

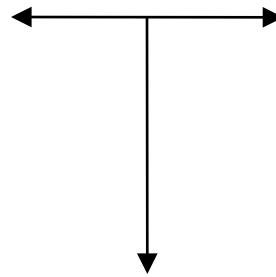
Il Laboratorio di Sanità Pubblica e le analisi tossicologiche a valenza medico-legale -L'analisi del capello-

**Adriano Isernia
Laboratorio di Sanità Pubblica – ASL Cremona**

L'analisi tossicologica medico-legale



Analisi sull'uomo



Leggi



Interesse della collettività

L'analisi tossicologica medico-legale

Ha valore di pubblica utilità

E' finalizzata all'interesse collettivo

Contribuisce al miglioramento della società
in termini di qualità della convivenza e di
sicurezza ...



è prevenzione pubblica.

Laboratorio di Sanità Pubblica

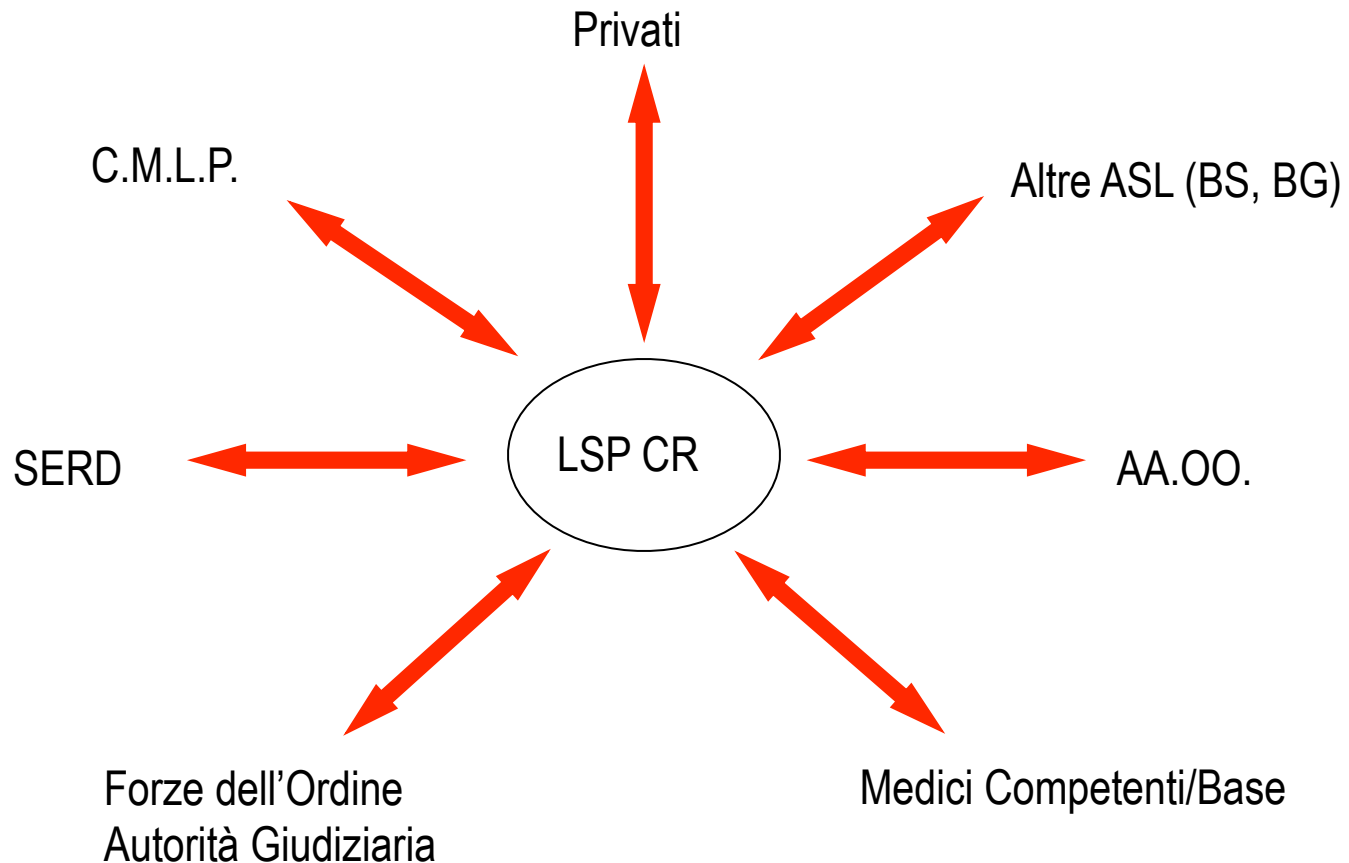
**Unico laboratorio nella provincia di Cremona
autorizzato all'esecuzione di analisi
tossicologiche a valenza medico legale**



LSP è storicamente
un riferimento per tutte le realtà
del territorio, pubbliche e private,
che necessitano di analisi
tossicologiche con valenza
medico-legale

Laboratorio di Sanità Pubblica

Analisi medico-legali



L'analisi tossicologica medico-legale

Perché il capello?

E' una matrice stabile e resistente.

Non è facilmente adulterabile.

Consente di valutare l'assunzione di droghe nel lungo periodo (settimane-mesi) in funzione della lunghezza del campione.

Prelievo non invasivo

L'analisi tossicologica medico-legale

Analisi matrice pilifera: normativa di riferimento.

Circ. R. DGS 31 luglio 2002 – N. 35 (idoneità alla guida di automezzi).

Prov. 30 ottobre 2007 (controllo lavoratori addetti mansioni a rischio).

DGR R.L. N. VIII/9097 del 13.03.2009 (determinazione di sostanze stupefacenti in materiali biologici ed etanolo nel sangue).

L'analisi tossicologica medico-legale

L'analisi del capello può essere richiesta per:

motivi clinici

- monitoraggio terapeutico tossicodipendenti
- esposizione prenatale a farmaci o droghe
- esposizione cronica a determinate sostanze.

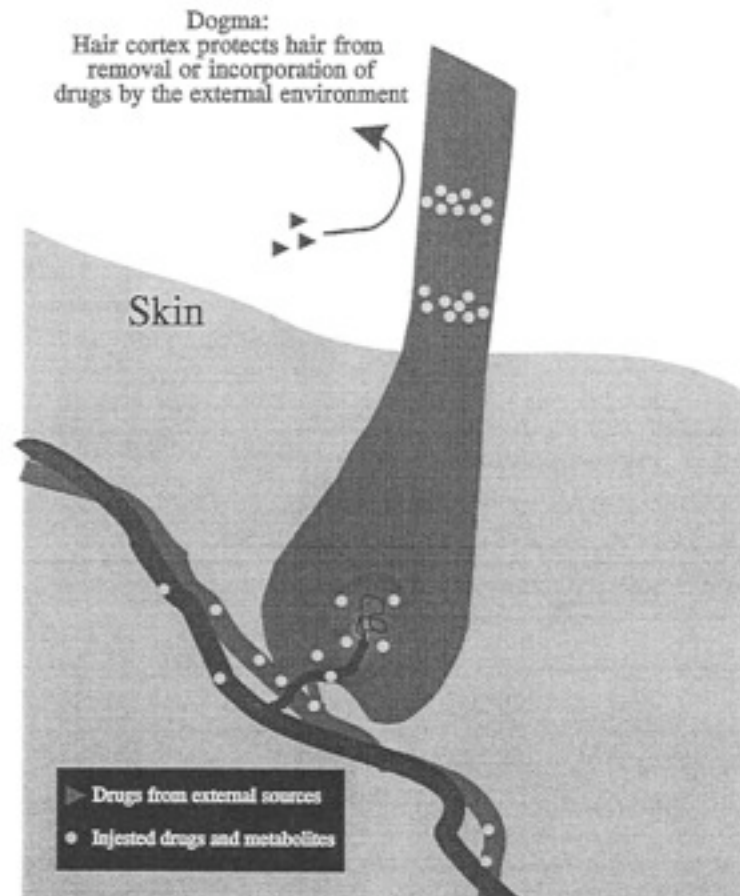
motivi amministrativi/giudiziari

- Diagnosi stato di tossicodipendenza
- Idoneità alla guida
- Lavoratori mansioni a rischio (accertamento II livello)
- Affidamento
- Custodia minori
- Fatti delittuosi

MECCANISMO DI INCORPORAZIONE DELLE DROGHE NEL CAPELLO

le droghe presenti nel flusso sanguigno vengano intrappolate in una regione inaccessibile del capello durante il processo di crescita:

“Entrapment model”



MECCANISMO DI INCORPORAZIONE DELLE DROGHE NEL CAPELLO

Il problema della contaminazione ambientale

La possibilità di una contaminazione esterna e quindi di incorrere in un falso positivo è sempre contemplata.

Si rendono opportuni accorgimenti durante le fasi di campionamento ed analisi.

In particolare, dal punto di vista analitico, prima di procedere agli accertamenti di laboratorio, è necessario lavare il campione di capello/pelo con solventi per pulire la matrice e rimuovere eventuali contaminanti.

E' importante tenere presente che la frequentazione più o meno saltuaria di persone che utilizzano droghe d'abuso da parte di soggetti che non assumono intenzionalmente dette sostanze, può far sì che sulla superficie e all'interno di capelli/peli di questi ultimi si possa riscontrare la presenza di stupefacenti. Nella valutazione dello stato di tossicodipendenza, gli esiti analitico-tossicologici devono essere sempre interpretati alla luce degli stili di vita adottati dalle persone esaminate.

MECCANISMO DI INCORPORAZIONE DELLE DROGHE NEL CAPELLO

1 cm di capello corrisponde ca. ad 1 mese di crescita.

l'indagine rivolta all'accertamento dell'assunzione pregressa di sostanze stupefacenti può coprire un arco temporale molto esteso e, attraverso l'analisi dei successivi segmenti di capello (analisi segmentale), è possibile conoscere il periodo di assunzione di queste ultime.

Il campione di capello non è facilmente adulterabile.

L'analisi tossicologica medico-legale

Possibile alternativa:

Peli pubici

Peli ascellari

Peli del torace

Dall'analisi del pelo non è possibile risalire al periodo di assunzione dello stupefacente

Adulterazione del campione

Adulterazione dell'urina

- **In vivo:** es. bevendo molto (con l'aiuto di diuretici), la concentrazione degli stupefacenti diminuisce.
- **In vitro:** aggiunta di glutaraldeide, sali, candeggina, sapone => interferiscono con la chimica dell'immunotest.

Nitriti, cromati => ossidano i metaboliti delle droghe.

Indicazioni di adulterazione dell'urina

- **Creatinina:** < 20 mg/dl sospetta adulterazione
- **Peso specifico:** < 1,003 sospetta adulterazione
- **pH:** 4-8 normale; < 4 e > 8 sospetta adulterazione
- **nitriti:** ~~> 500 µg/ml~~ ← sospetta adulterazione

L'analisi tossicologica medico-legale

Analisi matrice pilifera: linee guida tecniche.

*Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair –
Forensic Science International 2011.*

*Linee guida per il laboratori di analisi di sostanze d'abuso
con finalità tossicologico-forensi e medico legali –
Rev.03, 1 marzo 2010 GTFI.*

L'analisi tossicologica medico-legale

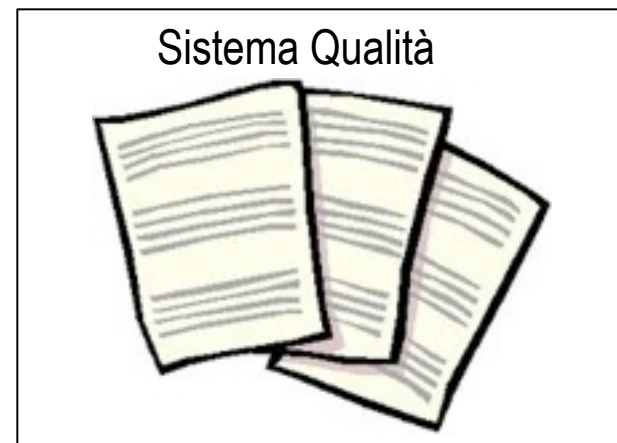
Il laboratorio deve disporre di specifiche POS per le analisi a valore medico legale relativamente a:

Accettazione, prelievo, manipolazione e movimentazione, conservazione dei campioni (catena di custodia)

Metodi analitici

Assicurazione qualità

Rapporto analitico o referto



Laboratorio di Sanità Pubblica ASL CR

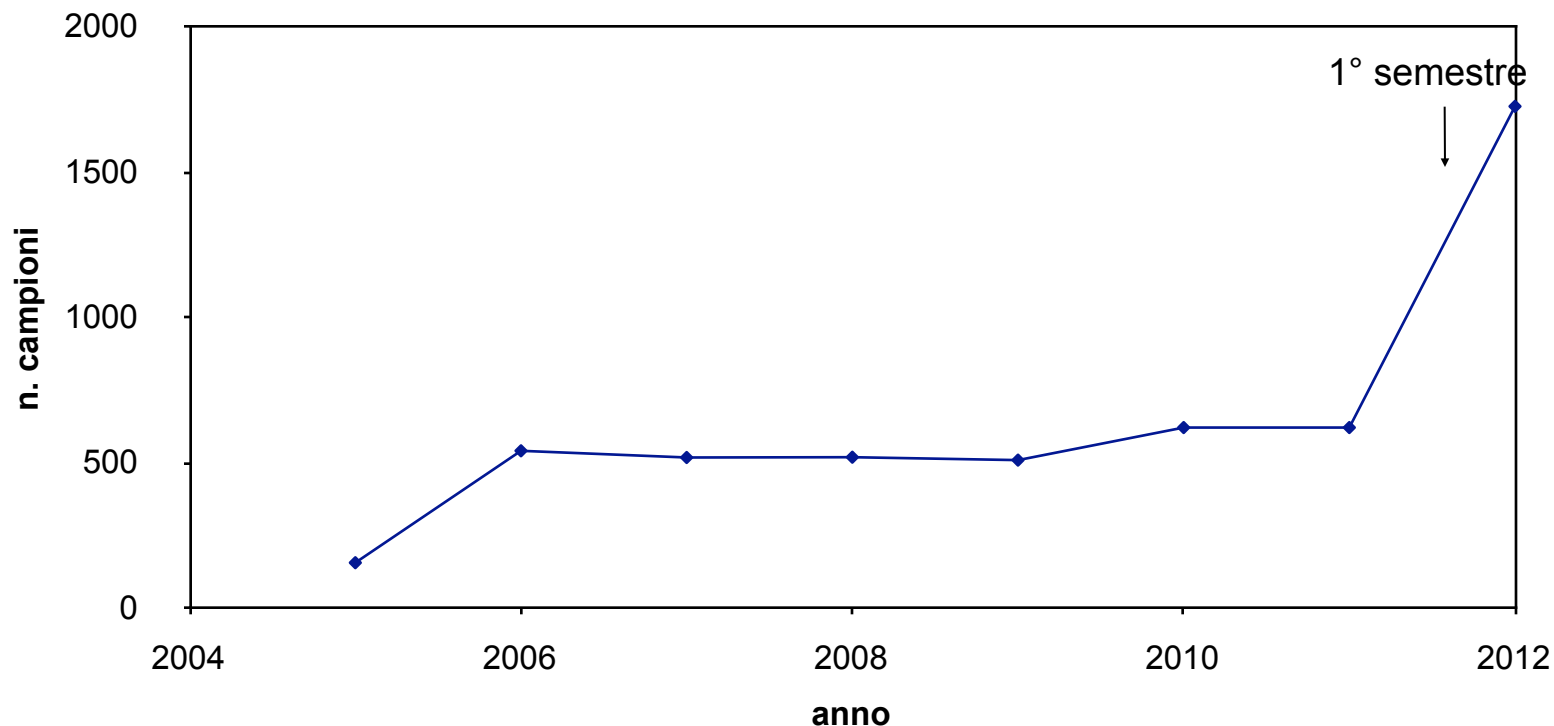
Analisi tossicologiche a valenza medico legale

**Laboratorio autorizzato ai sensi della DGR n.
VIII/9097/09 Prot. N. 9612 del 11/03/10 – D.G.
Sanità – Regione Lombardia**

Esegue test tossicologici sul capello dal 2005

Laboratorio di Sanità Pubblica ASL CR

LSP CR: campioni capello/anno



Analisi matrice pilifera LSP CR 1° sem. 2012

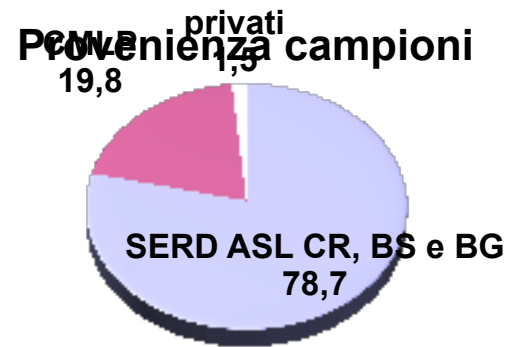
1726 campioni



6000 determinazioni

media: 70 campioni/sett.

Analisi matrice pilifera LSP CR 1° sem. 2012



Classi di sostanze ricercate dal LSP CR:

(DGR R.L. VIII/9097/09 – Provv. 30/10/07)



(ecstasy)

Cocaina

Oppiacei

Amfetamine

Metossiamfetamine

Cannabinoidi

Metadone

Buprenorfina

Livelli di analisi chimico-tossicologica su campioni biologici

Livello	Metodo	strumentazione	finalità	+ / -	validità
Screening	immunoenzimatico	Analizzatore automatico chimica-clinica	Identificare <u>sospetti positivi</u> per <u>classi di sostanze</u>	Veloce ed economico / specificità non assoluta	clinica
Conferma	Cromatografico/ spettrometria di massa	GC/MS LC/MS	Identificare con <u>certezza</u> e quantificare i <u>principi attivi delle droghe e relativi metaboliti</u>	Specificità assoluta / più complesso e costoso	Medico - legale

Interferenza di altre molecole con il test: falsi positivi !

Esempi:

Codeina, levofloxacin → **positività oppiacei**

Acido niflumico (Morniflu®) } → **positività cannabinoidi**

Farmaci antiretrovirali →

?!
Ranitidina → **positività
positività amfetamine**

Analisi di conferma : GC/MS o LC/MS

L'analisi delle droghe d'abuso in GC/MS

Sostanze analizzate nel capello/pelo – LSP ASL/CR

Metabolita primario dell'eroina: assunzione certa



Principi attivi e principali metaboliti ricercati nei campioni piliferi

- **Cocaina → benzoilecgonina**
- **Eroina (diacetilmorfina) → 6 monoacetilmorfina (6-AM) → morfina**
- **[Codeina e Diidrocodeina: non sono classificate come droghe d'abuso]**
- **Amfetamine**
- **Metossiametamine**
- **Delta-9-THC**
- **Metadone**
- **Buprenorfina → norbuprenorfina**

Significato di “cut-off”

- **Valore soglia convenzionale, definito sulla base di evidenze sperimentali, al fine di discriminare i campioni positivi da quelli negativi ad un determinato livello di confidenza.**
- **Nell’analisi di conferma è necessario per distinguere, con una certa sicurezza, l’assunzione passiva e involontaria dall’uso intenzionale di sostanze stupefacenti**

Valore etico ai fini della tutela dei diritti della persona

Tabella valori di LOQ - LSP ASL CR (Rif. DGR 8/9097/2009 R.L. e Provv. 30/10/07)

Classe	Sostanze	Urina (ng/ml)		Capello/Pelo (ng/mg)	
		Screening	Conferma	Screening	Conferma
Oppiacei		300		0,2	
	6-acetilmorfina		10		0,2
	morfina		50		0,2
	codeina		50		0,2
	diidrocodeina		50		0,2
Metadone	metadone	300	50	0,2	0,2
	EDDP		50		
Cocaina	cocaina	300	50	0,5	0,2
	benzoilecgonina		50		0,05
Amfetamine	amfetamina	500	200	0,2	0,2
	metamfetamina		200		0,2
Metossiamfetamine	MDMA	500	200	0,2	0,2
	MDA		200		0,2
	MDEA		200		0,2
	MBDB		200		0,2
Cannabinoidi	D9-THC	50		0,1	0,1
	D9-THC-COOH		15		0,0002
Buprenorfina	buprenorfina	5	5	0,05	0,05
	norbuprenorfina		5		0,05

Farmacocinetica principali droghe d'abuso: tempi di rilevabilità analitica dopo assunzione

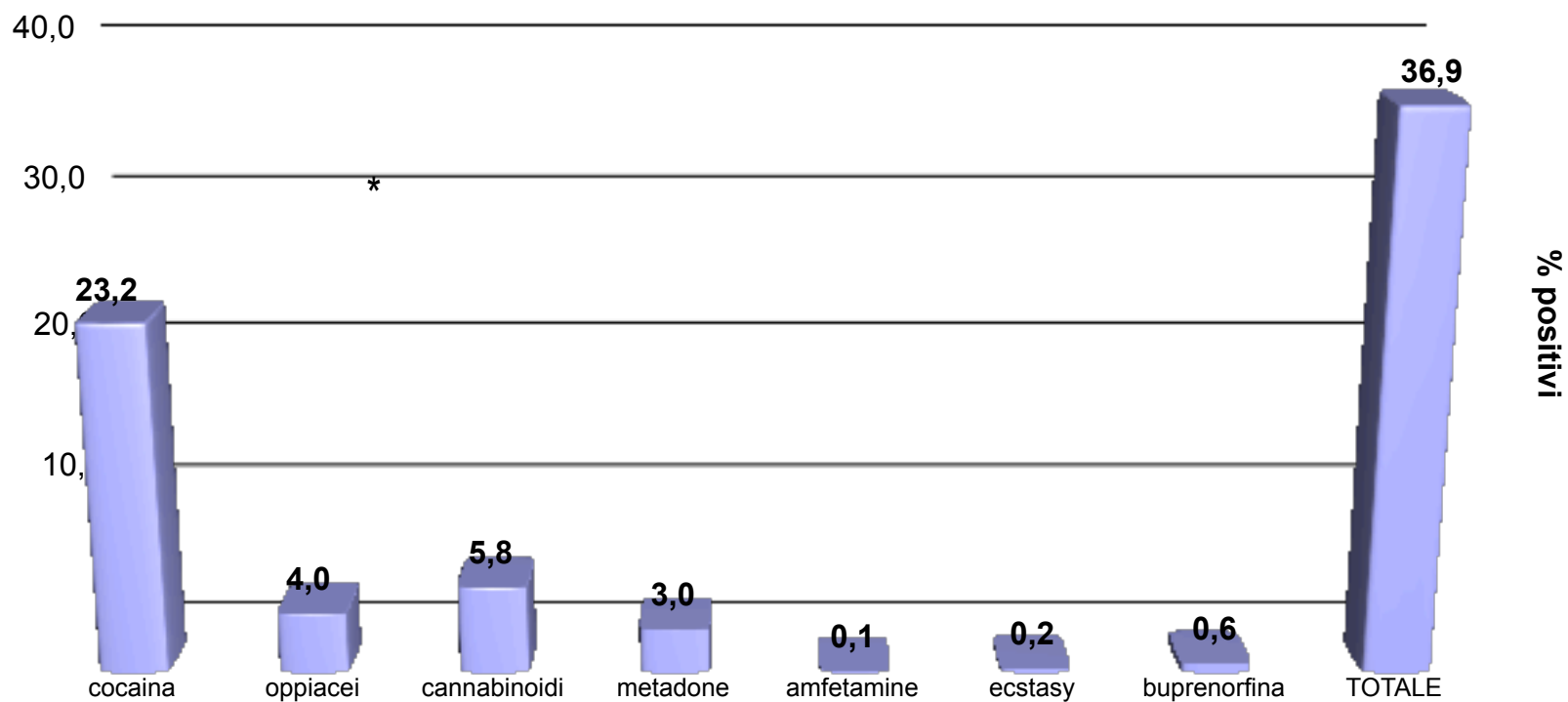
Matrice	Sangue	Urina	Capello/ pelo
Cocaina (benzoilecgonina)	< 12 (24) h	24 (72) h	-> mesi
6 AM: metab. eroina	3 h	24 h	-> mesi
Morfina	24 h	3 gg	-> mesi
THC (THC-COOH)	< 12 (48-168) h	- (7 gg)	-> mesi
Amfetamine	72 h	7 gg	-> mesi

“Encyclopedia of forensic sciences” Siegel, Saukko, Knupfer – Academic Press, London 2000, vol. 2, p. 599.

Principali matrici biologiche a confronto: stabilità del campione e correlazione temporale assunzione

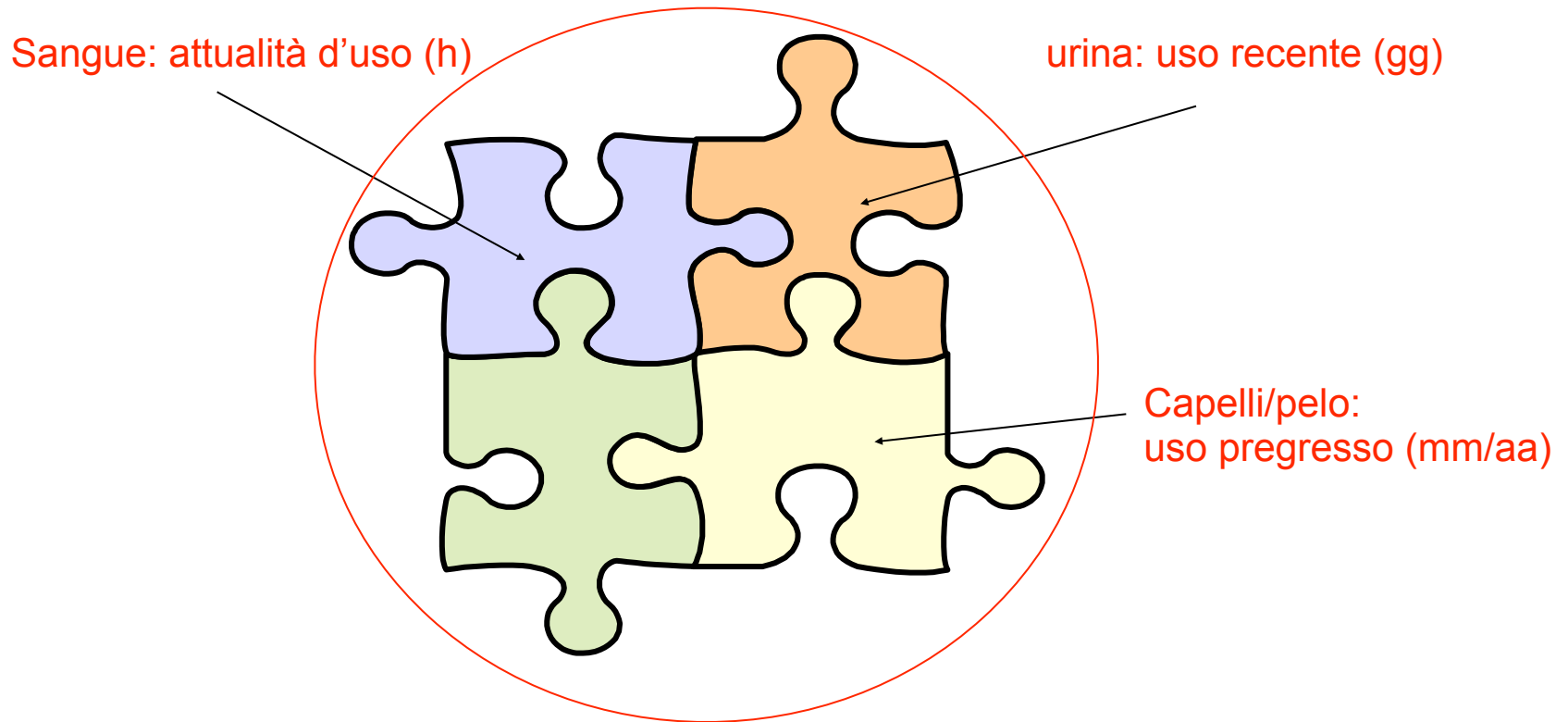
conservazione campione	assunzione		
	<i>attuale</i>	<i>recente</i>	<i>pregressa</i>
2-8°C < 48h / < -20°C > 48 h	sangue	urina	
T ambiente			capello/pelo

Risultati analisi campioni piliferi - LSP ASL CR: 1° sem. 2012



(*) 10% presenza di ^{sostanze} cocaetilene = cocaina + alcol etilico

Finalità degli accertamenti chimico-tossicologici su differenti matrici biologiche



Valutazione complessiva assunzione droghe d'abuso