

KOSA – BIOLOŠKI UZORAK ZA ANALIZU DROGA

LJILJANA SKENDER

*Institut za medicinska istraživanja i
medicinu rada, Zagreb*

Primljeno prosinac 1999.

Opisane su glavne značajke kose kao biološkog uzorka, mehanizmi ulaza droga u kosu, njihova zadržavanja i nestajanja. Budući da se većina metoda za određivanje droga u kosi koristi vezanim sustavom plinski kromatograf-spektrometar masa (GC/MS), samo su te metode i prikazane. U pravilu svaka se metoda sastoji od pranja kose, usitnjavanja, ekstrakcije, pročišćavanja i derivatizacije. Dok je analitički postupak obrade kose gotovo do potankosti razrađen, u interpretaciji rezultata droga u kosi još je mnogo teškoća. Kosa nije jednolika sastava, ulaz droge u kosu nije isključivo preko korijena, postoje razlike u rastu kose, na koncentraciju droga u kosi utječu kozmetičko tretiranje kose, čistoća uzete droge. Sve su to čimbenici koji se moraju uzeti u obzir pri interpretaciji nalaza. Nalaz služi kao dokaz da je ispitanik kronično ili ponavljano uzimao drogu i nije moguće sa sigurnošću ustanoviti kolika je to količina droge bila kao ni vrijeme uzimanja.

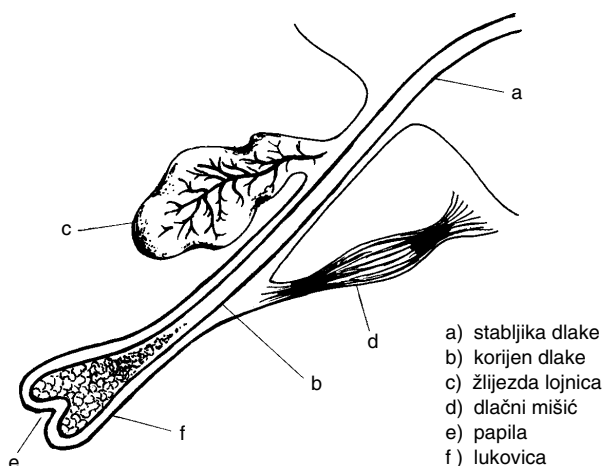
Ključne riječi:
dekontaminacija, GC/MS tehnika, pasivna izloženost

Analiza droga¹ je moguća u različitim biološkim uzorcima od kojih svaki ima i prednosti i nedostatke. Analiza kose, za razliku od krvi, sline, mokraće pa i znoja, omogućuje mnogo dulji period detekcije droga (1). Od kada su *Baumgartner i suradnici* (2) 1979. prvi primijenili radioimunokemijsku metodu za određivanje opijata u kosi ovisnika o heroinu, mnogo je radova objavljeno o analizi droga u kosi. Što se više radilo na toj problematici te stjecalo sve više iskustava, sve se više problema otkrivalo. Ovaj pregledni rad opisuje kosu kao biološki uzorak, metode za određivanje droga u kosi te interpretaciju dobivenih rezultata.

¹ U ovome se tekstu pod uvriježnim pojmom droga razumijeva sredstvo ovisnosti odnosno zloupotrebe (op. ur.)

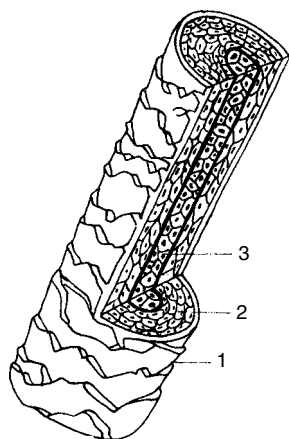
Kosa kao biološki uzorak

Kosu čine dlake (vlasi) koje izbijaju na gornjoj koži glave (vlasište). Dlaka ima dva dijela, korijen i stabljiku (slika 1). Korijen dlake na donjem se kraju proširuje u lukovicu u koju je utisnuto vezivno tkivo, oblikujući papilu ili jezgru dlake. Dlaka raste neprekidnim dijeljenjem stanica u površinskom dijelu papile tzv. matriksu dlake. Stabljika i korijen uloženi su u folikul, kanal kojeg okružuje mreža krvnih kapilara putem kojih se hrani korijen. Svaki folikul sadržava barem jednu žlijezdu lojnicu, koja izlučuje loj (sebum), te mišić. U blizini folikula nakupljaju se i žlijezde znojnice. Stabljika dlake sastoji



Slika 1 Dijelovi dlake (izvor: Raos J. Priručnik za frizere. Varaždin; 1995. str. 61)

se od epidermalnih stanica koje oblikuju slojeve: površinski, zaštitni sloj ili kutikula, fibrilni sloj ili kora te srž u debljim dlakama (slika 2). Pri čestoj obradi kose, trajnoj ondulaciji, izbjeljivanju i bojenju može se oštetiti kutikula, a zatim i kora stabljike. Osnovni pigment kose je melanin te boja kose potječe od količine, tipa i rasprostranjenosti melanina. Pri analizi droga u kosi obvezatno se nameću pitanja o ulazu droga u kosu, zadržavanju i nestajanju. Razne su teorije o mehanizmu ulaza droga u kosu (3-5) i još se smatra da nije dovoljno razjašnjen. Difuzija droge iz arterijskih kapilara u stanice matriksa u bazi folikula drži se glavnim putem unosa droge u kosu. Jedinstvena fiziologija i struktura kose omogućuje, međutim, još nekoliko putova unosa droge. Naime, droge se izlučuju i znojem i lojem koji dolaze na vlasište i tim putovima mogu ući u kosu koja se pojavi na vlasištu. U istraživanju pod kontroliranim uvjetima nađeno je da se kokain pojavljuje u znoju jedan sat nakon uzimanja i ostaje prisutan do 48 sati (6). Henderson (4) je našao kokain u kosi čovjeka koji nije uzimao kokain, ali mu je kosu držao u ruci tijekom 30 minuta uživatelj kokaina. Vrlo je važan put ulaska droge u kosu i vanjska kontaminacija (pasivna izloženost).



- Slojevi kose u poprečnom presjeku:
1. površinski sloj ili kutikula (cuticula)
 2. fibrilni sloj ili kora (cortex)
 3. moždina ili srž (medulla)

Slika 2 Anatomska građa stabljike dlake (izvor: Raos J. Priručnik za frizere. Varaždin; 1995. str. 64)

Jedan od mehanizama zadržavanja droga u kosi mogu biti ionske sile (7). Kosa sadržava negativno nabijene aminokiseline koje mogu vezati droge kao ionski par. Takvoj pretpostavci doprinosi činjenica da se droge u obliku kationa (kokain, amfetamini, opijati, fenciklidin) nalaze u kosi u puno višoj koncentraciji nego metabolit marihuane/hašiša (11-nor-delta-9-tetrahidrokanabinol-9-karboksilna kiselina; THC-COOH), ili aspirin koji su u anionskom obliku. Većina boja za kosu, također je u obliku kationa. Droge nestaju iz kose čestim pranjem, bojenjem, trajnom ondulacijom, izbjeljivanjem ili razaranjem droge u stabljici vlasi.

Podatak da kosa najčešće raste oko 1 cm na mjesec (8) potakao je mnoge istraživače na određivanje droga u segmentima kose duljine 1 cm te na temelju dobivenih rezultata na zaključak o retrogradnome mjesečnom konzumiranju droge, pa čak i o intenzitetu uzimanja. Nema, međutim, jednoznačnog odgovora na pitanje koji je odnos između uzete količine droge i koncentracije te droge/metabolita u kosi. Dok su neki istraživači dobili značajan odnos doza droge - koncentracija u kosi (3, 9, 10), drugi to nisu uspjeli (11-13).

Metode za određivanje droga u kosi

Posljednjih godina objavljeno je mnogo metoda za analizu droga u kosi, ali nijedna nije odabrana kao metoda izbora. Različiti su metodološki pristupi, ali se u osnovi svaki postupak sastoji od: uzimanja kose, pranja (dekontaminacije), ekstrakcije ili digestije, pročišćavanja, derivatizacije i kvantitativne analize. Budući da je najčešća tehnika za određivanja droga u kosi plinska kromatografija / spektrometrija masa (GC/MS), prikazani su samo oni analitički postupci koji prethode GC/MS analizi (tablica 1). Detalji o samoj GC/MS analizi ne navode se budući da se u pravilu mnogo ne razlikuju i razlike su samo u tipu instrumenta i načinu ionizacije, tj. je li elektronska ili kemijska.

Tablica 1 Analitički postupci za analizu droga GC/MS tehnikom

Analit	Priprema kose; pranje (dekontaminacija)	Inkubiranje/ekstrakcija	Pročišćavanje/luiranje	Derivatizacija	Br. ref.
Kokain i metaboliti (benzolekgonin, BE i ekgonin metil ester, EME)	segmenti kose od oko 1 cm; 1% natrijev dodecyl sulfat (SDS); magnetska mješalica 5 min, filtriranje; deionizirana voda, metanol; sušenje preko noći; rezanje (L-1 mm); odvaga 10 mg	ditiotreitol (DTT) u 10 mM acetatnom puferu; inkubiranje 2 h na 40 °C; Proteinaza K; inkubiranje preko noći na 40 °C	SPE; eluiranje s diklormetan/2-propanol/amonijev hidroksid (80:20:2); uparavanje u struji dušika na 40 °C	N-metil-N-(terc-butildimetilsilil)-trifluor-acetamid (MTBSTFA); 10 min na 40 °C	12
Kokain i metaboliti (koketilen i norokain)	rezana kosa (oko 1 mm); metanol; 15 min na 37 °C; filtriranje; uparavanje	0,05 M sulfatna kiselina; magnetska mješalica; preko noći na 37 °C; neutralizacija s 1 N natrijevim hidroksidom; podešavanje na pH 4	SPE; 3x diklormetan/2-propanol/amonijev hidroksid (80:20:2); uparavanje u struji dušika; acetonitril	N,O-bis(trimetil-silil)-trifluoracetamid (BSTFA) + 1% trimetilklorsilan (TMCS); 30 min na 60 °C	14
Morfin, kodein, heroin i 6-acetilmorfin (jedini specifični metabolit heroina)	oko 100 mg rezane kose (oko 1 mm); metanol, 30 s	metanol; magnetska mješalica 18 h na 37 °C; uparavanje u struji dušika na 50 °C	deionizirana voda + zasićeni natrijev bikarbonat, pH 8,4; ekstrakcija toluen/heptan/izooamil alkohol (70:20:10) 15 min, centrifugiranje; uparavanje u struji dušika na 60 °C	N-metil-bis-trifluoracetamid (MBTFA); 20 min na 60 °C	15
Morfin i 6-acetilmorfin	rezani segmenti kose od 2 cm (4-8 mg); 0,1% SDS; 3x 0,1% SDS; deionizirana voda; 1 min u ultrazvučnoj kupelji	10% klorovodična kiselina 1 h na 100 °C; hlađenje, filtriranje	kloroform/2-propanol (3:1) u alkoholnom mediju; uparavanje	bis(trimetil-silil) acetamid; 20 min na 90 °C	9
Kokain i metaboliti (BE, EME)	3x 0,1% SDS; deionizirana voda; 1 min u ultrazvučnoj kupelji; odvaga 30 mg	proteinaza K u 0,1 M fosfatnom puferu, pH 7,5 preko noći na 25 °C; ultrazvučna kupelji, filtriranje	SPE; diklormetan/metanol/amonijev hidroksid (80:20:2); uparavanje u struji dušika	anhidrid pentafluoropropionske kiseline (PFPA) i heksafluorizopropanol (HFIP); 20 min na 60 °C; uparavanje u struji dušika i otapanje u smjesi etil acetat/bis(trimetil-silil) acetamid (2:1)	16

Analit	Priprema kose; pranje (dekontaminacija)	Inkubiranje/ekstrakcija	Pročišćavanje/eluiranje	Derivatizacija	Br. ref.
Morfin, kodein, dihidrokodein, 6-acetilmorfin, metadon, di-2-etil-1,5-dimetil-3,3-difenilpirolin (EDDP), kokain i metaboliti (BE, EME), amfetamin	mlaka voda, 5 min; aceton, 1 min; sušenje; rezanje u segmente od 2 cm i usitnjavanje (ball mill); odvaga 10-30 mg	b-glukuronidaza/aril-sulfataza 2 h na 40 °C; centrifugiranje; ekstrakcija supermatanta fosfatnim puferom	SPE; 3x aceton/diklormetan (3:1); uparavanje u struji dušika na 60 °C	PFPA i pentafluoropropanol (PFPOH) 30 min na 60 °C; uparavanje u struji dušika na 60 °C i otapanje u etilacetatu	10
Morfin, kodein, heroin, 6-acetilmorfin, kokain i metaboliti	2x metanol; uparavanje; rezanje, odvaga 10 mg	metanol, preko noći na 40 °C; ispiranje kose metanolom; uparavanje; otapanje u 0,5 M acetatnom puferu, pH 6 s 0,5% natrijevog fluorida	SPE; 3x diklormetan/2-propanol/amonijev hidroksid (80:20:2); uparavanje; acetatnom puferu, pH 6 s 0,5% acetoniitril	BSTFA + 1% TMCS 30 min na 60 °C	17
Morfin, kodein, 6-acetilmorfin, etilmorfin	voda; 0, 1 N klorovodična kis., metanol, usitnjavanje (ball mill); odvaga 50 mg	SFE (Subcritical Fluid Extraction)	/	anhidrid propionske kiseline (PSA) + piridin 30 min na 60 °C; uparavanje u struji dušika; otapanje u etil acetatu	18
Morfin, kodein, 6-acetilmorfin, kokain i BE	diklormetan, 15 min 37 °C; sušenje; rezanje; odvaga pojedinih segmenata	0, 1 N klorovodična kiselina 18 h 50 °C; neutralizacija s 0, 1 N natrijevim hidroksidom	kloroform/izopropanol/n-heptan (50:17:33); uparavanje u struji dušika	anhidrid heptafluormaslačne kiseline (HFBA) + heksafluoropropanol (HFPOH) 30 min 60 °C; uparavanje; otapanje u etil acetatu	19
Tetrahidrokanabinol (THC) i 11-nor-delta-9-THC-9-karboksilna kiselina (THC-COOH)	diklormetan, 15 min 37 °C; sušenje; rezanje; odvaga pojedinih segmenata	11,8 N kalijev hidroksid 10 min	n-heksan/etil acetat (9:1); uparavanje u struji dušika	HFBA + HFPOH 10 min 100 °C; uparavanje i otapanje u n-heksanu	19
Morfin, kodein, etilmorfin, 6-acetilmorfin, kokain, BE, EME, koketilen	diklormetan 2x po 2 min na sobnoj temp.; usitnjavanje (ball mill); odvaga 30-50 mg	0, 1 N klorovodična kiselina preko noći na 56 °C; neutralizacija s 0, 1 N natrijevim hidroksidom	kloroform/izopropanol/n-heptan (50:17:33); pročišćavanje organske faze sa 0,2 N klorovodičnom kiselinom; vodeni sloj ponovo ekstrahiran s fosfatnim puferom; 1 N natrijev hidroksid, kloroform; uparavanje u posebnom uređaju	BSTFA + 1% TMCS 20 min 70 °C	20

Analit	Priprema kose: pranje (dekontaminacija)	Inkubiranje/ekstrakcija	Pročišćavanje/eluiranje	Derivatizacija	Br. ref.
Morfin, kodein, metadon, kokain, BE, amfetamin, metamfetamin, 3,4-metilendioksiamfetamin (MDA) i 3,4-metilendioksiamfetamin (MDMA)	n-heksan 30 s u ultrazvučnoj kupelji; aceton 30 s; uparavanje u struji dušika; rezanje; odvaga 10 mg	metanol, ultrazvučna kupelj 1 h / 40 °C; preko noći; dekantiranje; uparavanje u struji dušika 40 °C	PFFPA + HFIP 30 min 70 °C; uparavanje u struji dušika na 25 °C i otapanje u etil acetatu	22	
THC-COOH	n-heksan 30 s u ultrazvučnoj kupelji; aceton 30 s; uparavanje u struji dušika; rezanje; odvaga 15 mg	metanol + 10 N kalijev hidroksid; ultrazvučna kupelj 30 min 70 °C; hlađenje; podešavanje pH na 4-5	SPE; etil acetat/h-heksan (1:1); uparavanje	PFFPA + HFIP 30 min 70 °C; uparavanje u struji dušika na 25 °C i otapanje u etil acetatu	22
Morfin, heroin, 6-acetilmorfin, kokain, THC	voda, aceton, petroleter; sušenje; rezanje; odvaga 50-200 mg	metanol; ultrazvučna kupelj 5 h / 50 °C; dekantiranje; uparavanje	PSA 1 h na 100 °C; uparavanje; otapanje u etil acetatu s 5% PSA	21	
Morfin, kodein, 6-acetilmorfin, kokain, BE, EME, koktilen	2x 0,01 M fosfatni pufer pH 5.6; 2x 3 min diklormetan; usitnjavanje (ball mill); odvaga 50 mg	0, 1 N klorovodična kis. 12 h 56 °C; centrifugiranje; neutralizacija s 0, 1 N natrijevim hidroksidom; puferiranje s 0,2 M natrijevim bikarbonatom + 10% metanol	SPE; 2x metanol; uparavanje u struji dušika na 40 °C	BSTFA 15 min 80 °C	23
Kokain, heroin, 6-acetilmorfin, metadon, EDDP i 2-etil-5-metil-3,3-difenilpirolin (EMDP))	25 mg kose rezano + metanol 30 s; uparavanje u struji dušika na 40 °C	metanol 18 h 37 °C; dekantiranje; uparavanje u struji argona na 40 °C	SPE; eluiranje s 3x diklormetan/2-propano /amonijev hidroksid (80:20:2); uparavanje u struji argona na 50 °C; otapanje u metanolu	/	24
Morfin, kodein, normorfin, norkodein, 6-acetilmorfin, kokain, BE, EME, norkokain, koktilen	/	proteaza VIII/DTT/TRIS pufer pH 6.5 preko noći na 37 °C; podešavanje pH 5.5 s 0, 1 N klorovodičnom kiselinom	SPE; diklormetan/2-propano/ amonijev hidroksid (78:20:2); uparavanje u struji zraka na 40 °C; etil acetat	N-metil-N-trimetilsililheptafluor-butiramid (MSHFBA) + N-trimetilsililimidazol (TMSIM); 2 min 80 °C; N-metil-bis-heptafluorbutiramid (MBHFBA); 25 min 80 °C	25

Analit	Priprema kose; pranje (dekontaminacija)	Inkubiranje/ekstrakcija	Pročišćavanje/luiranje	Derivatizacija	Br. ref.
Morfin, kodein, 6-acetilmorfin, kokain, BE	rezanje kose, izopropanol, 3x delonizirana voda, izopropanol, sušenje na zraku; odvaga 20-30 mg	metanol; 18 h na 40 °C; centrifugiranje, dekantiranje, uparavanje u struji dušika; otapanje u 0,1 M acetatnom puferu pH 6	SPE; 2x diklometan/2-propanol/amonijev hidroksid (80:20:2); uparavanje; acetoniitril	BSTFA + 1% TMCS 30 min 60 °C	26
Amfetamin, metamfetamin	rezanje kose, metanol/voda (1:1); sušenje na zraku; odvaga 5-20 mg	2 N natrijev hidroksid; 20 min 80 °C	izooktan 5 min; centrifugiranje, organska faza uparena	anhidrid trifluoroctene kis. 15 min 60 °C; uparavanje, otapanje u izooktanu	26

Uvriježeno je uzimanje kose sa stražnjeg dijela vlasišta, u sredini, u ravnini ušiju, u predjelu vertex posterior, gdje je najveći dio kose (č85%) u procesu rasta (anagena faza) i kad je najvjerojatnije da se droge inkorporiraju u kosu. Uzima se snop kose debljine oko 0,5 cm što bliže vlasištu, izravna se, zalijepi na papir i označi korijen i kraj snopa kose, što je potrebno kad se analiziraju pojedini segmenti.

U metodama za analizu droga u kosi najviše je razlika u pranju kose i ekstrakciji/digestiji. Pranje kose je obvezatno da bi se uklonile masnoće, kozmetička sredstva i eventualno vanjskom kontaminacijom atherirane droge. Nakon pranja i sušenja, kosa se usitnjuje ili ručno škarama ili strojno (»ball mill«), važe (10–50 mg) te ekstrahira/digestira i inkubira. Odgovarajuća ekstrakcija, koja omogućuje oslobađanje droga s različitim mjestima u kosi, ključni je dio pripreme uzorka kose (27). U pravilu se ekstrakt upari do suha u struji dušika, ostatak otopi u puferu određenog pH te najčešće pročišćava ili ekstrakcijom tekućinom ili na krutom nosaču (Solid Phase Extraction, SPE). Najčešće slijedi eluiranje određenom smjesom otapala, ponovno uparavanje i derivatizacija različitim supstancijama. Budući da je primjena GC/MS tehnike moguća jedino u analizi hlapljivih i termostabilnih spojeva, derivatizacija je obvezatna za polarne i termolabilne spojeve. Najčešće se stvaraju trimetilsilil i perfluoracil derivati droga (28), a što je očito i na tablici 1.

Interpretacija rezultata analize droga u kosi

Interpretacija rezultata analize droga u kosi nije jednostavna jer se radi o relativno novom području s još dosta nepoznanica. Mnogi čimbenici djeluju na koncentraciju droga u kosi: boja kose odnosno sadržaj melanina (crna, čvrsta kosa veže više droge od svijetle kose); fizičko-kemijska svojstva droga (lipofilnost); razlike u unosu droge iz krvi u kosu, u stupnju znojenja i količini lojnih žlijezda, u rastu kose; vanjska kontaminacija (pasivna izloženost); kozmetičko tretiranje kose.

Razlike u rastu kose mogu biti trostruke, tj. variraju od 0,5 do 1,5 cm na mjesec. Osim toga, normalna se kosa razvija u tri faze: anagena (faza rasta), katagena (prijelazna faza) i telogena (faza mirovanja). Moguća dužina kose i gustoća na vlasištu ovise o odnosu tih faza, kao i brzini rasta. Trajanje tih faza razlikuje se od osobe do osobe pa čak i u pojedinim periodima u iste osobe. Procjenjuje se da anagena faza traje 4–6 godina, katagena nekoliko tjedana, a telogena 4–6 mjeseci (29).

Vanjska kontaminacija kose drogom može uzrokovati lažno pozitivan nalaz. Stoga je neobično važno prikladno pranje kose, tj. potpuno odstranjenje droge dospjele u kosu vanjskom kontaminacijom. Iz tablice 1. je vidljivo koliko ima načina pranja kose. Svi se postupci pranja/dekontaminacije osnivaju na pretpostavci da su droge koje dolaze u kosu iz okoline slabo vezane ili za površinu kose ili za matriks kose te se lako mogu ukloniti odgovarajućim postupcima, a što ne mora uvijek i biti. Najviše ima ispitivanja o uklanjanju kokaina dospjelog u kosu vanjskom kontaminacijom. Rezultati nisu jednoznačni; neki autori navode potpuno uklanjanje kokaina nakon pasivne izloženosti (30, 31), a drugi, pak, nemogućnost potpunog uklanjanja (14, 32, 33). Uklanjanje droge nakon pasivne izloženosti ovisi i o tipu kose. Kako se više droge pohranjuje u čvrstoj, crnoj kosi, tako se i teže uklanja droga iz takve kose. *Blank i Kidwell* (34) čak predlažu da se za analizu kose, dok se ne pronađu bolji postupci dekontaminacije, uzima samo kratki dio kose uz vlasište koji je najkraće vrijeme izložen vanjskoj kontaminaciji.

U pravilu se koncentracije droge u kosi smanjuju ako je kosa bojena, izbjeljivana ili podvrgnuta trajnoj ondulaciji (35–38).

Svi ovi čimbenici naveli su *Kintza i suradnike* (39) na zaključak da se nalaz droge u kosi ispitanika može interpretirati samo kao dokaz da je ispitanik kronično ili ponavljano uzimao drogu i nije moguće ustanoviti kolika je to količina droge bila. Osim navedenoga razlozi za nedobivanje značajnog odnosa doza droge – koncentracija u kosi su i nepouzdanost izjava uživalaca droge o uzetoj količini, kao i nepoznata čistoća uzete droge. *Henderson i suradnici* (13) opisali su primjenu kokaina označenog deuterijem u kontroliranim uvjetima. U kosi je bilo moguće detektirati kokain ako je doza bila između 22 i 35 mg. Iz analize kose nije bilo moguće zaključiti kolika je bila doza kokaina, kao ni vrijeme i trajanje uzimanja. Naime, našli su kokain raspoređen gotovo u cijeloj dužini vlasi nakon jednokratne doze, a nakon višekratnih doza kokain je bio u puno kraćem segmentu kose. Zaključili su da se analiza segmenata kose mora interpretirati s velikim oprezom. Također u kontroliranim uvjetima *Kintz i suradnici* (39) su ispitivali povezanost između davanja heroina i koncentracije heroina, 6-acetil-morfina i morfina u kosi. Našli su značajnu korelaciju samo između doze heroina i morfina koji ima najdulji poluživot.

Zaključak

Činjenica je da kosa kao biološki uzorak ima nekih prednosti u usporedbi s mokraćom, krvi ili slinom, jer omogućuje mnogo dulji period detekcije droga, ovisno o duljini kose. Uzima se pod kontrolom i upotrebom valjane analitičke metode odražava ponavljano/kronično uzimanje droge. Nije, međutim, moguće ustanoviti kolika je to količina droge bila te vrijeme uzimanja. Razlozi su mnogi: nepouzdanost izjava uživalaca droga o uzetoj količini; nepoznata čistoća uzete droge; utjecaj kozmetičkog tretmana kose; razlike u unosu droge iz krvi u kosu, stupanj znojenja i količina lojnih žlijezda pojedinih osoba, rast kose. Stoga su potrebna istraživanja u kontroliranim uvjetima s poznatom čistoćom i dozom droge te uzimanjem i analiziranjem kose u određenim vremenskim razmacima.

LITERATURA

1. Skender Lj. Identifikacija zlouporabe droga. Arh Hig Rada Toksikol 1997;48:403–11.
2. Baumgartner AM, Jones WA, Baumgartner WA, Black CT. Radioimmunoassay of hair for determining opiate abuse histories. J Nucl Med 1979;20:748–52.
3. Baumgartner WA, Hill VA, Blahd WH. Hair analysis for drugs of abuse. J Forensic Sci 1989;34:1433–53.
4. Henderson GL. Mechanisms of drug incorporation into hair. Forensic Sci Int 1993;63:19–29.
5. Cone EJ. Mechanisms of drug incorporation into hair. Ther Drug Monit 1996;18:438–43.
6. Cone EJ, Hillsgrove MJ, Jenkins AJ, Keenan RM, Darwin WD. Sweat testing for heroin, cocaine, and metabolites. J Anal Toxicol 1994;18:298–305.
7. Kidwell DA, Blank DL. Hair Analysis: Techniques and potential problems. U: Sunshine I, urednik. Recent developments in therapeutic drug monitoring and clinical toxicology. New York (NY): Marcel Dekker; 1992. str. 555–63.
8. Harkey MR. Anatomy and physiology of hair. Forensic Sci Int 1993;63:9–18.

9. Nakahara Y, Takahashi K, Shimamine M, Saitoh A. Hair analysis for drugs of abuse. IV. Determination of total morphine and confirmation of 6-acetylmorphine in monkey and human hair by GC/MS. *Arch Toxicol* 1992;66:669-74.
10. Moeller MR, Fey P, Wennig R. Simultaneous determination of drugs of abuse (opiates, cocaine and amphetamine) in human hair by GC/MS and its application to a methadone treatment program. *Forensic Sci Int* 1993;63:185-206.
11. Püschel K, Thomasch P, Arnold W. Opiate levels in hair. *Forensic Sci Int* 1983;21:181-6.
12. Harkey MR, Henderson GL, Zhou C. Simultaneous quantitation of cocaine and its major metabolites in human hair by gas chromatography/chemical ionization mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1991;15:260-5.
13. Henderson GL, Harkey MR, Zhou C, Jones RT, Jacob P. III. Incorporation of isotopically labelled cocaine and metabolites into human hair: Dose-response relationships. *J Anal Toxicol* 1996;20:1-12.
14. Cone EJ, Yousefnejad D, Darwin WD, Maguire T. Testing human hair for drugs of abuse. II. Identification of unique cocaine metabolites in hair of drug abusers and evaluation of decontamination procedures. *J Anal Toxicol* 1991;15:250-5.
15. Goldberger BA, Caplan YH, Maguire T, Cone EJ. Testing human hair for drugs of abuse. III. Identification of heroin and 6-acetylmorphine as indicators of heroin use. *J Anal Toxicol* 1991;15:226-31.
16. Nakahara Y, Ochiai T, Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse. V. The facility in incorporation of cocaine into hair over its major metabolites, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester. *Arch Toxicol* 1992;66:446-9.
17. Cone EJ, Darwin WD, Wang WL. The occurrence of cocaine, heroin and metabolites in hair of drug abusers. *Forensic Sci Int* 1993;63:55-68.
18. Edder P, Staub C, Veuthey JL, Pierroz I, Haerdi W. Subcritical fluid extraction of opiates in hair of drug addicts. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994;658:75-86.
19. Jurado C, Gimenez MP, Menendez M, Repetto M. Simultaneous quantification of opiates, cocaine and cannabinoids in hair. *Forensic Sci Int* 1995;70:165-74.
20. Kintz P, Mangin P. Simultaneous determination of opiates, cocaine and major metabolites of cocaine in human hair by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Forensic Sci Int* 1995;73:93-100.
21. Kauert G, Röhrich J. Concentrations of D⁹-tetrahydrocannabinol, cocaine and 6-monoacetylmorphine in hair of drug abusers. *Int J Legal Med* 1996;108:294-9.
22. Uhl M. Determination of drugs in hair using GC/MS/MS. *Forensic Sci Int* 1997;84:281-94.
23. Gaillard Y, Pepin G. Simultaneous solid-phase extraction on C₁₈ cartridges of opiates and cocaine for an improved quantitation in human hair by GC-MS: one year of forensic application. *Forensic Sci Int* 1997;86:49-59.
24. Goldberger BA, Darraj AG, Caplan YH, Cone EJ. Detection of methadone, methadone metabolites, and other illicit drugs of abuse in hair of methadone-treatment subjects. *J Anal Toxicol* 1998;22:526-30.
25. Höld D, Wilkins DG, Rollins DE, Joseph RE, Cone EJ. Simultaneous quantitation of cocaine, opiates, and their metabolites in human hair by positive ion chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr Sci* 1998;36:125-30.
26. Kronstrand R, Grundin R, Jonsson J. Incidence of opiates, amphetamines, and cocaine in hair and blood in fatal cases of heroin overdose. *Forensic Sci Int* 1998;92:29-38.
27. Eser HP, Pötsch L, Skopp G, Moeller MR. Influence of sample preparation on analytical results: drug analysis SGC/MSC on hair snippets versus hair powder using various extraction methods. *Forensic Sci Int* 1997;84:271-9.
28. Segura J, Ventura R, Jurado C. Derivatization procedures for gas chromatographic-mass spectrometric determination of xenobiotics in biological samples, with special attention to drugs of abuse and doping agents. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1998;713:61-90.
29. Sachs H. Theoretical limits of the evaluation of drug concentrations in hair due to irregular hair growth. *Forensic Sci Int* 1995;70:53-61.

30. Baumgartner WA, Hill VA. Hair analysis for drugs of abuse: Decontamination issues. U: Sunshine I, urednik. Recent developments in therapeutic drug monitoring and clinical toxicology. New York (NY): Marcel Dekker; 1992. str. 577-97.
31. Koren G, Klein J, Forman R, Graham K. Hair analysis of cocaine: Differentiation between systemic exposure and external contamination. *J Clin Pharmacol* 1992;32:671-5.
32. Blank DL, Kidwell DA. External contamination of hair by cocaine: An issue in forensic interpretation. *Forensic Sci Int* 1993;63:145-56.
33. Welch MJ, Sniegoski LT, Algood CC, Habram M. Hair analysis for drugs of abuse: evaluation of analytical methods, environmental issues, and development of reference materials. *J Anal Toxicol* 1993;17:389-98.
34. Blank DL, Kidwell DA. Decontamination procedures for drugs of abuse in hair: are they sufficient? *Forensic Sci Int* 1995;70:13-38.
35. Cirmile V, Kintz P, Mangin P. Drug concentrations in human hair after bleaching. *J Anal Toxicol* 1995;19:331-2.
36. Pötsch L, Skopp G. Stability of opiates in hair fibers after exposure to cosmetic treatment. *Forensic Sci Int* 1996;81:95-102.
37. Jurado C, Kintz P, Menendez M, Repetto M. Influence of cosmetic treatment on hair in drug testing. *Int J Legal Med* 1997;110:156-63.
38. Skopp G, Pötsch L, Moeller MR. On cosmetically treated hair-aspects and pitfalls of interpretation. *Forensic Sci Int* 1997;84:43-52.
39. Kintz P, Bundeli P, Brenneisen R, Ludes B. Dose-concentration relationships in hair from subjects in a controlled heroin-maintenance program. *J Anal Toxicol* 1998;22:231-6.

*Summary***HAIR – BIOLOGICAL SAMPLE FOR THE ANALYSIS OF DRUGS OF ABUSE**

Hair testing for drugs of abuse has the advantage of prolonged detection over blood, saliva, or urine analysis and is a useful diagnostic complement to them. This paper describes the main characteristics of hair as a biological sample and the mechanisms of incorporation, retention, and loss of drugs of abuse. The overview is confined to the most common procedures for determination of drugs of abuse, that is, those which involve gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). Each procedure basically includes the same steps: hair washing (decontamination), cutting, extraction/digestion, clean-up, and derivatisation. Although the analysis of hair has been worked out in detail, interpretation of findings of drugs of abuse in hair is complex. The content of hair is not uniform all along; a drug does not necessarily enter through the root; there are differences in hair growth; cosmetic treatment, purity of the taken drug, and the hair colour may affect the concentration of drugs of abuse in hair. The interpretation of findings must take all that into account. Positive findings of drugs of abuse in hair reflect chronic/recurring consumption but do not positively establish the quantity or time of consumption.

Key words:

decontamination, GC/MS technique, passive exposure

Requests for reprints:

dr. sc. Ljiljana Skender
p. p. 291, HR-10001 Zagreb
E-mail: Ljiljana.Skender@imi.hr