



TOSSICOLOGIA GENERALE E FORENSE

Dott. Luigi Sabbatella

Biologo Laboratorista e Forense

Consulente Tecnico per la Tossicologia Forense

TOSSICOLOGIA

TOSSICOLOGIA

Disciplina scientifica che si occupa dello studio di natura, proprietà, dosi ed effetti delle sostanze tossiche su un sistema biologico

Studio dei meccanismi con cui sostanze chimiche o agenti fisici possono determinare effetti dannosi in un sistema biologico,

Valutazione del grado di tossicità e dell'entità del rischio legato all'esposizione

Fattori della tossicità

Sostanza tossica

(dose e forma di tossicità: acuta, subacuta e cronica)

Tempo di contatto

(durata, frequenza, vie e siti di esposizione)

Fattori individuali

(fattori genetici, specie, sesso, età)

Patologie causate e vie metaboliche coinvolte

(assorbimento, distribuzione, metabolismo, escrezione)

Tempo di comparsa degli effetti

(tossicità immediata, tardiva e su base genetica)

Meccanismi della tossicità

Interferenza con le funzioni di membrana

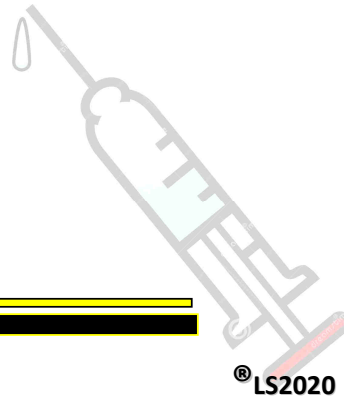
Interferenza con la produzione di energia

Legame e/o alterazione delle biomolecole

Alterazione dei sistemi omeostatici

Morte cellulare

Alterazioni genetiche



TOSSICOLOGIA FORENSE

SOSTANZA TOSSICA

sostanza che, una volta venuta in contatto con un sistema biologico, ne causa un'alterazione non desiderata

INTOSSICAZIONE

situazione patologica, acuta o cronica, derivante dall'esposizione ad una sostanza tossica e ad essa strettamente correlata

Branche della tossicologia

Tossicologia Alimentare

Tossicologia Ambientale

Tossicologia Analitica

Tossicologia Clinica e da Abuso

Tossicologia Forense

Tossicologia Industriale

Tossicologia Medica

Tossicologia Veterinaria

Tossicologia Clinica e da Abuso

diagnostica clinica e di laboratorio e terapia delle intossicazioni



Tossicologia Forense

applicazione delle metodologie proprie della tossicologia nell'ambito delle scienze forensi

TOSSICOLOGIA FORENSE

Sottobranca che trova il suo essere nell'applicazione delle metodologie proprie della tossicologia nell'ambito delle scienze forensi

Specifico campo di applicazione della tossicologia in situazioni che possono assumere o assumono rilevanza giuridica

Applicazione di metodiche analitiche a campioni di origine biologica per valutare la relazione causa-effetto tra una sostanza tossica e lo stato di salute di un individuo che può condurre finanche alla sua morte



I riscontri tossicologici possono costituire fonte di prova in sede processuale al fine di stabilire la colpevolezza e/o la reale intenzione da parte dell'imputato di causare un danno fisico alla parte lesa

IL TOSSICOLOGO FORENSE

Per rispondere in maniera motivata ai quesiti posti dalla competente autorità giudiziaria, al tossicologo forense vengono richieste numerose competenze, non solo in ambito scientifico

Competenze richieste al Tossicologo Forense

Farmacologico-Tossicologiche

Chimiche

Legali

Capacità di interpretare correttamente i risultati analitici sulla base di precisi riferimenti normativi

Per gli stessi motivi, grande attenzione deve essere posta, da parte del laboratorio, nella valutazione dell'affidabilità dei dati analitici ottenuti, presupposto di base per la loro corretta interpretazione

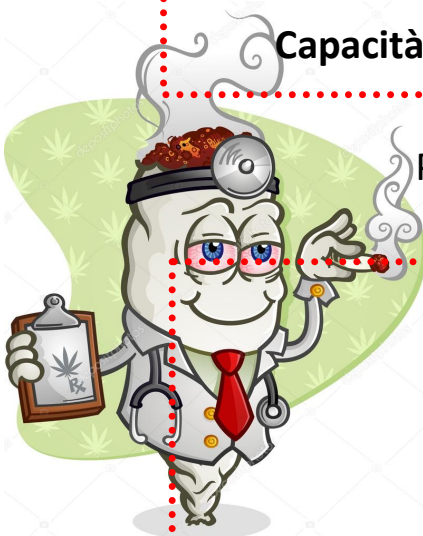
Caratteristiche richieste al laboratorio di Tossicologia Forense

Affidabilità

Presenza di personale altamente qualificato

Dotazione di strumentazione adeguata

Valida politica di gestione della qualità



ASPETTI NORMATIVI

AVVELENAMENTO

Lesioni personali (artt. 582. 583. 590 c.p.)

Omicidio (artt. 575, 584, 589 c.p.)

L'uso di sostanze venefiche presuppone premeditazione e costituisce aggravante da cui può scaturire la pena dell'ergastolo (art. 577 c.p.)

REATI STRADALI (legge 23 marzo 2016 n. 41)

Omicidio stradale (art. 589-bis c.p.)

Lesioni personali stradali (art. 590-bis c.p.)

Aggravante se commessi sotto effetto di alcool o stupefacenti

REATI SESSUALI (legge 15 febbraio 1996 n. 66)

Violenza sessuale (art. 609-bis c.p.)

Aggravante quando commessa con uso di sostanze alcoliche, narcotiche o stupefacenti (art. 609-ter c.2 c.p.)

DOPING SPORTIVO (legge 14 dicembre 2000 n. 376)

Introdotta il reato di doping sportivo (art. 9 legge 376/2000)

D.Lgs 21/2018, in vigore dal 6 aprile 2018, ha introdotto nel c.p. l'art. 586-bis (utilizzo o somministrazione di farmaci o di altre sostanze al fine di alterare le prestazioni agonistiche degli atleti)



LEGISLAZIONE ITALIANA SUGLI STUPEFACENTI

DPR 9 ottobre 1990 n. 309 e s.m.i.

“Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza”

Legge 16 maggio 2014 n. 79

“Disposizioni urgenti in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza di cui al DPR 309/90”

→ Ripristino del sistema sanzionatorio collegato agli illeciti relativi alle sostanze stupefacenti e psicotrope

Ultimo aggiornamento: modifiche apportate dal D.Lgs 29 ottobre 2016 n. 202 *Attuazione della direttiva 2014/42/UE relativa al congelamento e alla confisca dei beni strumentali e dei proventi da reato nell'Unione europea (G.U. n. 262 del 9/11/2016)*

Ultimo aggiornamento delle Tabelle I e IV.

DM Salute 13 marzo 2020 *Aggiornamento delle tabelle contenenti l'indicazione delle sostanze stupefacenti e psicotrope, di cui al decreto del Presidente della Repubblica 9 ottobre 1990, n. 309 e s.m.i.*

*Inserimento nella tabella I e nella tabella IV di nuove sostanze psicoattive
(G.U. Serie Generale n. 85 del 30/3/2020)*



Ultimo aggiornamento della Tabella dei medicinali.

DM Salute 23 dicembre 2019 *Inserimento nella tabella I e nella tabella dei medicinali sezione A della sostanza Tiletamina (G.U. Serie Generale n. 10 del 14/1/2020)*

TABELLE DELLE SOSTANZE STUPEFACENTI

DPR 9 ottobre 1990 n. 309 e s.m.i.

“Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza”

Art. 13 - Le sostanze stupefacenti o psicotrope, comprensive di quelle utilizzate come farmaci, sottoposte a vigilanza sono raggruppate in 5 tabelle.

Le tabelle vengono periodicamente revisionate e tempestivamente aggiornate

Artt. da 72 a 86 - Tabelle da I a IV collegate al sistema sanzionatorio per gli usi illeciti: tabelle I e III associate a sanzioni maggiori, tabelle II e IV associate a sanzioni minori

Art. 14 - Composizione delle tabelle



TABELLA I	OPPIO E DERIVATI OPPIACEI (morfina, eroina, metadone ecc.) FOGLIE DI COCA E DERIVATI AMFETAMINA E DERIVATI AMFETAMINICI (ecstasy, designer drugs) ALLUCINOGENI (LSD, mescalina, psilocibina, fenciclidina, ketamina ecc.)
TABELLA II	CANNABIS E DERIVATI
TABELLA III	BARBITURICI
TABELLA IV	BENZODIAZEPINE
TABELLA DEI MEDICINALI	SOSTANZE AD ATTIVITÀ FARMACOLOGICA UTILIZZATE IN TERAPIA CON LE RELATIVE PREPARAZIONI FARMACEUTICHE ED IL REGIME DI DISPENSAZIONE La tabella è suddivisa in 5 sezioni (A, B, C, D, E) in cui i medicinali sono distribuiti in relazione al decrescere del potenziale di abuso

LA “DROGA”

Definizione tratta dal “Vocabolario etimologico della lingua italiana” di Ottorino Pianigiani (1907) (<https://www.etimo.it/>)

droga prov. droja, drogua: *sp. e port.* droga; *fr.* drogue (*ingl.* drug; *mod. ted.* droge preso dal francese); dall'oland. DROOG — *ang. sass.* DRYG, *ingl.* DRY, *a. a. ted.* TROCK-AN o TRUCCH-AN, *mod.* TROCK-EN *arido, secco* [cfr. *ant. scand.* DRANGR *legno arido*]: osservando che la droga è appunto la pianta secca riserbata agli usi della farmacia e della cucina, e che la voce si diffuse in Europa sulla fine del Sec. XVI, quando gli Olandesi padroni del commercio di Oriente vennero a spacciare ne' mercati europei le merci dell'Asia e dell'Oceania. Alcuno nota come esistano nel celtico, e precisamente nel *cimb.* DRWG, *bass. bret.* DROUG, *drouk*, *irl.* DROCH, voci esprimenti in generale *cosa cattiva*, come per ordinario sono al gusto gl'ingredienti medicinali, ma ciò poco quadra al vero significato della voce Droga, destinata principalmente a stare in cucina. — Nome generico degl'ingredienti specialm. aromatici, che si usano in medicina, e per estens. anche di quelli usati in talune arti ed industrie: ma in modo speciale gli aromi, che si adoprano per aggraziare le pietanze e le bevande.

Deriv. *Drogiera*; *Drogheria*; *Droghiere*; *Droghista* (neolog.).

Il termine italiano “droga” originerebbe nel secolo XVI dall'olandese “droog”, analogo all'anglo-sassone “dryg” e all'inglese “dry”, con significato di “arido, secco”, caratteristiche tipiche delle piante essiccate e destinate all'uso come spezie o come farmaci (Pianigiani, 1907)

Altre teorie: il termine “drogges” è reperibile già nel 1327 in uno scritto inglese medio ad indicare una sostanza ad uso farmaceutico. Secondo questa ipotesi, il termine proverrebbe dal francese medio “drogue” riferibile a sostanze utilizzate in preparazioni farmaceutiche (fonte: *Oxford English Dictionary*, alla voce “drug”)



In origine la parola “droga” veniva utilizzata per indicare sostanze di origine animale, vegetale e minerale usate come ingredienti in preparazioni culinarie e/o farmaceutiche. In questa accezione il termine si diffonde nell'italiano moderno già a partire dal 1500 fino ai giorni nostri, come dimostrato dall'utilizzo odierno dei termini “drogheria, droghiere ecc.”

L'utilizzo del termine “droga” come sinonimo di sostanza stupefacente ad uso non terapeutico/voluttuario ed accezione negativa, si diffonde invece in un secondo momento, sembra già a partire dal secolo XVIII, per giungere ai giorni nostri

L'UOMO E LE DROGHE: UNA VECCHIA "AMICIZIA"

Preistoria: ritrovate pitture rupestri in cui viene rappresentato l'utilizzo di piante che presentavano particolari proprietà



Civiltà antiche (sumera, egizia, araba, greca e romana): utilizzo di sostanze psicoattive ricavate da diverse piante a fini religiosi e medici (cura di malattie, miglioramento delle prestazioni fisico-intellettive, eliminazione di sensazioni sgradevoli, evasione dalla realtà, favorire il sonno)

Medioevo cristiano: droga come strumento di male e peccato. Proibizionismo assoluto, pena il rogo

Tempi moderni: lo sviluppo di chimica, medicina e farmacologia permette la sintesi dei principi attivi e la loro modifica ottenendone di nuovi più efficaci

Il metà del secolo XIX: l'utilizzo di droghe per **uso medico** si diffonde in maniera notevole, accanto ad esso, però, si diffonde anche un parallelo **uso voluttuario** che, soprattutto nella II metà del secolo XX assume aspetti preoccupanti dal punto di vista sanitario e legale

→ In seguito alla diffusione dell'uso non terapeutico (volutuario) e della scoperta degli effetti negativi correlati all'uso di queste sostanze, nei tempi moderni il termine "droga" diventa sinonimo di "sostanza stupefacente"

SOSTANZE DA ABUSO

Definizione O.M.S.

“tutte quelle sostanze di origine vegetale o sintetica che agendo sul SNC provocano stati di dipendenza fisica e/o psichica, dando luogo in alcuni casi ad effetti di tolleranza (bisogno di incrementare le dosi con l'avanzare dell'abuso) e in altri casi a dipendenza a doppio filo e cioè dipendenza dello stesso soggetto da più droghe”



Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenze (DPR 9 ottobre 1990 n. 309)

“tutti quei composti naturali o di sintesi che, pur non avendo alcun effetto terapeutico sono adoperati volontariamente e determinano degli effetti sul piano comportamentale del soggetto tali da avere ripercussioni sul piano sociale. Alcuni di questi composti sono estratti e purificati da piante (oppio, cocaina, cannabis), mentre altri sono prodotti di laboratorio (amfetamine, ecstasy)”

SOSTANZE DA ABUSO: CLASSIFICAZIONE

Classificazione per effetti

- **Psicolettici: deprimono** le funzioni psichiche (oppiacei, alcool, benzodiazepine, barbiturici)
- **Psicoanalettici: eccitano** le funzioni psichiche (cocaina, amfetamine, nicotina, caffeina)
- **Psicodislettici: alterano** le funzioni psichiche (cannabinoidi naturali e sintetici)
- **Psichedelici o psicoattivi: distorcono** le percezioni sensoriali (ecstasy, LSD, mescalina, psilocibina ed altri allucinogeni)

Sostanze da abuso "classiche"

- **Cocaina**
- **Oppiacei (Morfina, Eroina)**
- **Cannabinoidi**
- **Amfetamine e Metamfetamina**
- **Ecstasy (MDMA, congeneri e derivati)**
- **Alcool Etilico**

Principali farmaci da abuso

- **Metadone**
- **Buprenorfina**
- **Benzodiazepine**
- **Barbiturici**

"Nuove" sostanze psicoattive (NSP)

- **Feniletilammine sintetiche**
- **Triptammine naturali e sintetiche**
- **Cannabinoidi sintetici**
- **Oppiacei sintetici (Fentanyl e derivati)**

- **Anestetici dissociativi (Ketamina, Fenciclidina)**
- **Piperazine sintetiche**
- **Catinoni naturali (Q̃āt) e sintetici**
- **Acido gamma-idrossibutirrico (GHB)**



SOSTANZE DA ABUSO “CLASSICHE”

Cocaina

- Origine vegetale (foglie di *Erythroxylon coca*)
- Stimolante del SNC (eccitazione, stato di euforia e benessere) per inibizione ricaptazione dopamina
- Tolleranza e dipendenza psichica, ma non dipendenza fisica
- **Ricerca nei fluidi biologici dei metaboliti (benzoilecgonina) e di cocaetilene (farmacologicamente attivo) dopo assunzione combinata di cocaina ed alcool etilico**



Oppiacei

- Alcaloidi vegetali (capsule immature *Papaver somniferum*)
- Azione dovuta alla morfina: per uso voluttuario preferito derivato semisintetico (**eroina** o 3,6-diacetilmorfina), maggiormente lipofila
- Interazione con i recettori per gli oppioidi endogeni
- Deprimono il SNC (analgesia, offuscamento mentale, sonnolenza, stato di pace e benessere, euforia)
- Tolleranza, dipendenza psichica e fisica (craving e drammatica crisi d'astinenza alla privazione)
- **Morfina e 6-MAM** (6-monoacetilmorfina) principali metaboliti riscontrabili nei fluidi biologici
- **Ricerca 6-MAM fondamentale per discernere *in vivo* l'uso di eroina da quello di morfina**
- **Codeina (metilmorfina) impurezza nell'eroina da strada, prova ulteriore dell'uso *in vivo* di eroina**



Cannabinoidi

- *Cannabis sativa* (piante femminili: infiorescenze *marijuana*, resina *hashish*), principio attivo THC
- Interazione con i recettori del sistema cannabinergico endogeno
- Effetti euforizzanti con incoordinazione motoria e dell'equilibrio, alterazione capacità di giudizio e cognitive
- Tolleranza e blanda sindrome di astinenza in consumatori di lungo corso di elevate quantità di sostanza
- **Principale metabolita: THC-COOH, numerosi altri metaboliti farmacologicamente attivi e lenta eliminazione per accumulo di metaboliti lipofili**



SOSTANZE DA ABUSO “CLASSICHE”

Amfetamine

- Derivati sintetici dell'efedrina (estratta da piante del genere *Ephedra*)
- Stimolazione del SNC (inibizione reuptake neurotrasmettitori monoamminici e MAO)
- Effetti psicostimolanti ed anoressizzanti: (euforia, senso di benessere e forza)
- Tolleranza, dipendenza psichica e fisica (uso prolungato: esaurimento psico-fisico e malnutrizione)
- Escrete in massima parte come sostanza parente

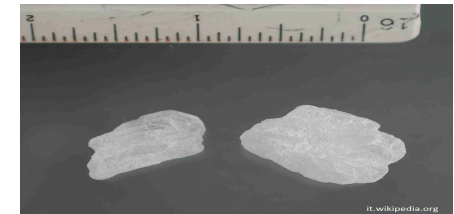
Metamfetamina (ICE, SHABOO, BLUE SKY, CRYSTAL METH)

- N-metil omologo dell'amfetamina: effetti analoghi ma più potenti (maggiore lipofilia)
- Fortissima dipendenza, sia fisica che psichica
- Disturbi della personalità (ansia e confusione, violenza, neurotossicità irreversibile, perdita capelli e denti, overdose spesso fatale)
- Escreta in parte come sostanza parente, in parte demetilata ad amfetamina

Ecstasy

- Diverse molecole amfetaminosimili di sintesi (inibizione reuptake serotonina e azione MAO)
- Capostipite **MDMA (3,4-metilendioissimetamfetamina)**, ma diverse molecole trovate in pasticche vendute sul mercato nero
- Stimolazione psicofisica (euforia, percezioni vivide, miglioramento stato dell'umore, anoressia)
- **Effetti entactogeni** (stato psicologico tale da aumentare la capacità di introspezione) ed **empatogeni** (aumento della capacità di immedesimazione e facilitazione nel rapporto con gli altri)
- Tolleranza acuta e neurotossicità, test di laboratorio basati su ricerca delle sostanze parenti

→ La varietà di principi attivi esistenti e potenzialmente sintetizzabili origina sia problematiche legali (sostanze “nuove” non tabellate) che di laboratorio (sostanze “non prevedibili” e quindi non rilevabili)



PRINCIPALI FARMACI DA ABUSO

Metadone

- Oppiaceo sintetico privo di effetti euforizzanti, usato come analgesico e nel divezzamento da eroina
- Lunga durata d'azione e sindrome d'astinenza minore, tolleranza e dipendenza fisica
- **Dosaggio metadone urinario richiesto nella valutazione della compliance alla terapia sostitutiva**
- **Ricerca EDDP (metabolita principale) per evitare falsi positivi (adulterazione per aggiunta di metadone t.q.)**

Burprenorfina

- Oppiaceo semisintetico usato come analgesico e nel trattamento della dipendenza da oppiacei
- Lunga durata d'azione (circa 24h) che ne permette la monosomministrazione giornaliera
- Dipendenza fisica
- Dosaggio urinario: ricerca metaboliti (**norburprenorfina**)

Benzodiazepine

- Famiglia di farmaci ad azione sedativo-ipnotica, ansiolitici ed anticonvulsivanti
- Agonisti indiretti recettori $GABA_A$ (controllo endogeno sugli effetti)
- **Associazione con altre sostanze ad azione depressiva sul SNC (alcool, oppiacei) ne potenzia l'azione e gli effetti**
- Tolleranza e dipendenza sia psichica che fisica (fenomeni di *rebound* e crisi d'astinenza alla brusca sospensione)

Barbiturici

- Farmaci ad azione sedativo-ipnotica con limite ristretto tra dosaggi terapeutici e tossico-letali
- Agonisti diretti dei recettori $GABA_A$, riducono l'eccitabilità neuronale
- Tolleranza e dipendenza, sia fisica che psicologica, overdose spesso volontaria a scopo suicidario
- Associazione con altri depressivi del SNC (alcool, oppiacei) ne potenzia l'azione

→ **Benzodiazepine e barbiturici originano problematiche nella diagnostica di laboratorio: sostanze parenti e metaboliti da ricercare possono essere estremamente variabili**



ALCOOL ETILICO

Sostanza legale, contenuta in numerose bevande di uso quotidiano, il cui consumo è regolamentato dalla legge qualora il soggetto debba porsi alla guida di un veicolo (art. 186 e 186-bis c.d.s.), oppure nel caso di situazioni lavorative che richiedano uno stato psico-fisico ottimale per essere (D.Lgs n. 81 del 9/4/2008 e s.m.i. “*Testo unico in materia di salute e sicurezza sul lavoro*”)

→ **Soglia di ebbrezza definita per legge: tasso alcolemico di 0.5 g/l (art. 186 c.d.s.)**



Tasso alcolemico (g/l)	Effetti
0.2 – 0.4	Lieve euforia, loquacità, lieve incoordinazione motoria, riduzione dell'attenzione
0.5 – 0.8	Aumento dell'incoordinazione motoria, riduzione della capacità percettiva
0.8 – 1.0	Ritardo nei tempi di reazione, sopravvalutazione delle proprie capacità di guida
1.0 – 1.5	Instabilità emotiva, alterazioni della memoria, atassia, disartria
2.0 – 4.0	Ubriachezza profonda: confusione mentale, disorientamento, alterazioni percettive
> 4.0	Coma, ipotermia, ipotensione, ipoventilazione, potenzialmente mortale

Effetti depressivi sul SNC

- Iniziale **stato di ebbrezza** (euforia e perdita dei freni inibitori), all'aumento della dose assunta si ha instabilità emotiva, diminuzione percezioni sensoriali, deambulazione incerta, loquacità, incoerenza del pensiero e sonnolenza
- **Intossicazione acuta**: stato confusionale, nausea e vomito, vertigini, ipotermia, incoordinazione motoria ed ideativa, possibile evoluzione fino a coma e decesso
- **Intossicazione cronica**: può causare demenza alcolica (ansia, depressione, psicosi, disturbo bipolare, deficit dell'attenzione, iperattività)
- **Tolleranza e dipendenza fisica** (drammatica crisi d'astinenza con attacchi epilettici, *delirium tremens*, allucinazioni e scompenso cardiaco)

→ **Circa il 10% dell'etanolo ingerito viene eliminato come tale con il respiro (test utilizzati on-site dalle forze dell'ordine per contestarne il consumo alla guida), il sudore e l'urina**

TASSO ALCOLEMICO E ALCOLURIA

- **Sangue:** massima concentrazione plasmatica dopo ~ 20 minuti dall'assunzione
- **Saliva ed aria espirata:** seguono le variazioni dell'alcolemia in tempi brevi
- **Urine:** concentrazione massima è raggiunta dopo ~ 2 h dall'assunzione

Tempi brevissimi (poche ore)

Sangue intero (**tasso alcolemico**) e saliva (correlabile al tasso alcolemico)

→ **Correlazione diretta tra tasso alcolemico e stato di ebbrezza**

→ **Dosaggio tasso alcolemico:**

prelievo dedicato, NaF (10 mg/ml) come preservante (blocca la conversione del glucosio in etanolo), conservare a -20°C

eseguire sempre su sangue intero e mai su plasma e/o siero (il maggior contenuto in acqua, in cui l'etanolo diffonde liberamente, può causare sovrastima del valore fino al 26%)

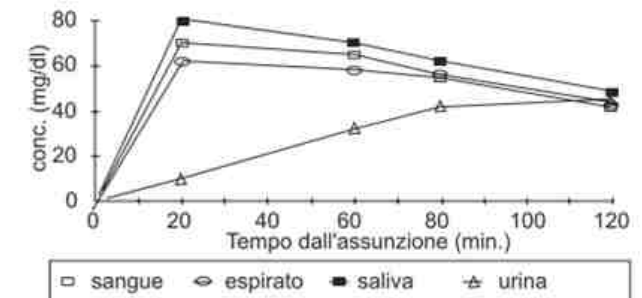
Dosaggio su plasma e/o siero utilizzabile solo a scopi clinici, mai a scopi medico-legali o forensi

Tempi brevi (fino a 12 h)

Urine: **alcoluria** (dosaggio dell'etanolo nelle urine)

L'alcoluria **non è un buon indicatore dello stato di ebbrezza**, ma per via dei tempi maggiori di permanenza dell'etanolo nelle urine rispetto al sangue, riveste grande importanza nel **monitoraggio dell'astinenza**

Fig. 1 - Alcol etilico: concentrazione nei liquidi biologici



(M. Badii, S. Corezzi, D. Tavanti "Il laboratorio nell'intossicazione acuta e nell'abuso cronico di alcool" in D. Angioli, P.E. Dimauro, "Manuale di alcologia", 2000, pag. 220)

BIOMARCATORI DI USO/ABUSO DI ALCOL ETILICO

Dati i tempi di permanenza estremamente ridotti dell'etanolo t.q. nei fluidi biologici, sono stati studiati marcatori indiretti che permettono di allargare la finestra di rilevazione

- **Parametri biochimici "classici"**

MCV (volume medio globuli rossi), **transaminasi GOT e GPT**, **gamma-GT** (marcatori di danno epatico), tendono ad aumentare negli alcolisti, sono poco specifici, ma possono essere di aiuto nell'inquadramento generale del soggetto

- **Nuovi marcatori ad elevata sensibilità e specificità:**

Transferrina carboidrato carente (CDT), **Etilglucuronato (EtG)**, **Etilsolfato (EtS)**

→ **Transferrina carboidrato carente (CDT)**

Abuso di alcool interferisce con la glicosilazione della transferrina, glicoproteina di sintesi epatica

Aumento della CDT già dopo una settimana di consumo sostenuto di etanolo (> 50-80 g/die)

In seguito ad astinenza, il suo tempo di dimezzamento è di circa 15-20 gg

Utilizzo come biomarcatore indiretto nella verifica e nel monitoraggio dell'abuso cronico di alcool



→ **Etilglucuronato (EtG) ed Etilsolfato (EtS)**

Elevata sensibilità e specificità

Utilizzo per colmare il gap tra marcatori a breve e a lungo termine dell'abuso di alcool

Dosaggio ematico utile per calcolare con buona approssimazione il reale momento dell'assunzione di alcool (max concentrazione ematica in 3-5 h dall'assunzione di alcool, determinabili fino a 10-20 h)

Dosaggio urinario utile nel monitoraggio di pazienti in trattamento per alcolismo (nelle urine elevati in consumatori cronici e dopo uso acuto eccessivo, nulli negli astemi, rilevabili fino a 78 h dopo la completa eliminazione dell'alcool dall'organismo)

NUOVE SFIDE PER IL TOSSICOLOGO

EVOLUZIONE CONTINUA

La ricerca scientifica conduce al miglioramento continuo delle conoscenze sulle sostanze d'abuso

La continua evoluzione tecnica, a livello di strumentazione e di kit diagnostici, permette di incrementare la produttività del laboratorio e la validità dei dati ottenuti

LE “NUOVE” SOSTANZE PSICOATTIVE

La continua comparsa sul mercato di nuove molecole ad azione psicotropa apre ulteriori sfide per il laboratorio di tossicologia

Sostanze difficilmente rilevabili con metodiche standard, che determinano la necessità di un continuo aggiornamento tecnico-professionale delle conoscenze e delle competenze di coloro che operano nel settore

→ Prevalentemente molecole ottenute per via sintetica, con proprietà farmaco-tossicologiche peculiari, la cui produzione, spaccio e consumo, almeno inizialmente risultano “legali”, in quanto non incluse nelle tabelle ministeriali degli stupefacenti

→ Importante emergenza dal punto di vista sanitario, dato che spesso vengono immesse sul mercato senza preventive valutazioni puntuali dei possibili effetti farmacologici e tossici



LE NUOVE SOSTANZE PSICOATTIVE (NSP)

Sostanze da abuso esistenti sia come sostanza pura che sotto forma di preparazione, non controllate dalla "Single convention on narcotic drugs" del 1961 o dalla "Convention on psychotropic substances" del 1971, che possono generare problematiche di salute pubblica allo stesso modo delle sostanze già note e tabellate (definizione Comunità Europea 2005)

- Origine prevalentemente sintetica:
 - manipolazione di sostanze già note
 - creazione di nuove strutture chimiche
- Produzione, spaccio e consumo legali fino all'inclusione nelle tabelle ministeriali degli stupefacenti
- Non rivelabili con le tecniche standard comunemente impiegate in laboratorio
- Emergenza sanitaria
 - effetti imprevedibili
 - acquirenti spesso cavia inconsapevoli
 - incapacità di riconoscerne l'abuso da parte del personale sanitario
 - difficoltà e/o impossibilità nel dosaggio di laboratorio



CLASSIFICAZIONE DELLE NSP

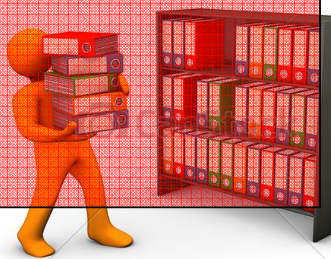
Classificazione merceologica

(diverse sostanze possono essere classificate in più gruppi, in base alle caratteristiche di sintesi, consumo ed effetti ricercati)

Designer Drugs

- Sintesi per manipolazione di molecole già note
- “Disegnate” in base alle “richieste” di mercato
- Aggiramento normative di legge che regolamentano le sostanze stupefacenti (non inclusione nelle tabelle del DPR 309/90)

Feniletilammine (amfetamine, MDMA, omologhi di nuova sintesi)
Cannabinoidi sintetici
Catinoni
Tryptamine
Opiacei sintetici (fentanyl e derivati)
Ketamina e Fenciclidina (PCP)
Piperazine



Club Drugs, Disco Drugs, Recreational Drugs

- Modello prevalente di consumo, legato alla frequentazione di discoteche, *rave party* ed *after-hour*

Ecstasy
GHB
Flunitrazepam
Ketamina e Fenciclidina (PCP)
Catinoni
Popper

Smart Drugs

- Sostanze considerate vicine alle esigenze del consumatore e facili da gestire (“*smart drugs*”, *droghe “furbe”*)
- Riproposizione “commerciale” di preparati già utilizzati nella medicina alternativa etnica e durante riti e/o cerimonie o di “vecchie” sostanze cadute in disuso

Cannabinoidi sintetici
Tryptamine (ayahuasca, DMT)
Feniletilammine (ecstasy, DOM, mescalina, psilocina)
Noce Moscata
Herbal-XTC (efedrina)
LSD

Date Rape Drugs (droghe da stupro)

- Sostanze il cui consumo è stato associato anche a reati di tipo sessuale
- Incolori, insapori e solubili nei liquidi, causano amnesia anterograda e stato di semi-incoscienza

Alcool etilico
GHB (Acido γ -idrossibutirrico, sodio oxibato, *Alcover*®)
Flunitrazepam (*Roipnol*®) ed altre Benzodiazepine
Ketamina (*Ketalar*®, *Ketanest*®, *Ketaset*®)
Zolpidem (*Stilnox*®) ed altre Z-drugs

NASCITA DELLA TOSSICOLOGIA FORENSE

La tossicologia forense nasce in maniera strettamente correlata alla medicina legale

Legata principalmente allo studio di alterazioni tossicologiche *post-mortem*

Scopi prettamente clinici e medico-legali, legati alla ricerca di sostanze stupefacenti e psicotrope, soprattutto in corso di indagini penali

Ambito prettamente medico-legale

Studio di alterazioni tossicologiche su cadavere

Decessi legati all'uso di droghe

Crimini correlati all'uso di droghe

Crimini favoriti dall'assunzione inconsapevole di droghe da parte della vittima



LA TOSSICOLOGIA FORENSE NEL XXI SECOLO

Nuova concezione maggiormente correlata allo studio del soggetto vivente

Interessi particolari quando le abitudini voluttuarie del soggetto rivestono particolare importanza per la comunità



La maggior parte delle richieste che giungono oggi ad un laboratorio di Tossicologia Forense riguarda l'esecuzione di analisi a scopo amministrativo o medico-legale su campioni biologici di soggetti viventi che ricadono nelle seguenti casistiche:

- Diagnosi di *drug-free*
- Diagnosi di uso recente di sostanze tossiche
- Diagnosi di uso e/o abuso di sostanze tossiche
- Diagnosi in ambito sportivo (antidoping)

Ulteriore ambito in cui può operare il laboratorio di tossicologia forense:

→ Accertamenti su materiale non biologico (esame di sostanze ignote, materiali sequestrati ecc.)

INDAGINI TOSSICOLOGICHE SU VIVENTE

Conseguimento o revisione di patente di guida disposta per guida in stato di ebbrezza alcolica o sotto effetto di sostanze stupefacenti (artt. 119, 186, 186-bis e 187 c.d.s.)

Accertamenti su lavoratori le cui mansioni comportano rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi (art. 125 DPR 309/1990, Legge 125/2001 *"Legge quadro in materia di alcool e problemi alcool correlati"*)

Certificato di idoneità alla mansione (D.Lgs 81/2008 e s.m.i. *"Testo unico in materia di salute e sicurezza sul lavoro"*)

Valutazione dell'assenza di consumo di stupefacenti nell'ambito dei programmi di recupero e riabilitazione e verifica dei trattamenti alternativi alle sanzioni previste dal DPR 309/1990 e s.m.i. (*"Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza"*)

Selezione del personale all'atto del reclutamento e mantenimento dei requisiti di idoneità al servizio militare (D.Lgs 66/2010 *"Codice dell'ordinamento militare"*)

Idoneità al rilascio del porto d'armi secondo i criteri stabiliti dal Ministero della Salute (D.M. 28 aprile 1998)

Affido di minori in caso di separazione dei genitori (Legge 54/2006 *"Disposizioni in materia di separazione dei genitori e affidamento condiviso dei figli"*, D.Lgs 154/2013 *"Revisione delle disposizioni vigenti in materia di filiazione a norma dell'art. 2 della legge 10 dicembre 2012, n. 219"*, artt. da 337-bis a 337-octies c.c.)

Richieste di adozione internazionale di minori (Requisiti generali Legge 184/1983 come modificata dalla Legge 476/1998 *"Procedura di adozione internazionale"*, convenzione de L'Aja 29 maggio 1993 *"Tutela dei minori e cooperazione in materia di adozioni internazionali"*. Variazioni possibili in base allo stato di origine del minore adottando)



IL LABORATORIO DI TOSSICOLOGIA FORENSE

→ La richiesta di esami tossicologici è generalmente motivata da esigenze di carattere clinico e/o medico-legale

→ In caso di finalità medico-legale, i risultati possono assumere il carattere di prova giudiziaria per cui devono possedere determinati requisiti



Requisiti richiesti

Certezza dei risultati
Affidabilità dei risultati
Trasparenza dei risultati
Uniformità dei risultati

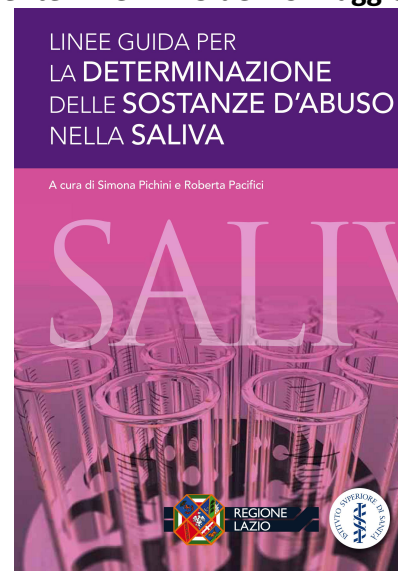


Per dimostrare la presenza di questi requisiti sono necessarie:

- la documentazione puntuale di ogni fase analitica
- la tracciabilità di ogni fase analitica

ORGANIZZAZIONE DEL LABORATORIO DI TOSSICOLOGIA FORENSE

- **D.P.R. n. 502 del 14 gennaio 1997** (*Requisiti strutturali, tecnologici ed organizzativi minimi per l'esercizio delle attività sanitarie da parte delle strutture pubbliche e private*): **"è responsabilità delle singole Regioni approntare linee guida per i percorsi diagnostici"**
- **Decreto del Commissario ad Acta n. U00054 del 27 febbraio 2003** (Regione Lazio)
- **Istituto Superiore di Sanità 2013-2017** (**Linee guida e procedure condivisibili a livello nazionale per uniformare le differenti gestioni regionali**) Definizione di requisiti univoci che permettano al laboratorio che li applichi di fornire un servizio di elevata qualità (organigramma, responsabilità, acquisizione ed analisi dei campioni, procedure di validazione delle metodiche, cut-off stabiliti, monitoraggio interno ed esterno dell'affidabilità, modalità di refertazione ed interpretazione dei risultati)
- **Gruppo Tossicologi Forensi Italiani "Linee Guida per le strutture dotate di laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente"**. Rev. n. 5 del 29 maggio 2017



ORGANIZZAZIONE DEL LABORATORIO DI TOSSICOLOGIA FORENSE

PERSONALE DI LABORATORIO



© Can Stock Photo - csp15447019

Direttore Tecnico

Responsabile dell'attività del laboratorio
Laurea biomedica e formazione tossicologica specifica
Redazione procedure operative standard (P.O.S.), catena di custodia e controllo di qualità

Personale laureato e tecnico

Svolge l'attività di laboratorio in osservanza alle P.O.S.
Laurea biomedica e formazione tossicologica)

Responsabile per la gestione della qualità

Applicazione e mantenimento disposizioni qualità (norme ISO/IEC17025:2005)
Redazione manuale della qualità, monitoraggio controlli, conformità attività di laboratorio alle P.O.S., verifica azioni correttive necessarie

SICUREZZA DEL LABORATORIO

Divieto di accesso al personale non autorizzato ai luoghi in cui vengono raccolti e lavorati i campioni

Divieto di accesso al personale non autorizzato ai luoghi in cui vengono custoditi i campioni ed i documenti ad essi relativi

Registro entrate ed uscite e/o videosorveglianza nelle aree protette



© Can Stock Photo - csp15447019

LA CATENA DI CUSTODIA

Scopo della catena di custodia dei campioni:

- Documentazione puntuale di ogni fase analitica
- Tracciabilità di ogni fase analitica
- Riconducibilità di ogni singolo campione al paziente da cui proviene

→ **La modulistica predisposta deve rendere tracciabile in maniera univoca qualsiasi movimentazione del campione dalla raccolta allo smaltimento**

Deve obbligatoriamente contenere le seguenti informazioni:

- tipologia, caratteristiche ed idoneità del campione
- struttura in cui il campione viene raccolto ed analizzato
- data e ora della raccolta
- nome e firma di chiunque abbia avuto in custodia il campione
- identificatore univoco (di solito codice a barre autoadesivo) che accomuni il verbale di prelievo, la catena di custodia e le diverse aliquote del campione



La registrazione dei dati della catena di custodia va conservata su supporto cartaceo e/o informatico per un periodo di tempo non inferiore ai 5 anni

MATRICI BIOLOGICHE

Matrici biologiche normalmente utilizzate per la ricerca delle sostanze da abuso:

- **Matrice ematica** (sangue, plasma, siero)
- **Matrice urinaria**
- **Matrice salivare** (fluido orale)
- **Matrice cheratinica** (capelli o peli di altra origine)

Scelta della matrice biologica più opportuna in base a diversi fattori e parametri:

- **finalità dell'indagine**
- **tipo di sostanza da identificare**
- **tempi, modi e tipologia di assunzione**
- **farmacocinetica e farmacodinamica della sostanze di interesse**



MATRICE EMATICA

Matrice di elezione per gli esami di laboratorio e, storicamente, anche per la tossicologia

Caratteristiche fondamentali:

Tempi brevi di permanenza di sostanze da abuso e loro metaboliti

Vantaggi principali:

- Permette la valutazione di un'eventuale assunzione recente
- È direttamente correlabile con lo status psico-fisico del soggetto al momento del prelievo

Svantaggi principali:

- Il prelievo deve essere eseguito in tempi necessariamente ristretti per evitare risultati falsamente negativi.
- Procedura invasiva soggetta a rischi sia per il paziente che per l'operatore

Tempi orientativi di permanenza delle sostanze nel sangue:

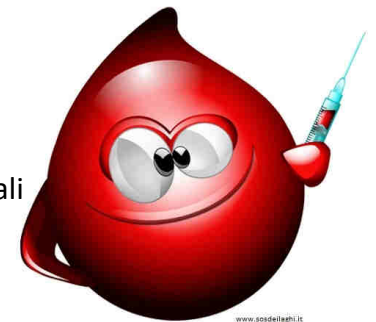
Cocaina: 12 h (cataboliti 24-36 h)

Oppiacei: Eroina pochi minuti, 6-MAM 1-2 h, Morfina e Codeina 12-15 h, Metadone 24 h

Cannabinoidi: THC 2-3 h, THC-COOH 12-24 h in consumatori saltuari, cataboliti fino a 2 settimane nei consumatori abituali

Amfetamine e congeneri: 24 h

Alcool etilico: poche ore



MATRICE SALIVARE

- La saliva è una miscela di secrezioni ghiandolari contenente proteine, batteri, leucociti, cellule epitelio orale, liquido dello spazio subgengivale e trasudato mucoso)
- Può essere considerata un ultrafiltrato plasmatico composto da acqua (99%) e proteine (mucina, lisozima, immunoglobuline, albumina) in concentrazioni di 0.20-4.00 g/l, e pH 6.2-7.4
- La maggior parte delle sostanze d'abuso (eccezione significativa: cannabinoidi) diffonde liberamente nella saliva per trasporto passivo dal torrente circolatorio

→ Le concentrazioni salivari correlano in maniera diretta con quelle ematiche

Caratteristiche fondamentali:

Tempi di permanenza delle sostanze d'abuso e loro metaboliti intermedi tra sangue ed urine

Vantaggi principali:

- Modalità di raccolta non invasiva
- È direttamente correlabile con lo status psico-fisico del soggetto al momento della raccolta

Svantaggi principali:

- Tempi brevi di permanenza delle sostanze d'abuso (in genere nel range 1-24 h)
- Carenza di kit e metodiche validate (oggi utilizzata di routine solo nei controlli per guida sotto effetto di alcool o stupefacenti ex-artt. 186 e 187 c.d.s.)

Tempi orientativi di permanenza delle sostanze nella saliva:

Cocaina (12 h, BE 12-24 h), Oppiacei (Eroina pochi minuti, 6-MAM 30'-8 h, Morfina 12-24 h), Cannabinoidi (THC fino a 30 h, eseguire sempre contestuale controllo su matrice urinaria per esposizione a fumo passivo), Amfetamine e congeneri (24 h), Alcool etilico (poche ore)



MATRICE URINARIA



Matrice biologica maggiormente utilizzata in laboratorio per la ricerca di sostanze d'abuso e loro metaboliti

Caratteristiche fondamentali:

Tempi di permanenza delle sostanze da abuso e dei loro metaboliti maggiori rispetto alle matrici ematica e salivare

Vantaggi principali:

- Raccolta non invasiva, possibilità di campionare grandi volumi
- Permette la rilevazione, nella maggioranza dei casi, sia della sostanza parente che dei suoi metaboliti anche diversi giorni dopo l'assunzione

Svantaggi principali:

- Scarsa rilevanza dell'analisi quantitativa (concentrazione variabile con dose assunta, via di assunzione, periodo di tempo intercorso, stato fisico dell'individuo e concentrazione/diluizione del campione *in vivo*)
- Nessuna informazione su quantità di sostanza assunta e tempistiche di assunzione
- Fornisce informazioni solo su eventuale uso/abuso
- Nessuna correlazione con lo status psico-fisico del paziente al momento della raccolta

Tempi orientativi di permanenza delle sostanze nelle urine:

Cocaina (BE 48-72 h), Oppiacei (Morfina 48-72 h, Metadone 48-96 h), Cannabinoidi (THC-COOH 2-3 gg in consumatori saltuari, 2-3 settimane in consumatori abituali), Amfetamine e congeneri (48-72 h), Etanolo (fino a 6-12 h), Benzodiazepine (fino a 7-10 gg), Barbiturici (fino a 10-15 gg)

MATRICE CHERATINICA

Il capello può essere definito la “**memoria storica**” di tutte le sostanze a cui è stato esposto durante la sua crescita

Caratteristiche fondamentali:

- Tempi molto lunghi di permanenza delle sostanze da abuso e dei loro metaboliti

Vantaggi principali:

- Incremento della finestra di rilevabilità delle sostanze eventualmente assunte
- Prelievo non invasivo, trasporto e conservazione dei campioni semplice
- Possibilità di analisi segmentale (solo su capelli)

Svantaggi principali:

- Procedure di lavaggio ed estrazione delle sostanze di interesse da una matrice solida
- Possibilità di contaminazioni ambientali (“fumi” di *crack* e cannabinoidi)
- Non attendibile su capelli sottoposti a trattamenti aggressivi (decolorazioni, permanenti, tinture)
- *Bias* di tipo razziale (legato al contenuto di melanina), alterazioni nella concentrazione delle sostanze a seguito di trattamenti cosmetici

Tempi orientativi di permanenza delle sostanze nel sangue:

Mesi o anni, a seconda della lunghezza del capello



MATRICE CHERATINICA: ANALISI SEGMENTALE

Ciclo vitale capello: fase anagenica (crescita, 2-7 anni) in cui avviene l'incorporazione delle droghe
fase catagenica (intermedia, circa 2 settimane)
fase telogenica (riposo, 3-4 mesi)

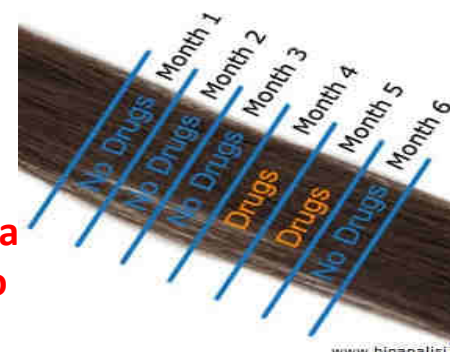
→ Le sostanze d'abuso si legano alla matrice cheratinica per passaggio e cessione diretta dal flusso ematico e attraverso le secrezioni delle ghiandole sebacee e sudoripare

Regione prossimale del capello (porzione più vicina alla cute): esposizione temporalmente vicina all'assunzione della sostanza

Regione distale: esposizione più lontana nel tempo.

Velocità media di allungamento del capello in fase anagenica: ~ 1 cm/mese

→ **Analisi segmentale: informazioni sulla storia e sulla tipologia del consumo di una determinata sostanza nei mesi corrispondenti al segmento di capello analizzato**



Analisi segmentale non eseguibile su altre tipologie di peli (ascellari, pettorali, pubici ecc.), a causa dei loro ritmi incostanti di crescita

Su questo tipo di campioni un eventuale risultato positivo può essere ascritto ad un consumo della sostanza in esame in un periodo compreso nell'anno antecedente al prelievo

MATRICE CHERATINICA: PECULIARITÀ

Principali *bias* del dosaggio su matrice cheratinica:

- **incorporazione di sostanze da abuso maggiore nei capelli scuri** (neri > castani > biondi > bianchi), con *bias* di tipo razziale (asiatici > africani > caucasici) per affinità degli xenobiotici con la melanina
- **trattamenti cosmetici** anche blandi (shampoo, balsamo, gel, lacca, lozioni ecc.) possono comportare alterazioni nel contenuto di xenobiotici
- **trattamenti aggressivi** (tinture, permanenti, decolorazioni ecc.) possono comportare la perdita, anche completa, degli eventuali xenobiotici incorporati
- variazioni nell'incorporazione delle sostanze legate al **metabolismo individuale** ed alla **via di somministrazione**



Altre peculiarità

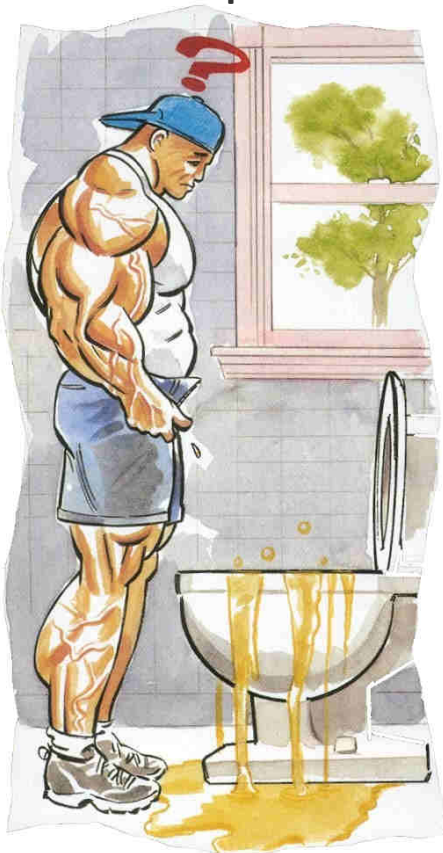
- **differenze nei marcatori riscontrabili e nei rapporti tra sostanza parente e metaboliti**

→ La matrice cheratinica fissa in misura maggiore le sostanze parenti
(per scarsa attività enzimatica a livello del pelo e maggiore lipofilia delle sostanze parenti rispetto ai metaboliti escreti)

Rapporti nel capello: cocaina t.q./BE 10:1, 6-MAM >> morfina, THC >> THC-COOH

PRELIEVO/RACCOLTA DEL CAMPIONE

Il corretto prelievo del campione costituisce il primo punto di applicazione della catena di custodia



Le procedure seguite devono essere tali da permettere di dimostrare senza dubbio alcuno che il risultato finale sia riconducibile a quel determinato campione ottenuto da quel particolare soggetto (parametro fondamentale a fini forensi)

Deve essere eseguita da personale autorizzato e qualificato, nel rispetto della privacy del soggetto sottoposto all'accertamento

(D.Lgs 196/2003 e s.m.i e GDPR, Regolamento UE 2016/679)

Devono sempre essere oggetto di scrupolosa verifica:

- **l'identità del soggetto** (esibizione e controllo di un documento di identità in corso di validità)
- **la corretta attribuzione del campione al soggetto sottoposto all'accertamento**
- **l'assenza di tentativi di adulterazione e/o di manomissione dei campioni** (controllo a vista e valutazione dei criteri di idoneità)

Compilare sempre in maniera corretta e completa il modulo di consenso informato ed il verbale di raccolta campione

CAMPIONAMENTO E SIGILLATURA

In fase di accettazione:

- predisporre apposita etichetta identificativa (con dati anagrafici del soggetto e codice univoco di identificazione) da applicare su tutti i campioni raccolti che saranno riconducibili in ogni momento a tale specifico soggetto
- i campioni giudicati idonei vengono suddivisi, alla presenza del paziente, nelle prescritte aliquote chiuse con sigillo antimanomissione firmato dall'addetto al prelievo e controfirmato dal paziente

→ **Contestualmente all'accettazione ed alla raccolta del campione devono essere attivate le procedure interne di catena di custodia**



- Nel caso di accertamento riguardante un minore, un genitore o chi eserciti patria potestà deve farsi garante della richiesta di accertamento analitico
- In caso di campioni provenienti da sede esterna, devono essere approntate procedure di raccolta, trasporto e ricezione del campione stesso conformi a quelle in essere nel laboratorio di arrivo

ALIQUOTAZIONE E CONSERVAZIONE

ESAMI A FINI GIUDIZIARI E ANTIDOPING

Il campione raccolto deve essere suddiviso in due aliquote (A e B)

La prima è utilizzata per eseguire le analisi, mentre la seconda viene conservata, sigillata e chiusa a chiave, e tenuta a disposizione dell'autorità giudiziaria per le eventuali controanalisi ove prescritte e/o richieste

La stessa procedura viene seguita anche per quanto riguarda gli esami eseguiti a fini antidoping sportivo



www.antidoping.ch

ESAMI A FINI AMMINISTRATIVI

In questo caso le aliquote prodotte devono essere, invece 3 (A, B e C)

La prima è utilizzata per l'esecuzione delle analisi di screening, la seconda per l'esecuzione dei test di conferma in caso di non-negatività, mentre la terza, in caso di positività confermata, viene conservata, sigillata e chiusa a chiave, per un periodo non inferiore ad un anno, per consentire le eventuali analisi di revisione in caso di contestazione e/o ricorso

Tutte le procedure di aliquotazione e sigillatura dei campioni devono sempre essere eseguite alla presenza ed alla vista del soggetto sottoposto all'accertamento, che validerà la procedura controfirmando i sigilli antimanomissione apposti sui campioni, pena la nullità della validità legale degli esami eseguiti

MATRICE EMATICA

Il soggetto da sottoporre all'accertamento, identificato tramite valido documento di identità, è accompagnato in locale idoneo al prelievo del campione ove, nel rispetto della privacy, ma al contempo assicurando l'identità, l'integrità e l'autenticità del campione, verrà eseguito il prelievo

Essendo il prelievo ematico una procedura invasiva, deve essere eseguito in modo da minimizzare i rischi sia per il paziente che per l'operatore

- Venipuntura arto superiore dopo pulizia della cute con disinfettante **NON ALCOOLICO**
- Campione raccolto con o senza anticoagulante, a seconda degli esami richiesti
- Raccolta del numero corretto di aliquote di campione prescritte

→ CAMPIONE PER TASSO ALCOLEMICO

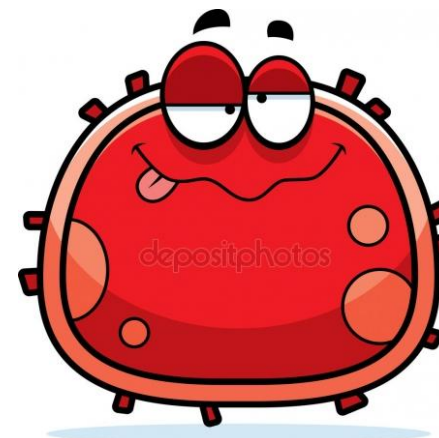
Prelievo dedicato

Aggiungere NaF 10 mg/ml come preservante (blocco conversione glucosio in etanolo)

Non centrifugare e/o sierare (causano sovrastima del valore fino al 26%)

Conservare a -20°C qualora l'esame non venga eseguito entro 24 ore

- I campioni debitamente etichettati e sigillati con firma del paziente e controfirma del sanitario addetto al prelievo, accompagnati dal verbale di prelievo e dalla modulistica della catena di custodia, vengono trasmessi al laboratorio per l'esecuzione delle analisi
- Le aliquote non utilizzate vengono conservate a -20°C in congelatore chiuso a chiave



FLUIDO ORALE (MATRICE SALIVARE)

Utilizzo di kit commerciali la cui vendita sia autorizzata nel nostro paese, con contenitori dedicati e graduati (in assenza, utilizzabili anche quelli predisposti per la raccolta di campioni urinari)

Raccogliere il fluido orale (almeno 10 ml) senza stimolazione della salivazione

Predisporre le prescritte aliquote di legge e chiudere, alla presenza ed alla vista del paziente, con sigilli antimanomissione firmati dal paziente stesso e controfirmate dall'addetto alla raccolta

La suddivisione del campione in aliquote può essere omessa solo se, contestualmente, viene prelevato anche un campione di sangue

Conservare le eventuali aliquote non utilizzate a -20°C in congelatore chiuso a chiave



Saliva attualmente non considerata per la ricerca di sostanze d'abuso nei lavoratori le cui mansioni comportino rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi (DPR 309/90 e s.m.i.), ma menzionata nell'art. 187 del c.d.s. relativamente agli accertamenti per la verifica di assunzione di sostanze stupefacenti e/o psicotrope sui conducenti dei mezzi di trasporto

Carenza di kit e metodiche validate nel nostro paese: oggi utilizzata di routine solo nei controlli per guida sotto effetto di alcool o stupefacenti ex-artt. 186, 186-bis e 187 c.d.s.

MATRICE URINARIA

Complicazioni legate al rispetto della privacy del paziente ed alla facilità con cui il campione può essere sottoposto a tentativi di sostituzione e/o adulterazione

La raccolta deve essere eseguita in locale apposito, non comunicante con l'esterno, senza disponibilità di acqua, detergenti o altri liquidi, è consigliabile, inoltre, aggiungere un colorante nell'acqua di scarico

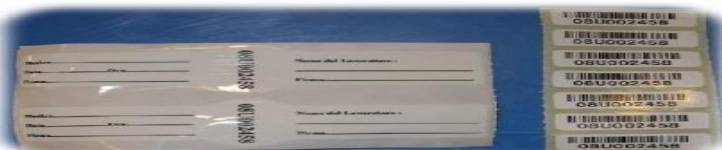
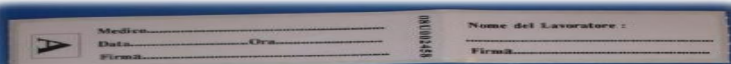
Raccolta da eseguire sotto osservazione diretta da parte dell'addetto alla raccolta o con l'utilizzo di telecamere a circuito chiuso (previa comunicazione al soggetto sottoposto all'accertamento)

Utilizzo di kit commerciali con contenitori dedicati e graduati



Kit di prelievo:

- contenitori per la raccolta del campione (A-B-C)
- verbale di prelievo e moduli per la catena di custodia
- etichette autoadesive con codice a barre univoco (da applicare al verbale di prelievo, al modulo della catena di custodia ed ai contenitori del campione)
- sigilli antimanomissione (etichette adesive riportanti lo stesso codice a barre univoco utilizzate per sigillare ed impedire la manomissione dei campioni)



I sigilli antimanomissione, firmati dall'operatore e controfirmati dal paziente, una volta staccati non possono essere riattaccati, inoltre lasciano sul contenitore una scritta che ne indica l'apertura

CAMPIONI URINARI: CRITERI DI IDONEITÀ

Raccogliere almeno 60 ml di urine da dividere nelle aliquote prescritte

Le aliquote non utilizzate devono essere conservate a -20°C in congelatore chiuso a chiave fino all'eventuale utilizzo o al loro smaltimento

→ Un campione di urine raccolto a fini tossicologico-legali può essere facilmente soggetto a tentativi di diluizione e/o adulterazione; per ovviare a tale problematica, si rende necessaria l'attuazione di una serie di criteri che permettano di stabilire la sua idoneità o meno all'esecuzione delle analisi richieste














Criteri di idoneità (valutati alla presenza del paziente)

- Temperatura (misurata sull'urina appena emessa con termometro ad IR): 32-38°C
- Peso specifico: > 1003 mg/l
- Creatinuria: > 20 mg/dl

Solo se questi criteri vengono soddisfatti, il campione è dichiarato idoneo e, **alla presenza alla vista del paziente**, viene suddiviso nelle aliquote prescritte ed avviato agli esami di screening

Se i criteri di idoneità non vengono soddisfatti, il campione è dichiarato non idoneo, quindi non viene accettato e viene predisposta apposita documentazione da inviare all'autorità giudiziaria che ha richiesto l'accertamento



-  how to pass a drug test   
-  how to pass a drug test **for methamphetamemes drugs**
 -  how to pass a drug test **for methamphetamemes drugs 2020**
 -  how to pass a drug test **female**
 -  how to pass a drug test **in 30 days**
 -  how to pass a drug test **female thc**
 -  how to pass a drug test **with jello and water**
 -  how to pass a drug test **at school**

[Segnala previsioni inappropriate](#)
[Ulteriori informazioni](#)

[www.thebalancecareers.com](#)

norml.org › marijuana › drug-testing › drug-testing-tips ▾
Drug Testing Tips - NORML - Working to Reform Marijuana ...

 Informazioni sugli snippet in primo piano  Feedback

hightimes.com › Guides ▾ [Traduci questa pagina](#)

How to Pass a Drug Test? Drug Testing 101 • High Times

The safest and most common way to pass a drug test is to cleanse your body of drugs and be clean for your test. Detox Naturally. If you have 30-45 days before ...

Video



Pass a Drug Test (THC)
in 2 Hours for Dirt Cheap



Pass a Drug Test (last
minute) Tested



How to Pass a Drug Test
(After You've Done a Lot



come passare i test antidroga



Accedi

Tutti Shopping Notizie Video Immagini Altro Impostazioni Strumenti

Circa 40.800 risultati (0,42 secondi)

Guarda come passare i test antidroga

Sponsorizzati



Screen Droga Test Marijuana

12,00 €

Screenpharma

Da Google



Screen Droga Test Urina 5

24,00 €

Screenpharma

Da Google



Screen Droga Test Cocaina

12,00 €

Screenpharma

Da Google





Ecco alcuni dei miti più comuni su come passare un test antidroga.

1. IL METODO DELLA DILUIZIONE. ...
2. BERE ACETO, BIBITE ENERGETICHE O SUCCO DI MIRTILLO ROSSO. ...
3. CONSUMARE NIACINA. ...
4. AGGIUNGERE COLLIRIO VISINE, AMMONIACA, SALE O DETERGENTI STURALAVANDINI NEL CAMPIONE. ...
5. L'APPROCCIO NATURALE. ...
6. KIT DI DISINTOSSICAZIONE.

[Altre voci...](#) • 8 mag 2019




List Of Best Synthetic Urine Brands For 2020 Testing

Synthetic Urine	#1 Sub Solution	#2 Quick Luck	#3 Quick Fix	#4 TestClear Powdered Urine
Photo:				
Reliability:	★★★★★	★★★★★	★★★★☆	★★★★★
Fast shipping:	★★★★★	★★★★★	★★★★☆	★★★★☆
2020 upgraded?	Yes	Yes	No	No
Price:	\$\$\$	\$\$\$	\$\$\$	\$\$\$
Avg. review:	★★★★★	★★★★★	★★★★☆	★★★★☆
Where to buy:	Buy Sub Solution	Buy Quick Luck	Buy Quick Fix	Buy Powdered Urine
+ Practice kit:	Buy Synthetic Urine + Practice Kit	Buy Synthetic Urine + Practice Kit	N/A	N/A

Home / Pass a Urine Drug Test / Pass Job Drug Test

FOLLOW THESE IMPORTANT INSTRUCTIONS

DO NOT OPEN UNTIL DAY OF TEST



Click image to open expanded view

TESTCLEAR

POWDERED URINE KIT

For your toilet to pass or urinal test after test, to deliver true and accurate results, the powdered urine kit must be used within 1 year of purchase date.

FOR BEST RESULTS

PRODUCT MUST BE USED WITHIN 1 YEAR OF PURCHASE DATE.

100% PASS GUARANTEED

PUR100

866-837-8253

support@testclear.com

Powdered Urine Kit

By: **TEST CLEAR**

★★★★★ 341 Reviews

Product Sku: PURINE

Our Price: **\$49.95**

Need More Heaters? [No Thanks!](#)

Need a 15 ML Water Vial? [No Thanks!](#)

Need a 50 ML Water Vial? [No Thanks!](#)

Need a Digital Thermometer? [No Thanks!](#)

Quantity:

BUY NOW

[Add to Cart](#)

[Add to Wishlist](#)

Top Sellers

Powdered Urine Kit

★★★★★ 341 Reviews

\$49.95

5 Day Detox Program

★★★★★ 110 Reviews

\$109.95

10-Day Detox Program

★★★★★ 111 Reviews

\$189.95

Our Newsletter

Subscribe to receive our latest product info and promotional coupons via email.

Your Email Address



Click image to open expanded view

10-Day Detox Program

By: **TOXIN RID**

★★★★★ 111 Reviews

Product Sku: 10DAYDETOX

Our Price: **\$189.95**

Need Extra Days? [No Thanks!](#)

10 Day Detoxification Program - For Extreme Toxin Exposure - Guaranteed

Need More Marijuana Tests? [No Thanks!](#)

Need a Flush Drink for Test Day? [No Thanks!](#)

Quantity:

BUY NOW

[Add to Cart](#)

[Add to Wishlist](#)

Top Sellers

5 Day Detox Program

★★★★★ 110 Reviews

\$109.95

10-Day Detox Program

★★★★★ 111 Reviews

\$189.95

3 Day Detox Program

★★★★★ 74 Reviews

\$69.95

Our Newsletter

Subscribe to receive our latest product info and promotional coupons via email.

Your Email Address

PRODUCTS

DETOXFORLESS

1-877-420-3386

SEARCH

CART



QUICK FIX PLUS SYNTHETIC URINE

Quick Fix Synthetic Urine Plus is the ultimate way to pass any urine test. Quick Fix unisex synthetic urine includes a heat pad to keep urine at body temperature.

This product comes with a 100% Satisfaction Guarantee.

[LEARN MORE](#)
[BUY FOR \\$39.95](#)



WIZCLEAR GO PACK

PREFILLED WITH 3 OUNCES OF PREMIUM SYNTHETIC URINE AND READY TO USE OUT OF THE BOX WITHIN SECONDS

The Go-Pack is a prefilled one time use non-refillable disposable 3 oz belt filled premium quality synthetic urine for fake pee for your adult novelties. Wet sex simulation has never been easier than it is now. With a new and improved design you will no longer fumble with how you will conceal your pre filled solution

[LEARN MORE](#)
[BUY FOR \\$44.95](#)



PISS PERFECT

FOR THOSE LIFE LIKE SCENARIOS!

The Piss Perfect is an easy to use, easy to conceal urinating device with a very realistic prosthetic penis available in five flesh tones, White, Brown, Tan, Latino and Black. The Piss Perfect is designed to be worn comfortably as an undergarment for extended periods of time and can maintain proper body temperature for up to 8 hours!

[SEE OPTIONS](#)

NEED TO PASS A URINE DRUG TEST, HAIR SAMPLE DRUG TEST OR SALIVA SWAB DRUG TEST?

Piss Perfect

[detoxforless.com/urine-test-device/piss-perfect.html](#)

Accessori Acer

Importati da IE

Google

PRODUCTS


DETOXFORLESS







1-877-420-3386

SEARCH

CART

Synthetic Urine / Piss Perfect



PISS PERFECT

FOR THOSE LIFE LIKE SCENARIOS:

\$119.95

\$159.95

On Sale (\$40.00 off)

★★★★★

1 Review

SELECT AN OPTION

COLORS:

WHITE


TAN

LATINO

BROWN


BLACK

Need accessories? You might also like:




Rapid Clear Clean Pee

\$15.95



Sticky Hand Warmer

\$1.95



Wizclear Device Sterilizer

\$7.95

Place your order in the next

5 hours, 54 minutes, 51 seconds and receive it Tuesday

if you select **Overnight shipping**

ScreenyWeeny 5.0 - Zamnesia

File Modifica Visualizza Preferiti Strumenti ?

Accessori Acer

CARRELLO

Nessun prodotto

Spedizione

Totale

Check out

CATEGORIE

- Seedshop
- Headshop
- Vaporshop
- CBDshop
- Smartshop
- Top 10 Smartshop
- Afrodisiaci
- After Party
- Ayahuasca
- Cactus da Mescalina
- Carta Regalo Zamnesia
- Dream Herbs
- Energetico
- Erbe & Semi
- Erbe da Vaponizzare
- Estratti
- Happy Caps
- Incenso
- Insonnia
- Integratori
- Kanna
- Kratom
- Loto Blu
- Microdosing
- N2O
- Nootropi
- Opercolatrice
- Rapé
- Rilassante
- Salvia
- Semi di LSA
- Smart Liquide

ScreenyWeeny 5.0
WORLD'S BEST FAKE-PENIS

SIZE: S - XXXL

100% SYNTHETIC URINE

THERMAL BAG

HAND MADE SILICONE PENIS

ScreenyWeeny 5.0
WORLD'S BEST FAKE-PENIS

PEE FREE!

UUUHH

100% 1x 30ml

PUSH & PISS

CAPTAIN MITTELSTRAHL

CleanU
WWW.CLEANU.DE

AVAILABLE IN 4 COLORS

Cerca...

della CleanU sembra vero, mbrante. Con la funzione il suo aspetto fedele alla addirittura con come se fosse il vostro. urina sintetica pura sono

il prezzo è di€ 142.41
il prezzo è di€ 134.91
il prezzo è di€ 127.42

Quantità: 1

€ 149.90 Disponibile
€ 149.90 Disponibile
€ 159.90 Disponibile
€ 159.90 Non disponibile

90

1x EMPTY SACKET

2x 80ml SCREENURIN

1x REFILL SYRINGE

1x HEATING PADS

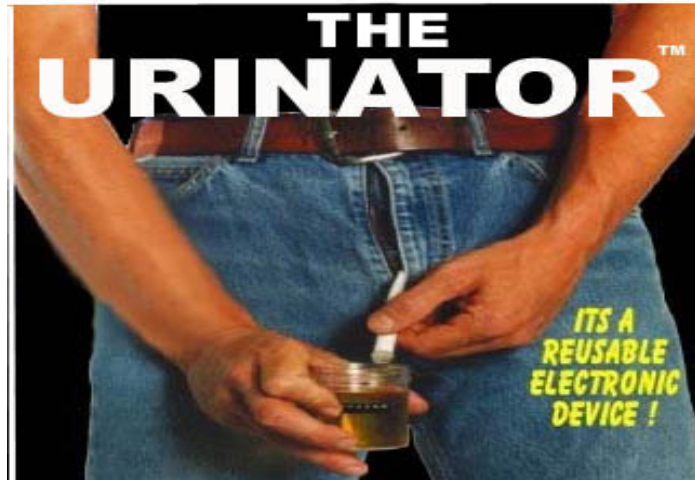
1x THERMO BAG

1x SCREENYWEENY

SIMPLE TO USE

PUSH TO PISS

RELEASE TO STOP



Ricerca “how to pass a drug test”: 45 milioni di risultati su Google (“solo” 21 milioni nel 2017!!!)

Urina sintetica ed “accessori”, anche liberamente in vendita sul web

Numerosi web forum con “consigli” per passare i test antidroga (40.800 in italiano contro gli 11.000 del 2017)



MATRICE CHERATINICA

Peculiarità legate al tipo di campione ed alla modalità di prelievo

→ **Capello con possibilità di analisi segmentale, altri tipi di peli (torace, pube, ascelle, viso) utilizzabili, ma senza possibilità di analisi segmentale**

Prelievo di capelli preferibilmente nella zona nucale (in cui la variabilità interindividuale della velocità di crescita è minima), il più vicino possibile al cuoio capelluto

Una ciocca di capelli lunga almeno 5 cm e dello spessore di una matita, viene legata con un filo e tagliata il più vicino possibile alla cute, mantenendo il filo nella zona prossimale ed annotando la lunghezza della ciocca

La procedura va ripetuta il numero di volte necessario per ottenere le aliquote per gli esami di screening e per gli eventuali esami di conferma e revisione

→ **Alla presenza ed alla vista del paziente, le ciocche di capelli vengono poste in fogli di alluminio a loro volta chiusi in buste-contenitori provviste di sigilli antimanomissione firmati sia dall'addetto al prelievo che dal paziente**

Le aliquote non utilizzate devono essere conservate in osservanza alle prescrizioni della catena di custodia, a temperatura ambiente e basso livello di umidità fino all'utilizzo o allo smaltimento in apposito cassetto/scaffale chiuso a chiave

Documentare trattamenti cosmetici eseguiti sul capello e valutarne il possibile impatto sulla concentrazione degli xenobiotici eventualmente presenti

→ **L'esecuzione di trattamenti aggressivi (tinture, permanenti, decolorazioni ecc.) è considerata criterio di non idoneità del campione, che pertanto non può essere accettato né utilizzato per esami a fini medico-legali**



(Pichini S, Pacifici R. Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. ISS 2013)



METODICHE ANALITICHE

Le metodiche correntemente utilizzate nel laboratorio di tossicologia possono essere di tipologie differenti, si parla comunemente di:



- **Test speditivi (o test rapidi)**
- **Test di screening (o di I livello)**
- **Test di conferma (o di II livello)**

Scelta metodica più opportuna da utilizzare eseguita in base a diversi fattori:

- **alla situazione di urgenza o meno**
- **alle caratteristiche di performance analitica richieste**
- **alla necessità di ottenere risultati validi o meno a fini forensi**

TEST SPEDITIVI

Esami rapidi eseguibili anche in regime di urgenza oppure “on-site”

Tecniche chimiche o immunochimiche su card a lettura visiva o per mezzo di scanner portatili in dotazione alle forze dell’ordine (etilometro e screening *multi-drug* rapido)



Uso ammesso:

- esami in regime di urgenza
- controlli *on-site* da parte delle forze dell’ordine nel sospetto di guida sotto effetto di alcool o altre sostanze psicotrope (*ex-artt. 186, 186-bis e 187 c.d.s.*)



→ I test speditivi non hanno nessun valore legale, pertanto devono sempre essere confermati con metodiche di II livello

→ Eccezione significativa: contestazione di guida in stato di ebbrezza da parte delle forze delle forze dell’ordine, con l’uso di etilometro *on-site* (*ex-artt. 186 e 186-bis c.d.s.*)

TEST DI SCREENING (I LIVELLO)

Tecniche immunochimiche, rapide, economiche e pratiche (gestione di un elevato numero di campioni in tempi brevi generalmente in automazione su strumentazione dedicata)

→ **Specificità per la classe di sostanza, ma NON per la singola sostanza**

Risultati **solo** qualitativi (al limite, costruendo apposite curve di calibrazione, semiquantitativi)

→ **NEGATIVO: il campione non contiene la sostanza in esame, o la contiene in concentrazioni inferiori al cut-off**

→ **NON NEGATIVO: il campione contiene presumibilmente una sostanza della classe ricercata in concentrazione uguale o superiore al cut-off**

Ove possibile, sarebbe ideale dosare sempre i metaboliti delle sostanze d'abuso e non le sostanze parenti:

→ **a fini forensi, la presenza dei metaboliti rappresenta prova inequivocabile dell'assunzione in vivo della sostanza**

Sangue ed urine possono essere analizzati senza necessità di trattamenti, qualora vengano utilizzati kit diagnostici validati per l'uso con queste matrici biologiche

Saliva: problematiche legate alla carenza di kit diagnostici validati con marchio CE

Matrice cheratinica: necessarie preventive procedure di lavaggio, digestione ed estrazione, le metodiche utilizzate devono essere sottoposte a validazione in conformità alla normativa ISO 17025



TEST DI SCREENING (I LIVELLO)

Alta sensibilità diagnostica per la classe di sostanza, ma specificità inferiore

Minima probabilità di falsi negativi, rischio di falsi positivi

Ai fini della validità medico-legale:

→ I risultati negativi rispetto ai cut-off di legge sono accettati come tali

→ I risultati non-negativi (positivi) necessitano di conferma con metodiche di II livello



NESSUN VALORE LEGALE → NECESSITÀ DI CONFERMA CON METODICHE DI II LIVELLO

Cut-off stabiliti per legge a concentrazioni più elevate rispetto ai test di conferma

TEST DI CONFERMA (II LIVELLO)

Esami complessi

- estrazione degli analiti
- separazione cromatografica (in fase gassosa o liquida, GC o LC)
- identificazione puntuale singola sostanza in spettrometria di massa (MS)
- quantificazione

→ Elevata specificità per la singola, specifica, sostanza

- Risultati quantitativi
- Conferma e/o verifica di eventuali false positività dei campioni risultati non negativi agli esami di I livello
- Cut-off di legge posti a livelli di concentrazione inferiori rispetto ai test di screening
- Le metodiche utilizzate necessitano di validazione in conformità alla normativa ISO 17025



I RISULTATI OTTENUTI POSSONO ESSERE UTILIZZATI CON VALENZA AMMINISTRATIVA O LEGALE

TEST DI CONFERMA (II LIVELLO)

I campioni risultati non-negativi agli esami di I livello devono essere obbligatoriamente sottoposti ad esami di conferma (o di II livello), perché il risultato abbia valenza medico-legale

VALIDITÀ MEDICO-LEGALE:

- **campioni con concentrazioni degli analiti di interesse minori dei cut-off prestabiliti vengono considerati negativi, anche se positivi ai test di screening.**
- **sostanza d'abuso e/o suoi metaboliti presenti in concentrazioni uguali o maggiori del cut-off stabilito: campione considerato positivo per tale sostanza**

Tutte le movimentazioni dei campioni devono sempre essere registrate e riportate nell'apposita modulistica relativa alla catena di custodia



© CanStockPhoto.com - csp50007766

CUT-OFF

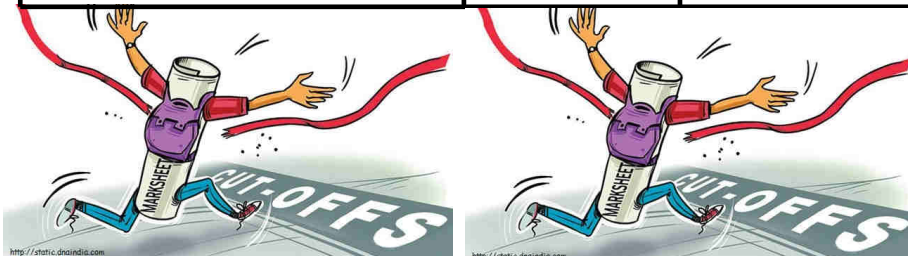
Valore soglia di concentrazione di una sostanza, definito in maniera convenzionale, che stabilisce la negatività o la positività di un campione riguardo detta sostanza

I valori di cut-off per i test attualmente utilizzati per le matrici urinaria ed ematica sono stati stabiliti nel 2012 dalle Linee Guida del Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (GTFI), i cut-off GTFI del 2017 per i campioni di matrice cheratinica sono mutuati da quelli raccomandati dalla Society of Hair Testing americana (SOHT) nel 2012

Classe di sostanza sostanza	Cut-off urinari Linee Guida GTFI 2012 (ng/ml)	
	Test di screening	Test di conferma
Opiacei (morfina libera) <i>morfina totale, codeina totale</i> <i>6-acetilmorfina (6-MAM)</i>	300	100 10
Cocaina metabolita (benzoilecgonina) <i>cocaina, benzoilecgonina</i>	300	100
Amfetamina e congeneri <i>amfetamina, metamfetamina</i>	500	200
3,4-metilendiossimetamfetamina e congeneri <i>MDMA, MDA, MDEA, MBDB</i>	500	200
Metadone <i>Metadone, EDDP</i>	300	100
Cannabinoidi (THC-COOH) <i>THC-COOH</i>	50	15
Burprenorfina <i>burprenorfina totale., norburprenorfina totale</i>	5	5

Classe di sostanza o sostanza	Cut-off per la conferma su matrice pilifera Linee Guida GTFI 2017 (SOHT 2012) (ng/mg)
Opiacei: (<i>Morfina, codeina, 6-acetilmorfina (6-MAM)</i>)	0.2
Cocaina <i>cocaina</i> <i>benzoilecgonina, ecgonina metilestere, cocaetilene</i>	0.5 (0.2 ex L. 81/2008) 0.05
Amfetamina e congeneri: <i>amfetamina, metamfetamina</i>	0.2
3,4-metilendiossimetamfetamina e congeneri <i>MDMA, MDA, MDEA, MBDB</i>	0.2
Metadone: <i>metadone, EDDP</i>	0.2
Cannabinoidi <i>THC</i> <i>THC-COOH</i>	0.05 (0.1 ex L. 81/2008) 0.001
Burprenorfina: <i>burprenorfina, norburprenorfina</i>	0.01

Sostanza	Cut-off per conferma sangue intero Linee Guida GTFI 2012 (ng/ml)
<i>morfina, codeina, 6-acetilmorfina</i>	10
<i>cocaina, cocaetilene</i>	10
<i>amfetamina, metamfetamina</i>	20
<i>MDMA, MDA, MDEA, MBDB</i>	20
<i>metadone</i>	10
<i>THC, 11-OH-THC</i>	2



REQUISITI MINIMI DI PRESTAZIONE

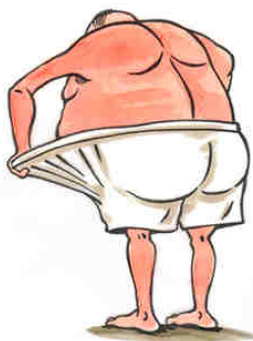
Le indicazioni più recenti del GTFI (rev. 5/2017), pur ribadendo:

- il carattere convenzionale del valore di cut-off come soglia decisionale per stabilire la negatività o la positività di un campione
- che il cut-off non coincide necessariamente con il valore del limite di determinabilità di una sostanza

→ propongono il nuovo concetto di **REQUISITI MINIMI DI PRESTAZIONE**:

“concentrazioni di analita nel fluido biologico oggetto di indagine che il laboratorio deve essere in grado di quantificare, con accuratezza, ed atti a valutare l'applicabilità di un metodo rispetto ad un determinato target analitico tossicologico-forense”

Un laboratorio in grado di fornire risultati di esami tossicologici con valenza medico-legale deve potere assicurare la corretta quantificazione delle concentrazioni indicate nelle tabelle GTFI dei requisiti minimi di prestazione o di concentrazioni ad esse inferiori



→ I requisiti minimi di prestazione non devono essere interpretati come valori di cut-off, per cui nel caso di esami di conferma nell'ambito di norme di legge o regolamenti specifici, per valutare un risultato come positivo o negativo dovranno essere utilizzati i cut-off decisionali indicati nella norma/regolamento stessa

TABELLE GTFI REQUISITI MINIMI DI PRESTAZIONE

TABELLA 1

Concentrazioni di sostanze in urina e sangue che definiscono i **REQUISITI MINIMI DI PRESTAZIONE** per l'analisi di conferma, a scopo tossicologico-forense, mediante tecniche cromatografiche abbinate alla spettrometria di massa.

Classe di sostanze o sostanza	Il metodo deve essere in grado di confermare (ng/ml)
Opiacei	
<i>morfina totale*</i>	2
<i>codeina totale*</i>	2
<i>6-acetilmorfina</i>	2
Cocaína	
<i>cocaína</i>	2
<i>benzoilecgonina</i>	2
<i>cocaetilene</i>	2
<i>nor-cocaína</i>	2
Amfetamina e congeneri	
<i>amfetamina</i>	2
<i>metamfetamina</i>	2
3,4-Metilendioissimetamfetamina e congeneri	
<i>MDMA</i>	2
<i>MDA</i>	2
<i>MDEA</i>	2
<i>MBDB</i>	2
Metadone	
<i>metadone</i>	2
<i>EDDP</i>	2
Cannabinoidi	
<i>THC</i>	1
<i>11-OH-THC</i>	0,1
<i>THC-COOH</i>	2
Buprenorfina	
<i>buprenorfina totale*</i>	2
<i>norbuprenorfina totale*</i>	2

* il valore è riferito al campione sottoposto a idrolisi.

TABELLA 2

Valori di cut-off interpretativi suggeriti dalla Society of Hair Testing (SoHT) per diverse classi di sostanze stupefacenti in matrice pilifera (da Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair, *Forensic Science International*, 2012, 28: 20-24).

Classe di sostanze o sostanza	Cut-off per la conferma (ng/mg)
Opiacei	
<i>morfina</i>	0,2
<i>codeina</i>	0,2
<i>6-acetilmorfina</i>	0,2
Cocaína (cocaína)	
<i>cocaína</i>	0,5*
<i>benzoilecgonina</i>	0,05
<i>ecgonina metilestere</i>	0,05
<i>cocaetilene</i>	0,05
Amfetamina e congeneri	
<i>amfetamina</i>	0,2
<i>metamfetamina</i>	0,2
3,4-Metilendioissimetamfetamina e congeneri	
<i>MDMA</i>	0,2
<i>MDA</i>	0,2
<i>MDEA</i>	0,2
<i>MBDB</i>	0,2
Metadone	
<i>metadone</i>	0,2
<i>EDDP</i>	0,2
Cannabinoidi	
<i>THC</i>	0,05**
<i>THC-COOH</i>	0,001
Buprenorfina	
<i>buprenorfina</i>	0,01
<i>norbuprenorfina</i>	0,01

*cfr. valore per le mansioni a rischio ex L. 81/2008, 0,2 ng/mg di COCAINA E METABOLITI

**cfr. valore per le mansioni a rischio ex L. 81/2008, 0,1 ng/mg di CANNABINOIDI METABOLITI

NB. Il GTFI ritiene che sia 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).



Associazione Scientifica
Gruppo Tossicologi Forensi Italiani

TABELLA 3

Valori di cut-off massimi di screening e conferma suggeriti per il fluido orale nei controlli sui lavoratori secondo linee guida EWTDS (da European Guidelines for Workplace in Oral Fluid 2015-11-01 Version 2.0).

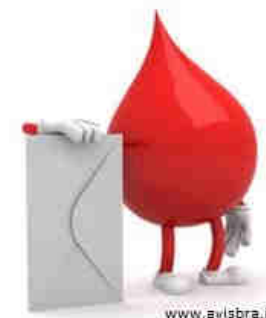
Classe di sostanze o sostanza	Cut - off di screening (ng/mL)	Cut-off di conferma (ng/ml)
Opiacei		
<i>Morfina</i>		15
<i>Codeina</i>		15
<i>Norcodeina</i>		2
<i>6-Acetilcodeina</i>		2
<i>Diidrococaina</i>		15
<i>6-Monoacetilmorfina</i>		2
Cocaína e metabolita		
<i>Cocaína</i>		8
<i>Benzoilecgonina</i>		8
Amfetamina e congeneri		
<i>amfetamina</i>		15
<i>metamfetamina</i>		15
<i>MDMA</i>		15
<i>MDA</i>		15
Cannabinoidi		
<i>THC</i>	THC 10	2
Metadone e metaboliti	L-Metadone 50	20
Buprenorfina e metaboliti	5	1

REFERTAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

I risultati analitici vanno consegnati all'autorità, struttura o persona fisica che ha richiesto l'accertamento

→ **Un referto che abbia validità medico-legale deve contenere le seguenti informazioni:**

- numero identificativo univoco del campione
- dati anagrafici del soggetto sottoposto all'accertamento
- data di raccolta del campione (o di ricevimento, per campioni da sede esterna) e di refertazione
- nome autorità, struttura o persona fisica che ha richiesto l'accertamento
- informazioni relative a matrice biologica analizzata, tipologia di analisi eseguita, metodo analitico utilizzato e valori di cut-off di riferimento
- risultati delle analisi eseguite: in caso di positività nomi delle sostanze rilevate e relative concentrazioni
- firma di chi ha eseguito le analisi e del Direttore Tecnico (controllo, approvazione, validazione)



I campioni accettati ancora da analizzare (fase preanalitica) devono essere conservati in congelatori/contenitori separati da quelli utilizzati per la conservazione post-analitica



Campioni ematici, salivari ed urinari vanno conservati a -20°C in congelatore provvisto di lucchetto

Campioni di matrice cheratinica vanno conservati a temperatura ambiente e bassa umidità in cassetto con lucchetto

Conservare tutta la documentazione relativa al flusso analitico ed ai procedimenti effettuati

La documentazione (gestita in conformità con le norme ISO/IEC 17025:2005 ed in osservanza al D.Lgs 196/2003 e s.m.i. e GDPR, Regolamento UE 2016/679) deve comprendere:

- moduli della catena di custodia, registrazioni controlli di qualità interni, VEQ e P.O.S. del laboratorio
- risultati analitici con curve di calibrazione e calcoli usati per formulare il risultato finale
- copia del referto finale

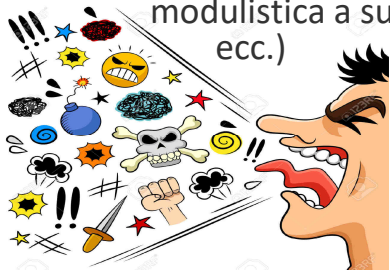
SMALTIMENTO DEI CAMPIONI

- I campioni risultati negativi agli esami di screening, salvo diversa prescrizione, possono essere inviati immediatamente allo smaltimento
- I campioni risultati non-negativi agli esami di screening, ma negativi a quelli di conferma, salvo diversa prescrizione, possono altresì essere inviati allo smaltimento
- I campioni risultati positivi dopo i test di screening e di conferma, passato il prescritto periodo temporale di conservazione (di solito circa un anno) , possono essere inviati allo smaltimento
- Tutti i campioni devono essere smaltiti come rifiuti sanitari potenzialmente pericolosi o infettivi ai sensi del DPR 15 luglio 2003, n. 254 e s.m.i.
- **Tutte le procedure di movimentazione e di smaltimento dei campioni devono essere registrate nella modulistica relativa alla catena di custodia**



CONTESTAZIONE DEI RISULTATI

- In caso di emissione di referto positivo, per una o più sostanze di interesse tossicologico, nei casi previsti dalla legge, il soggetto sottoposto a tale accertamento ha facoltà di richiedere, nei tempi previsti, l'esecuzione delle analisi di revisione (controanalisi) sull'aliquota C del suo campione
- L'aliquota del campione deve essere inviata al laboratorio di esecuzione delle controanalisi unitamente a tutta la modulistica a supporto (catena di custodia, risultati, metodiche utilizzate, cut-off di riferimento, controlli di qualità, ecc.)



- Il laboratorio che esegue le controanalisi dovrà produrre documentazione che dimostri l'uso di metodologie validate con requisiti di accuratezza e precisione conformi alla normativa vigente
- Le analisi di revisione devono riguardare solo la/le sostanza/e risultate presenti nei test di screening e di conferma ed il nuovo referto deve essere reso disponibile secondo le norme vigenti in materia

QUALITÀ DELLE ANALISI

Per assicurare la qualità dei servizi e degli accertamenti analitici condotti, vi è la necessità di mettere a punto un sistema di gestione della qualità che assicuri che tutti i processi avvengano in condizioni controllate, e che riguardi tutti gli aspetti delle P.O.S.:

ricezione del campione

catena di custodia

sicurezza

comunicazione dei risultati

test di screening e di conferma

certificazione di calibratori e controlli di qualità utilizzati

validazione delle procedure analitiche

Particolare attenzione deve essere posta ai seguenti aspetti:

- Assicurazione di qualità secondo la normativa ISO 17025:2005
- Validazione delle metodologie di analisi
- Controllo di qualità interno
- Valutazione esterna di qualità (VEQ)



CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

- L'utilizzo di un controllo di qualità interno, di solito fornito dallo stesso produttore del kit diagnostico e contenuto nella confezione dello stesso, garantisce accuratezza ed affidabilità del risultato analitico
- In ogni seduta di dosaggio sarebbe opportuno inserire almeno un controllo negativo, due controlli con concentrazioni di analiti $\leq 25\%$ e $\geq 25\%$ rispetto al cut-off e un controllo con concentrazione prossima al limite di quantificazione (soprattutto per i test di conferma)
- Tutti i dati relativi ai controlli di qualità interni devono essere registrati e valutati periodicamente al fine di individuare eventuali errori casuali e/o sistematici, in modo tale da poter porre in essere adeguate misure correttive
- I dati dei controlli di qualità interni devono essere conservati in accordo con le procedure operative riportate nel manuale della qualità del laboratorio



VALUTAZIONE ESTERNA DI QUALITÀ (V.E.Q.)

- Il laboratorio che esegua esami di tossicologia con fini forensi deve partecipare ad adeguati programmi di valutazione esterna di qualità (VEQ)
- La partecipazione alla VEQ può riguardare l'identificazione della classe di sostanze, delle singole sostanze e la loro quantificazione, nel caso in cui il laboratorio esegua anche le analisi di conferma
- I risultati ottenuti in seguito alla partecipazione ai programmi di VEQ costituiscono spunti di riflessione riguardo la performance analitica del laboratorio
- Nell'eventualità in cui vengano segnalati errori e/o risultati discordanti da quelli attesi diviene importante individuarne rapidamente le cause con il fine di attuare le opportune azioni correttive atte ad impedire il ripetersi tali eventi



ASSICURAZIONE DI QUALITÀ: LA CERTIFICAZIONE ISO 17025

Per un corretto monitoraggio dell'andamento dei processi analitici, le procedure per assicurare la qualità del laboratorio di tossicologia forense devono essere:

- progettate
- costantemente implementate
- periodicamente revisionate



→ **Assicurazione di qualità: il laboratorio deve essere accreditato per la determinazione delle sostanze d'abuso secondo la normativa ISO/IEC 17025:2005**
(Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura)

La normativa ISO 17025 definisce requisiti da soddisfare per dimostrare

- **competenza tecnica del personale**
- **disponibilità risorse analitiche tali da garantire risultati accurati ed affidabili**
- **gestione sistema della qualità tale da garantire fornitura di servizi affidabili**

La normativa ISO 17025 è costruita in modo tale che il laboratorio ad essa conforme soddisfi, in maniera automatica, anche i requisiti della norma UNI EN ISO 9001:2015 (Sistema di gestione della qualità)

Essere in conformità con questi requisiti significa che il laboratorio soddisfa sia i requisiti tecnici che quelli relativi al sistema di gestione necessari per offrire risultati tecnicamente validi



Grazie per l'attenzione



Dott. Luigi Sabbatella

Biologo Laboratorista e Forense

Consulente Tecnico per la Tossicologia Forense

3383207793

l.sabbatella@email.it