

Ricerca in HPLC-ORBITRAP di Etil glucuronide in larve di *Lucilia Sericata* prelevate da cadavere in avanzato stato di decomposizione

Autori

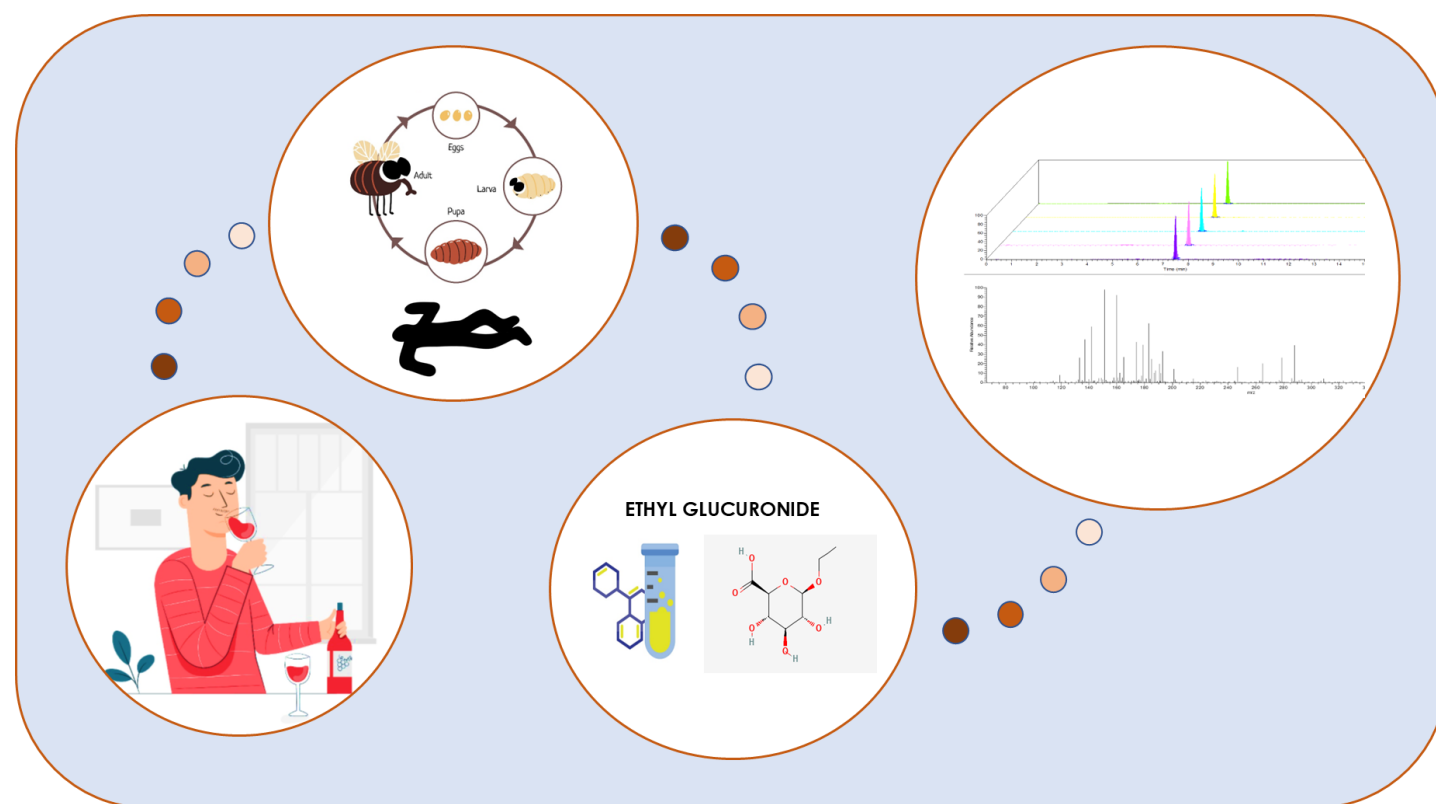
Alice Cerioni, Erika Buratti, Gianmario Mietti, Rino Frolidi, Marta Cippitelli, Mariano Cingolani, Roberto Scendonì.

Affiliazione

FORMED.LAB - Forensic Medicine Laboratory, Spin off dell'Università degli studi di Macerata, Via Don Minzoni 9, 62100 Macerata, Italia.

Bibliografia

- [1] F. Introna, C. Campobasso e M. Goff, «Entomotoxicology», *Forensic science international*, vol. 120, n. 1-2, pp. 42-47, 2001.
- [2] R. Chopi, S. Sharma, S. Sharma e R. Singh, «Forensic entomotoxicology: Current concepts, trends and challenges», *Journal of forensic and legal medicine*, vol. 67, pp. 28-36, 2019.
- [3] O. Groth, S. Franz, H. Fels, J. Krueger, G. Roeder, T. Dame, F. Musshoff e M. Graw, «Unexpected results found in larvae samples from two postmortem forensic cases», *Forensic toxicology*, vol. 40, n. 1, pp. 144-155, 2022.
- [4] R. B. Palmer, «A review of the use of ethyl glucuronide as a marker for ethanol consumption in forensic and clinical medicine», *Seminars in diagnostic pathology*, vol. 26, n. 1, pp. 18-27, 2009.
- [5] M. Gosselin, S. M. R. Wille, M. d. M. Ramirez Fernandez, V. Di Fazio, N. Samyn, G. De Boeck e B. Bourel, «Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists», *Forensic science international*, vol. 208, n. 1-3, pp. 1-9, 2011.



Introduzione

L'entomotossicologia è una branca dell'entomologia che studia l'applicazione delle analisi tossicologiche agli insetti cadaverici, per rilevare la presenza di sostanze esogene presenti nei tessuti. Se un cadavere si trova in avanzato stato di decomposizione o in presenza di morti traumatiche, i fluidi biologici potrebbero non essere disponibili per le analisi. Gli insetti cadaverici possono rappresentare, in questi casi, una valida matrice alternativa. In letteratura sono presenti pochissimi studi sulla determinazione dei marcatori di abuso alcolico sulle larve.

SCOPO DELLA RICERCA

Lo scopo di questo studio è quello di sviluppare e validare un metodo analitico in HPLC-Orbitrap per la ricerca e determinazione di uno dei principali marcatori di abuso alcolico, l'Etil glucuronide (EtG), in larve rinvenute su cadavere. Numerosi studi hanno dimostrato che l'identificazione dell'EtG sulle varie matrici biologiche indicano un'assunzione ante-mortem di alcol. La ricerca dell'EtG sulle larve potrebbe essere dunque utile per lo stesso scopo quando le matrici convenzionali non sono disponibili.

METODO

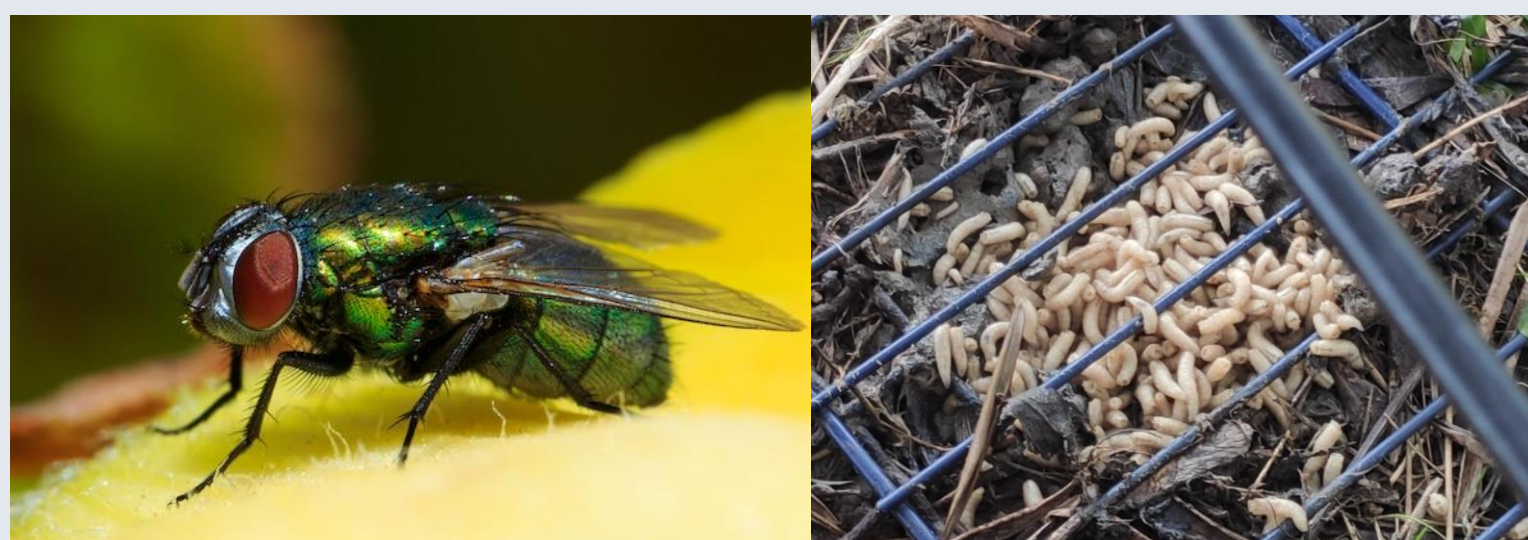
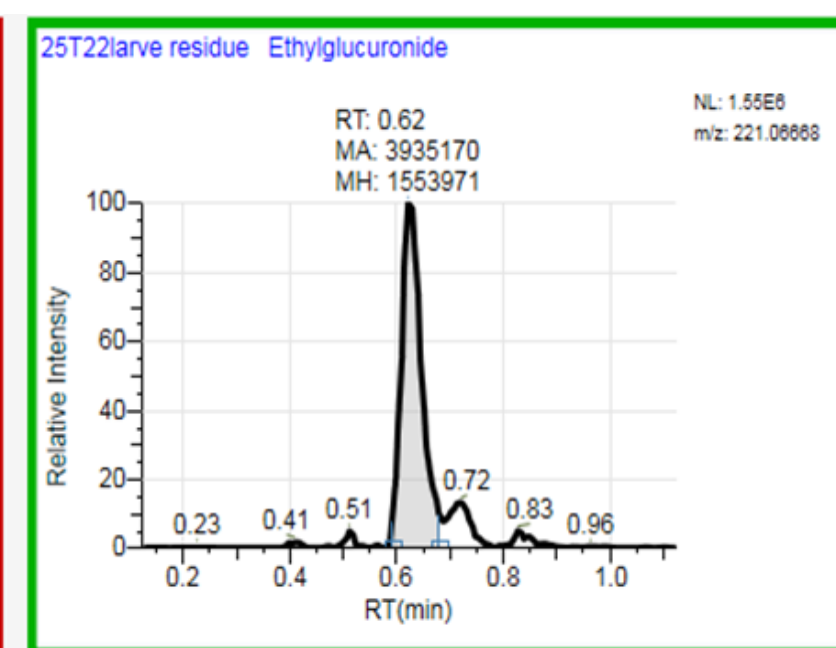
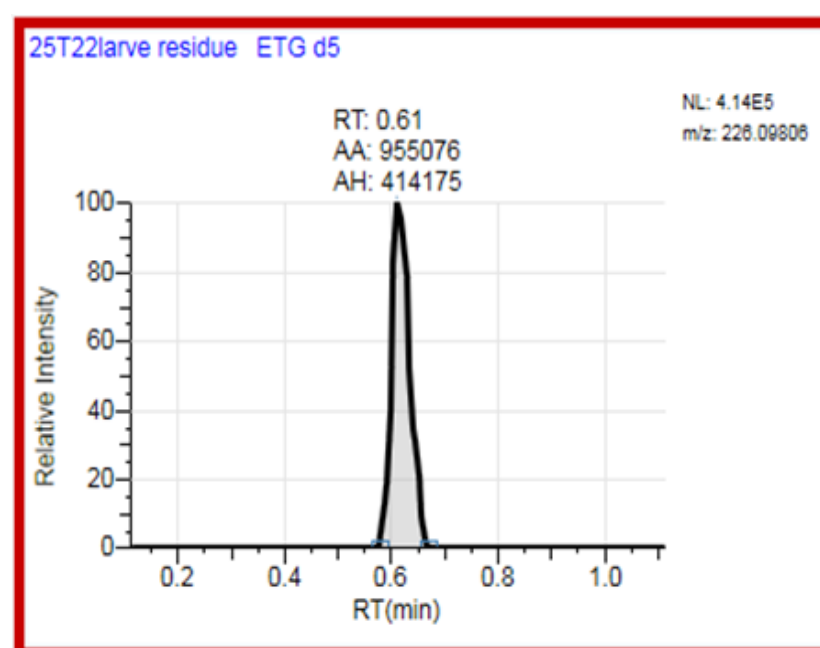
Per l'analisi 200 mg di campione sono stati dapprima omogenizzati meccanicamente e poi estratti mediante acqua e metanolo; sono stati inoltre aggiunti 20 ng di standard interno (Etil glucuronide-d5). I campioni sono stati incubati a temperatura ambiente overnight e poi sonicati e centrifugati. 500 µL di sovrantante sono stati portati a secco e risospesi con H₂O + 0,1% (v/v) di acido formico.

RISULTATI

L'applicazione del metodo precedentemente descritto ha permesso di rilevare la presenza di Etil glucuronide su larve di *Lucilia sericata* prelevate dalle cavità oculari di un cadavere di sesso maschile di 44 anni, trovato morto nel Luglio 2022. La concentrazione rilevata è pari a 524 pg/mg.

Analisi

L'identificazione dell'EtG è stata eseguita mediante l'impiego del sistema cromatografico Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 accoppiato con l'analizzatore Thermo Exactive Plus Orbitrap, utilizzando la colonna cromatografica Luna Omega 3µm Polar C18 (50 x 2.1 mm). La fase A è costituita da H₂O + 0,1% (v/v) di acido formico, mentre la fase B è costituita da acetonitrile + 0,1% (v/v) di acido formico. Per l'identificazione dell'EtG e del relativo standard interno sono state utilizzate le masse esatte e le masse degli ioni figli prodotti dalla collisione in sorgente.



Ringraziamenti

Si desidera ringraziare il dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV) dell'Università di Genova, e in particolar modo il Prof. Stefano Vanin per l'identificazione della specie delle larve.

Conclusioni

L'entomologia forense sta assumendo un ruolo sempre più rilevante nella tossicologia forense post-mortem, soprattutto quando i processi di decomposizione nel cadavere rendono non disponibili i campioni convenzionali utilizzati per le analisi tossicologiche. La raccolta e l'impiego di insetti è fortemente raccomandata come matrice alternativa per l'analisi qualitativa. Un grande vantaggio nell'impiego delle larve, infatti, è che questa matrice è presente generalmente in grandi quantità e rimane per lunghi periodi di tempo. Sicuramente sono necessari ulteriori studi per approfondire le conoscenze riguardo il processo metabolico dell'etanolo nelle larve e per verificare se esiste una correlazione tra la concentrazione di EtG rilevato nelle larve e la quantità di alcol consumata.