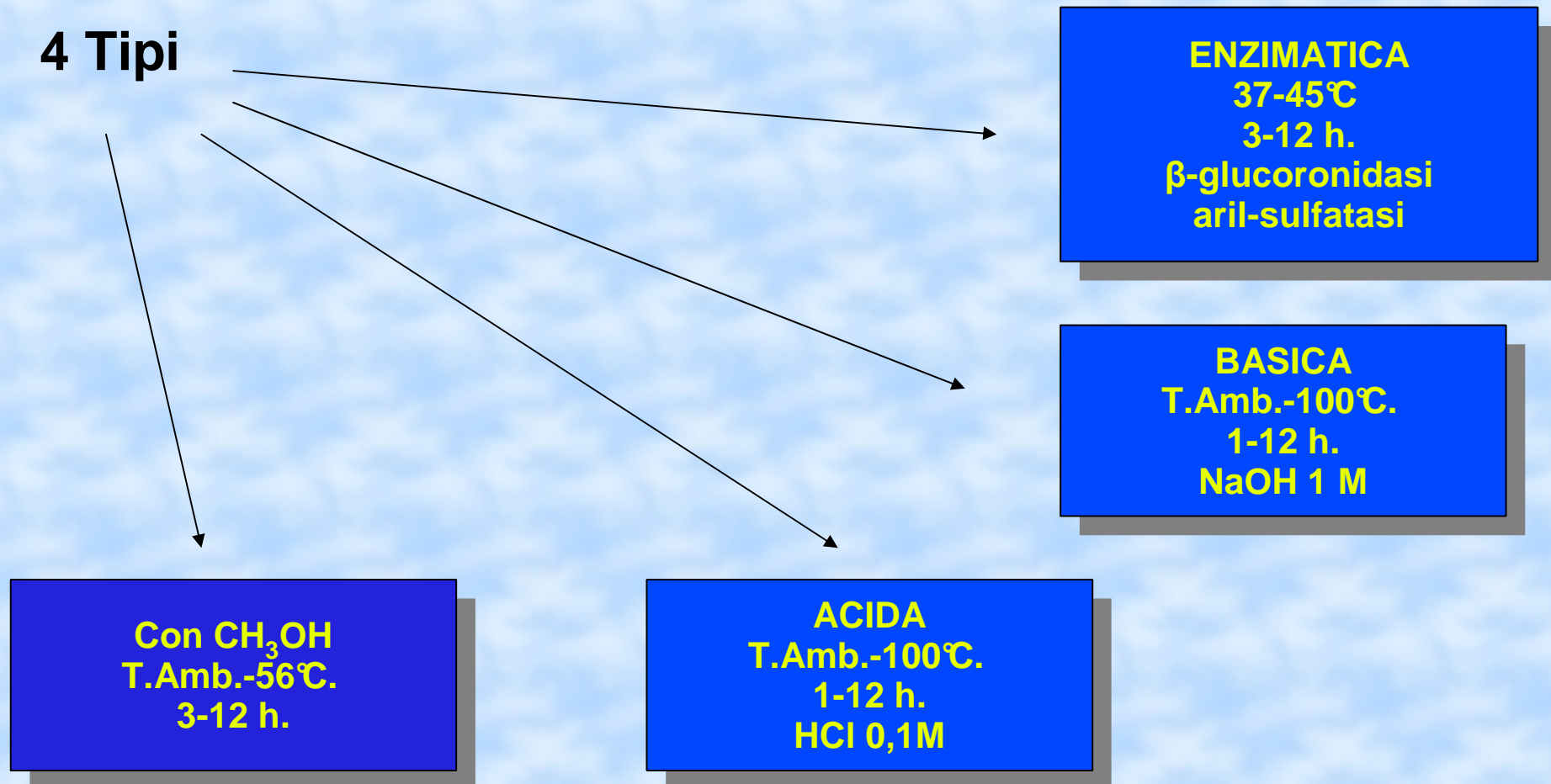
Esame segmentale

- È richiesto per attribuire il consumo di droga ad un determinato periodo di tempo (si assume crescita di 1 cm/mese)
- Tagliare una ciocca dall'attaccatura alla punta
- Fissare le 2 estremità su carta bibula
- Tagliare segmenti di 1 cm a partire dalla punta
- Identificare i segmenti con numero progressivo
- 1° cm dall'attaccatura = ultimo mese
- 2° cm dall'attaccatura = penultimo mese
- ecc.....

3 - Digestione della matrice cheratinica

- Ha lo scopo di estrarre in maniera selettiva e quantitativa gli analiti di interesse dall'interno della matrice senza modificare chimicamente gli analiti stessi

- 4 Tipi



Digestione enzimatica

- **VANTAGGI**

- È selettiva (soft), non distrugge gli analiti di interesse

- **SVANTAGGI**

- È poco riproducibile (necessario controllo della temperatura e del pH)
- Idrolizza 6-MAM (marker reale del consumo di eroina)
- Per l'analisi cromatografica è necessaria la successiva estrazione degli analiti liberati dalla matrice

Digestione basica

- **VANTAGGI**

- **Economica e veloce**
- **Buona per THC e Benzodiazepine**

- **SVANTAGGI**

- **Idrolizza Eroina, 6-MAM e Cocaina**
- **Per l'analisi immunochimica è necessaria neutralizzazione per evitare denaturazione degli Ab**
- **Per l'analisi cromatografica è necessaria la successiva estrazione degli analiti liberati dalla matrice**

Digestione acida

- **VANTAGGI**

- **Economica e veloce**

- **SVANTAGGI**

- **Non assicura la completa dissoluzione della matrice**
- **Idrolizza Eroina e 6-MAM**
- **Per l'analisi immunochimica è necessaria neutralizzazione per evitare denaturazione degli Ab**
- **Per l'analisi cromatografica è necessaria la successiva estrazione degli analiti liberati dalla matrice**

Digestione con CH₃OH

- **VANTAGGI**

- **Idrolisi assente (si ritrovano le *parent drug*)**
- **Per l'analisi cromatografica non è necessaria la successiva estrazione degli analiti liberati dalla matrice**

- **SVANTAGGI**

- **Non assicura la completa dissoluzione della matrice cheratinica**
- **Potere estrattivo ridotto soprattutto per analiti apolari**

4 - Estrazione degli analiti

- **LLE (estrazione liquido-liquido) con solvente organico o miscele di solventi organici (butanolo, isopropanolo, CHCl_3 , CH_2Cl_2) a pH controllato**
- **SPE (estrazione in fase solida) su cartucce a fase inversa tipo C18 a pH controllato**

5 - Analisi

Metodo immunochimico

I kit disponibili per l'analisi su urina devono essere validati per la matrice cheratinica (range di linearità, sensibilità e specificità diagnostiche, curve ROC)

Difficoltà di stabilire cut-off

Gli Ab devono avere alta cross-reattività verso la sostanza parente (essendo invece “costruiti” per i metaboliti)

5 - Analisi

Metodo immunochimico

- **Metodica COMEDICAL**
- **Linea VMA-T per il pretrattamento e l'analisi della matrice cheratinica (dopo lavaggio e sminuzzamento del campione)**
- **Controlli in matrice reale**
- **Calibratori pronti all'uso**
- **Reattivo di digestione e idrolisi (100° C per 1 h.)**
 - **Le sostanze parenti sono convertite nel metabolita (es.cocaina → BEG, 6-MAM → morfina) per essere riconosciute dagli stessi Ab dell'urina)**

• Si può analizzare la matrice cheratinica con gli stessi reattivi e gli stessi strumenti che si usano per lo screening dell'urina

5 - Analisi Metodo immunochimico

Forensic Science International 196 (2010) 18–21



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/forsciint



High throughput analysis of drugs of abuse in hair by combining purposely designed sample extraction compatible with immunometric methods used for drug testing in urine

R. de la Torre^{a,b,*}, E. Civit^a, F. Svaizer^c, A. Lotti^c, M. Gottardi^c, M. Miozzo^c

^a Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM-Hospital del Mar), Human Pharmacology and Clinical Neurosciences Research Group, Neuropsychopharmacology Program, Barcelona, Spain

^b Universitat Pompeu Fabra (CEXS-UPF), Barcelona, Spain

^c Laboratorio di Sanità Pubblica (LSP) – Azienda Provinciale Servizi Sanitari, Trento, Italy

5 - Analisi

Metodo immunochimico

Forensic Science International 196 (2010) 118–120



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/forsciint



Buprenorphine detection in hair samples by immunometric screening test:
Preliminary experience

Fiorenza Svaizer *, Andrea Lotti, Massimo Gottardi, Maria Pia Miozzo

Laboratorio Sanità Pubblica – Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari, Trento, Italy

5 - Analisi

Metodo immunochimico

Studio multicentrico nazionale per la valutazione della potenza analitica di un metodo di dosaggio delle sostanze d'abuso in matrice cheratinica

C. Leonardi¹, C. Assi², C. Bandini⁹, N. Broccoli¹, C. D'Angelo⁹, P.F. D'Egidio³, I. Dell'Eva⁶, N. Della Torre³, E. Faedda¹, M. Gottardi⁶, P. Laurenzi¹, M. Lodolini⁴, M. Calligara⁵, F. Lodi⁵, A. Lotti⁶, R. Lovaste⁷, M. Miozzo⁶, F. Nava⁸, C. Pieri⁹, L. Rocchi¹, G. Ventre¹, F. Svaizer⁶, A. Lucchini²

	MONITORAGGIO URINARIO	MONITORAGGIO CAPELLO
Pazienti	100	100
Frequenza prelievi (giorni)	5	73
Numero prelievi/paziente/anno	73	5
Numero prelievi totali/anno	7300	500
Numero pazienti al Ser.T. ogni giorno	24,3	1,7
Tempo medio operatore x prelievo "a vista" (min)	3	15
Tempo medio operatore x gestione singolo referto/valutazione (min)	8	8
Tempo totale x prelievo (min)	6	18
Tempo complessivo x tutti i prelievi/anno (ore)	730	150
Operatori occupati x (mesi)	5	1
Risparmio tempo complessivo utilizzando il capello per il monitoraggio (ore)	580	

	MONITORAGGIO URINARIO	MONITORAGGIO CAPELLO
Pazienti	1	1
Frequenza prelievi (giorni)	5	73
Numero prelievi/anno	73	5
Numero parametri richiesti	6	6
Costo unitario parametro urinario (€) (Tarif. Naz. Is)	7,00	
Costo totale x prelievo urinario (6 parametri)	42,00	
Costo unitario param. cheratinico (€) (Tarif. Naz. Is)		7,00
Costo prodotti linea VMA-T (€)		19,00
Costi aggiuntivi laboratorio x allestimento metodica di indagine cheratinica (€)		0,00
Costo totale x prelievo cheratinico (6 parametri)		69,00
Costo totale/prelievi/anno (€)	5.066,00	345,00
Risparmio utilizzando monitoraggio cheratinico (€)	2.721,00	
Risparmio utilizzando monitoraggio cheratinico (%)	89,7	

6 - ANALISI CROMATOGRAFICA DI CONFERMA



La SOHT raccomanda, indipendentemente dall'esecuzione dell'analisi di screening, l'utilizzo delle tecniche **GC-MS** e **LC-MS** per l'analisi definitiva.

In caso di campioni con esclusiva finalità clinica non esclude però la possibilità di accoppiare alla LC rivelatori convenzionali (**UV, DAD**)

Naturalmente i metodi devono essere validati per la matrice cheratinica

RILIEVO COCAINA SU MATRICI PILIFERE : CONFRONTO EMIT - GC/MS



S. Manzoni, M. Bernini, D. Ruffini, E. Saligari, S. Vezzoli, F. De Ferrari

Istituto di Medicina Legale, Università degli Studi di Brescia

45 campioni analizzati

18 negativi (40%) EMIT e GC-MS

27 positivi (60%) EMIT e GC-MS

**Sommando le concentrazioni GC-MS
di cocaina e BEG i risultati
numerici sono molto simili a quelli EMIT**

CAMPIONI DI CAPELLI NEGATIVI (< 0,5 ng/mg)

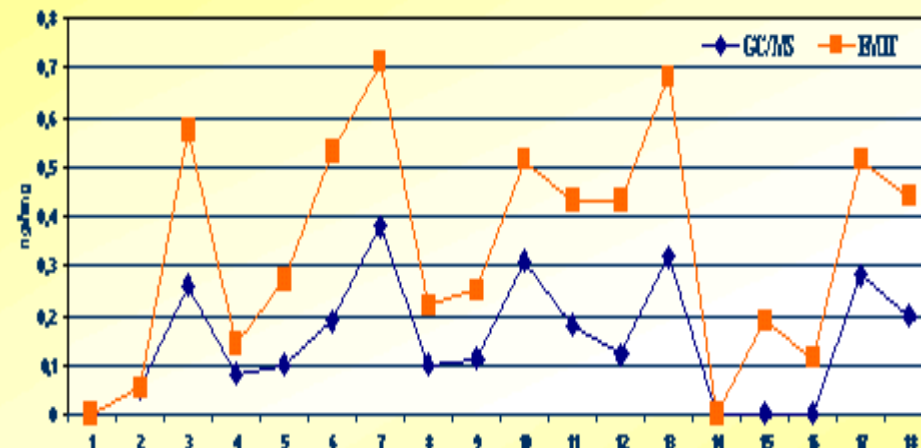
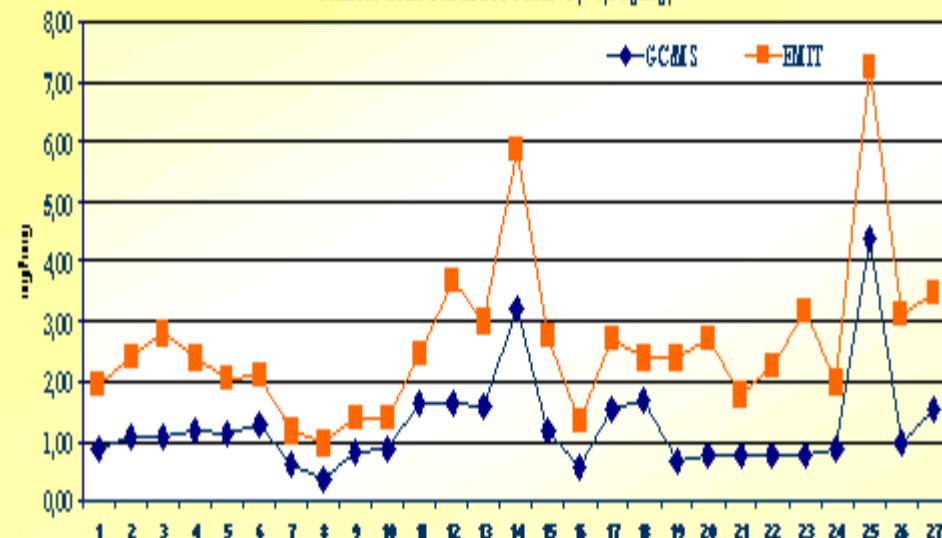


Figura 1: Confronto tra valori EMIT e GCMS nella casistica dei 18 campioni negativi

CAMPIONI DI CAPELLI POSITIVI (> 0,5 ng/mg)



7 – ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il risultato finale delle analisi deve essere espresso in:

μg di xenobiotico / mg di capello

Insieme al risultato quantitativo deve essere riportata la lunghezza in cm del segmento analizzato e la sua distanza dal cuoio capelluto

Cut-off proposti

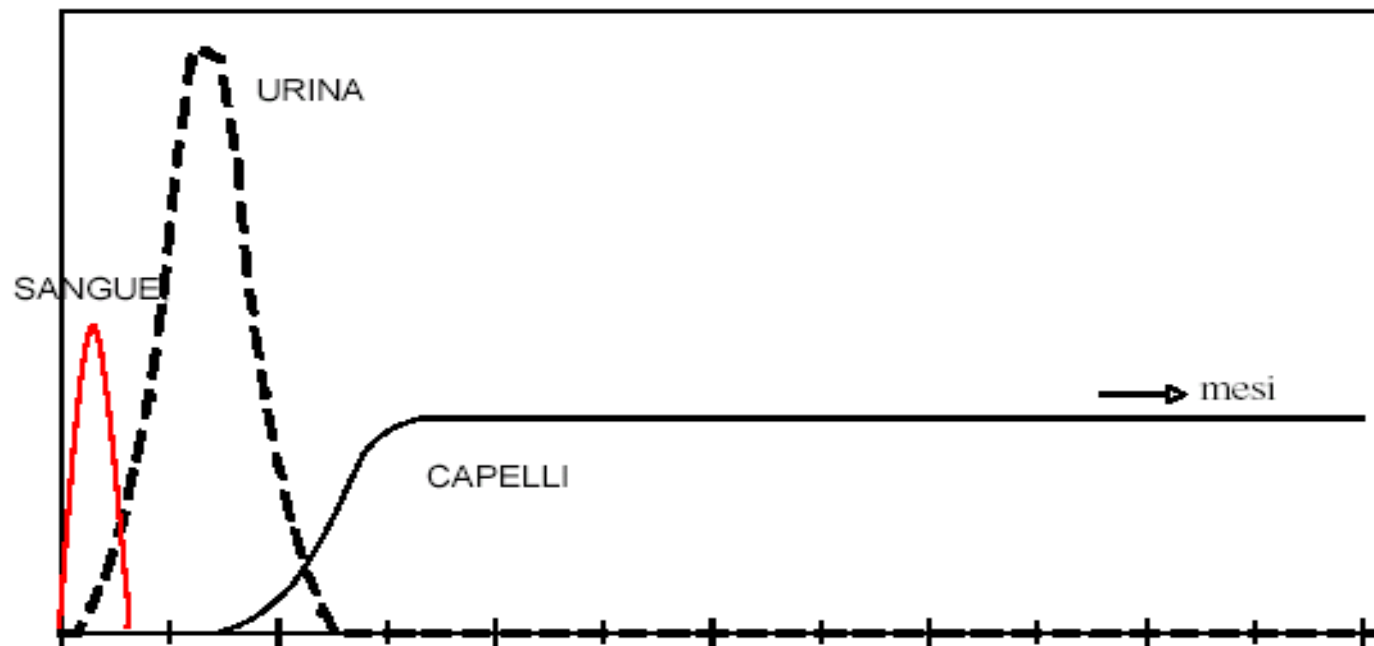


	6 MAM	COCAINA
	$\mu\text{g} / \text{mg}$	$\mu\text{g} / \text{mg}$
no consumo	$< 0,5$	< 1
consumo basso	< 2	< 4
consumo medio	2 - 10	4 - 20
consumo elevato	> 10	> 20

EtG in matrice cheratinica

Confronto (finestra di sorveglianza)

- EtG:



EtG in matrice cheratinica

CUT-OFF PROPOSTI

< 4 pg/mg	compatibile con consumo < 30 g/die
4 – 30 pg/mg	compatibile con consumo 30 – 60 g/die
> 30 pg/mg	compatibile con consumo > 60 g/die

EtG in matrice cheratinica vs. CDT sierica

Luca Morini
Dip.Med.Leg., Scienze Forensi e Farmaco-tossicologiche
Università di Pavia
41° Congresso Nazionale SIBIOC
Napoli 27-30 Ottobre 2009

86 volontari di cui 5 astemi, 16 bevitori moderati, 65 alcolisti
hEtG nei 3 cm prossimali
CDT con metodo HPLC (56) e immunonefelometrico* (30)

- Sensibilità (SE) e specificità (SP) indicate come proporzione di veri positivi (VP) e veri negativi (VN);

Marker	Cut-off (EDI60 g/die)	EDI 2-settimane SE	EDI 2-settimane SP	EDI 3-mesi SE	EDI 3-mesi SP
HEtG	27 pg/mg	1.00	0.93	1.00	1.00
CDT*	2,5%	0.44	0.93	0.47	1.00
CDT*	2.2%	0.50	0.86	0.53	0.92

EtG in matrice cheratinica vs. CDT sierica

Etil Glucuronide (EtG) su matrice cheratinica
nella diagnosi di abuso cronico da alcool ed idoneità alla guida.
Studio preliminare condotto in soggetti afferenti al Ser.T di
Lodi, Bergamo e Commissione Medica Patenti di Lodi

*The Etil Glucuronide (EtG) in the keratin matrix for the diagnosis of
chronic alcohol abuse and fitness to drive.
Preliminary study on subjects referred by the Ser.T Lodi, Bergamo
and by the Medical Commission for Driving Clearance of Lodi*

CONCETTINA VARANGO¹, CLAUDIO FILIPPI², CISARE RUSCA³, LUCA MORINI⁴, ANGELO GROPPI⁵,
FABRIZIO CHEFF⁶

- ¹ Responsabile U.S.S. Ser.T del Dipartimento Dipendenze dell'ASL della Provincia di Lodi.
- ² Direttore Dipartimento Dipendenze dell'ASL della Provincia di Lodi.
- ³ Responsabile U.S.C. Igiene e Sanità Pubblica del Dipartimento di Prevenzione dell'ASL della Provincia di Lodi.
- ⁴ Laboratorio di tossicologia forense Dipartimento di Medicina Legale, Scienze Forensi e Farmaco-Tossicologiche, Sezione di Scienze Forensi, Bioetica e Diritto Sanitario, Università Degli Studi di Pavia.
- ⁵ Docente di tossicologia Forense. Dipartimento di Medicina Legale, Scienze Forensi e Farmaco-Tossicologiche, Sezione di Scienze Forensi, Bioetica e Diritto Sanitario, Università Degli Studi di Pavia.
- ⁶ Responsabile Area Alcolologia Ser.T di Bergamo, Dipartimento Dipendenze dell'ASL di Bergamo.

**Bollettino sulle dipendenze XXXII
N.3/2009**

Esame	CDT	AST	ALT	Gamma GT	ETG	MCH	MCV
Limiti	<2,7	0-40	0-40	0-50	<4	27,0-32,0	80,0-99,0
1	1,47	29	25	16	32,10	30,70	91,00
2	1,07	28	47	19		32,60	98,90
3	2,30	66	134	99	15,20	33,10	93,80
4	7,15	42	35	20	85,40	33,60	103,20
5	1,51	32	74	45		29,90	88,10
6	1,51	29	47	35		29,00	88,00
7	1,20	52	54	170	50,60	29,50	91,40
8	1,33	21	20	80	11,00	31,30	92,50
9	1,13	98	193	33		31,60	86,20
10	0,70	26	49	145		30,00	89,00
11	1,90	47	50	100	12,40	31,00	94,00
12	1,20	47	107	94		32,70	94,00
13	1,30	61	25	11		29,00	86,80
14	1,82	34	45	117		29,20	86,70
15	1,30	30	35	20		28,00	85,00
16	1,90	33	50	100	57,80	31,40	87,30
17	1,40	29	25	70		30,70	91,00
18	1,70	28	30	99		37,30	98,00
19	1,30	30	35	85		37,50	99,00
20	0,90	25	29	100		35,00	97,00
21	1,20	29	40	90		34,00	92,00
22	6,51	46	42	35	50,00	97,70	34,20
23	2,40	48	90	180	148,10	33,60	94,00
24	1,74	21	23	17		29,80	34,80
25	2,08	37	30	77	22,80	32,50	92,70
26	1,93	33	36	52		31,60	87,40
27	1,90	32	29	25	9,60	28,00	98,20
28	2,01	33	30	40		29,00	90,00
29	1,90	60	120	170		31,60	86,30
30	2,01	40	60	150	40,00	33,60	93,80

CONCLUSIONI

- **VANTAGGI**
- **1- sicuro riscontro dell'assunzione**
- **2- sicurezza dell'appartenenza del campione biologico**
- **3- finestra temporale di mesi (dipendente dalla lunghezza del capello)**
- **ricostruzione della storia dell'abuso attraverso l'analisi segmentale (utile anche per utenti che usufruiscono del regime terapeutico dell'affidamento)**
- **4- riduzione del rischio biologico per il personale del Ser.T e del Laboratorio**

CONCLUSIONI

SVANTAGGI

- 1- possibilità di adulterazione (comunque minore che per l'urina)
- 2- fase analitica di pretrattamento molto più complessa di quella per l'urina
- 3- mancanza di correlazione dose-risposta fra individui diversi
- 4- più difficile interpretazione del dato analitico