



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAMERINO
School of Advanced Studies

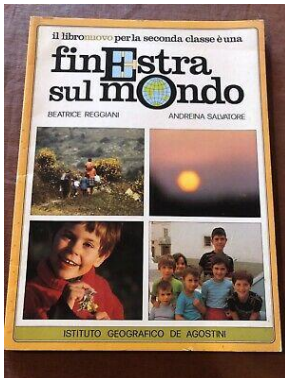
DOCTORAL COURSE IN
CIVIL LAW AND CONSTITUTIONAL LEGALITY
AREA LEGAL AND SOCIAL SCIENCES
Ciclo XXIX

ASPETTI LEGISLATIVI E LEGALI DELLE NUOVE
SOSTANZE PSICOATTIVE (NPS)
E APPLICAZIONI ANALITICHE A CONTRASTO DI
UN FENOMENO GLOBALE

PhD Student
Dott. Giulio Mannocchi

Supervisor
Prof.ssa Giovanna Ricci

Coordinator
Prof.ssa Lucia Ruggeri



**“Chi legge sa molto, ma chi osserva
sa molto di più.”**

Alexandre Dumas (figlio)

*A Te, la sola a poter ricordare dove la vidi e quando la lessi per la
prima volta....Te ieri, ora e sempre*

INDICE

ABSTRACT.....pag. 5

RIASSUNTO.....pag.6

INTRODUZIONE: LE NUOVE SOSTANZE PSICOATTIVE

(NPS).....pag. 7

CAPITOLO 1

Il ruolo dell'Osservatorio Europeo sulle Droghe e delle Tossicodipendenze (EMCDDA) nella divulgazione delle informazioni riguardanti le NPSpag. 13-26

CAPITOLO 2

Il ruolo del Sistema Nazionale di Allerta Precoce (SNAP) nella divulgazione delle informazioni riguardanti le NPS e nell'inserimento delle Nuove Sostanze nelle Tabelle allegate al DPR 309/90.....pag. 27-36

CAPITOLO 3

L'accertamento Tossicologico Clinico e Forense in matrici convenzionali e non convenzionali, e le principali tecniche analitiche utilizzate per la ricerca delle sostanze stupefacenti e psicotrope nelle diverse matrici biologiche.pag. 37- 55

CAPITOLO 4

Aspetti legali dei controlli tossicologici forensi a fronte della mancata ricerca e identificazione delle NPS.....pag.56-65

CAPITOLO 5

Le analisi tossicologiche su capello e le potenzialità di questa matrice nel valutare il consumo delle NPS.....pag.66-78

CAPITOLO 6

Validazione di un metodo in LC-HRMS su capello e la sua applicazione su 100 campioni reali. Risultati e discussione.....pag.79-104

CONCLUSIONI

GENERALI.....pag.105-111

BIBLIOGRAFIA..... pag.112-118

RINGRAZIAMENTI.....pag. 119-120

ABSTRACT

This work has been developed in 6 chapters plus conclusions, in which the legislative and legal aspects concerning the New Psychoactive Substances (NPS) are discussed, and the current problems to contrasting the phenomenon. The first 2 chapters were dedicated to Presidential Decree 309/90 and the Tables contained therein, in which the narcotic and psychotropic substances under consideration at various legal levels are reported.

In these first 2 chapters the role played by the European Observatory on Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) is also highlighted, but above all the role of the Early Warning System (SNAP) in the inclusion of NPS in the Tables attached to Presidential Decree 309. / 90. In chapter 3 described the biological and non-biological matrices suitable for the research of NPS, and the scientific limits that often prevent their revelation. Furthermore a part has been dedicated to informed consent for the collection of the biological matrix.

Chapter 4 focuses on Forensic Toxicology and Legal Medicine aspects that may be the consequence of a determination of the NPS in biological matrix. Chapter 5 discusses the most important aspects deriving from the use of the keratin matrix in the toxicological tests of NPS. Chapter 6 also introduces an experimental work related to a screening analysis method on keratin matrix with the LC-HRMS technique, as a proposal for a valid means in the research of NPS. The method was applied to real samples whose results are presented. Finally, a separate chapter was dedicated to the Conclusions.

RIASSUNTO

Il presente lavoro di tesi è stato sviluppato in 6 capitoli più le conclusioni, in cui vengono discussi gli aspetti legislativi e legali riguardanti le Nuove Sostanze Psicoattive (NPS), e quelle che sono le problematiche attuali a contrasto del fenomeno. I primi 2 capitoli sono stati dedicati al DPR 309/90 e alle Tabelle in esso contenute, in cui vengono segnalate le sostanze stupefacenti e psicotrope attenzionate a vari livelli sul piano legale.

In questi primi 2 capitoli viene posto in evidenza anche il ruolo che svolge l'Osservatorio Europeo sulle Droghe e delle Tossicodipendenze (EMCDDA), ma soprattutto il ruolo del Sistema di Allerta Precoce (SNAP) nell'inserimento delle NPS nelle Tabelle allegate al DPR 309/90. Nel capitolo 3 vengono descritte quali sono le matrici biologiche e non biologiche idonee alla ricerca delle NPS, e i limiti tecnico scientifici che spesso ne impediscono la rivelazione, inoltre è stata dedicata una parte al consenso informato per il prelievo della matrice biologica.

Il capitolo 4 si sofferma sugli aspetti Tossicologico Forensi e Medico Legali che possono essere la diretta conseguenza di una mancata determinazione delle NPS in matrice biologica. Nel capitolo 6 vengono discussi gli aspetti più importanti che derivano dall'utilizzo della matrice cheratinica negli accertamenti tossicologici delle NPS. Nel capitolo 5 viene introdotto anche un lavoro sperimentale relativo ad un metodo di analisi di screening su matrice cheratinica con tecnica LC-HRMS, come proposta di un valido mezzo nella ricerca delle NPS. Il metodo è stato applicato a campioni reali di cui vengono presentati i risultati. Un capitolo a parte è stato infine dedicato alle Conclusioni.

INTRODUZIONE

Il traffico e l'uso illecito di stupefacenti costituiscono un fenomeno mondiale, di minaccia per la salute e la stabilità sociale. I dati statistici indicano che circa un giovane europeo su tre, ha provato una droga illecita e che ogni ora almeno un cittadino europeo muore di overdose ¹.

Il mercato mondiale delle sostanze stupefacenti degli ultimi vent'anni è stato caratterizzato dall'introduzione di centinaia di nuove molecole ad azione psicotropa, che in minima parte sono state in grado di perturbare il grande business delle sostanze d'abuso classiche.

La normativa comunitaria (art. 1 della Decisione Quadro 2004/757/GAI del Consiglio del 25 ottobre 2004, modificata dalla Direttiva (UE) 2017/2103 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 15 novembre 2017) e la United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) definisce queste molecole come "New Psychoactive Substances" (NPS), in italiano Nuove sostanze Psicoattive", e le identifica come ogni «sostanza allo stato puro o contenuta in un preparato, non contemplata dalla convenzione unica delle Nazioni Unite sugli stupefacenti del 1961, quale modificata dal protocollo del 1972, o dalla convenzione delle Nazioni Unite sulle sostanze psicotrope del 1971, ma che può presentare rischi sanitari o sociali analoghi a quelli presentati dalle sostanze contemplate da tali convenzioni» ^{2 3 4}.

Queste molecole che nel linguaggio comune hanno assunto varie denominazioni tra le quali: "DESIGNER DRUGS", "LEGAL HIGHS",

¹ «EMCDDA | Chi siamo».

² Decisione quadro 2004/757/GAI del Consiglio, del 25 ottobre 2004, riguardante la fissazione di norme minime relative agli elementi costitutivi dei reati e alle sanzioni applicabili in materia di traffico illecito di stupefacenti.

³ Direttiva (UE) 2017/2103 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 novembre 2017, che modifica la decisione quadro 2004/757/GAI del Consiglio al fine di includere nuove sostanze psicoattive nella definizione di «stupefacenti» e che abroga la decisione 2005/387/GAI.

⁴ «What are NPS?»

"HERBAL HIGHS", "BATH SALTS"⁵ ⁶, entrano nel mercato come sostanze legali intanto che si attiva il processo per inserirle nelle leggi sugli stupefacenti dei singoli Stati, pertanto nell'immediato possono rappresentare una minaccia per la salute pubblica analoga a quella delle sostanze sotto controllo internazionale ⁷.

Le NPS comprendono diverse classi di sostanze di natura prevalentemente sintetica, derivate da farmaci o da principi attivi già conosciuti e attenzionati a livello mondiale e presenti nella Tabella 1 del DPR 309/90 e smi.

Le principali classi che ricadono nel gruppo delle NPS sono di seguito riportate: cannabinoidi sintetici, catinoni sintetici, fenetilamine, piperazine, triptamine, aminoindani e oppioidi sintetici.

Vengono incluse nelle NPS anche principi attivi dagli effetti psicotropi contenuti in prodotti naturali come il Kratom (*Mitragyna speciosa*), *Salvia divinorum* e Khat (*Catha edulis*) ⁸.

Il termine "nuove" risulta fuorviante, perché molte di queste molecole esistono ormai da decenni, e molte sono state brevettate negli anni '70 ⁹.

Il pericolo per la salute non è rappresentato dall'analogia strutturale con le classiche sostanze d'abuso, ma dall'assenza o dalla parziale conoscenza degli effetti (farmacodinamica) che esse producono, dalla tossicità e dalla mancata conoscenza del loro metabolismo.

In particolare, non avendo quest'ultima informazione, non si conoscono quali siano i prodotti metabolici, rendendo difficile l'individuazione nei liquidi biologici di soggetti intossicati.

⁵ King e Kicman, «A Brief History of 'New Psychoactive Substances'».

⁶ Shafi et al., «New Psychoactive Substances».

⁷ «NPS_Report.pdf».

⁸ Tittarelli et al., «Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines».

⁹ «NPS_Report.pdf».

L'esempio più calzante è quello degli oppioidi sintetici appartenenti alla classe dei Fentanyl che sono risultati dalle 100 alle 10000 volte più potenti della morfina ¹⁰, rappresentando un pericolo molto serio per l'assuntore.

Sul territorio europeo, il fenomeno delle Nuove Sostanze Psicoattive, appariva agli inizi degli anni 2000 limitato ad un numero esiguo di molecole, tanto da non spingere i paesi membri dell'Unione Europea, ad adottare misure legislative nazionali o comunitarie che ne potessero ostacolare la diffusione.

Negli anni a seguire, l'assenza di leggi adeguate sia nazionali che europee, e la rapida evoluzione dell'e-commerce che si è sviluppato sia nel clearnet (internet accessibile a tutti) che nel dark web (internet accessibile unicamente con software apposito e che solitamente garantisce la privacy degli utenti), hanno favorito il commercio sottotraccia di queste molecole portando alla fine del 2020, il numero delle sostanze monitorate a 830 ¹¹.

Solo nel 2020, le sostanze segnalate per la prima volta in Europa sono risultate ben 46 ¹².

Questo numero così elevato di sostanze, è collegato alla dinamica che questo mercato ha acquisito negli anni. Il ricambio dei principi attivi è pressoché continuo poiché nel momento in cui esse vengono attenzionate dalla Legge come sostanze stupefacenti, vengono tempestivamente sostituite da altri principi attivi di nuova sintesi non attenzionati.

Sebbene il numero complessivo delle NPS monitorate sia molto elevato, rimane almeno per ora un mercato riconducibile a determinati ristretti ambiti

¹⁰ Rab, Flanagan, e Hudson, «Detection of Fentanyl and Fentanyl Analogues in Biological Samples Using Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry».

¹¹ «Relazione europea sulla droga Tendenze e sviluppi. 2021».

¹² «Relazione europea sulla droga Tendenze e sviluppi. 2021».

sociali, e dal 2018 l'incremento delle nuove sostanze sintetizzate e la loro diffusione risulta inferiore rispetto agli anni passati.

C'è però una eccezione a questa diminuzione di NPS ed è rappresentata dagli oppioidi sintetici. Ad esempio nell'ultimo World Drug Report 2021 della UNODC ¹³, il numero di NPS con effetti oppioidi (ad es. analoghi del fentanili o benzimidazoli) è cresciuto notevolmente nell'ultimo decennio e ha continuato a crescere nel 2018 e nel 2019, sebbene ad un ritmo inferiore rispetto a prima.

Anche le quantità di sostanze sequestrate è notevolmente diminuita, e la prevalenza dell'uso di diverse NPS nella popolazione adulta o negli adolescenti rimane molto inferiore alla prevalenza dell'uso di sostanze convenzionali controllate ¹⁴.

Per porre un termine di paragone, si può citare il caso dell'Inghilterra e del Galles, dove nel 2018 il consumo di Cannabis e Cocaina è stato rispettivamente pari al 7,6% e al 2,9% della popolazione, mentre nello stesso anno solo lo 0,5% della popolazione adulta ha affermato di aver consumato NPS, in particolare cannabinoidi sintetici ¹⁵.

Sempre secondo il World Drug Report 2021 della UNODC, gli assuntori di queste sostanze sono rappresentati da un gruppo eterogeneo, che include soggetti maturi, esperti e informati, noti come "psiconauti", che acquistano sostanze, spesso sia sul clear web che sul dark web (darknet);

ma sono presenti anche soggetti giovani, che assumono sostanze in ambienti ricreativi, "festini" etero e gay, ambienti studenteschi. Il fenomeno pare sia presente anche tra gruppi di popolazione emarginati, come

¹³ «World Drug Report 2021».

¹⁴ «World Drug Report 2021».

¹⁵ «United Kingdom Drug Situation 2019».

senzatetto o persone socialmente emarginate avvezze all'uso di stupefacenti.

^{16, 17}

La popolazione degli psiconauti risulta comunque quella più consapevole e spinta a sperimentare nuovi composti psicoattivi ma anche le loro combinazioni; sono anche propensi a scambiare e fornire informazioni ad altri utenti sugli effetti che ne derivano dall'assunzione ^{18 19}.

In generale si può affermare che le motivazioni che inducono all'assunzione di queste sostanze sono simili a quelle che spingono all'uso delle sostanze classiche, come ad esempio: la curiosità, la ricerca del piacere sessuale indotta dalla droga, la ricerca di sensazioni e l'esplorazione di sé. Le altre motivazioni di carattere pratico, che inducono all'uso delle NPS sono: il mercato prevalente online, la buona percezione del rapporto qualità-prezzo, il fatto che in molti casi queste sostanze risultano ancora legali, gli effetti specifici desiderati e la durata ²⁰.

Per monitorare questo fenomeno a livello globale, la UNODC ha lanciato nel giugno 2013, l'UNODC Early Warning Advisory (EWA), una rete mondiale che mira a monitorare, analizzare e segnalare le tendenze relative alle NPS, come base per risposte politiche efficaci basate su dati concreti. Le informazioni vengono acquisite anche grazie a delle partnership con varie istituzioni territoriali, che a loro volta autosostengono il sistema scambiandosi informazioni. L'agenzia europea che collabora con UNODC EWA, è l'EMCDDA ²¹.

¹⁶ Van Hout et al., «Health and Social Problems Associated with Recent Novel Psychoactive Substance (NPS) Use Amongst Marginalised, Nightlife and Online Users in Six European Countries».

¹⁷ Orsolini et al., «Mind Navigators of Chemicals' Experimenters?»

¹⁸ Orsolini et al.

¹⁹ Tittarelli et al., «Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines».

²⁰ Tittarelli et al.

²¹ «What is the Early Warning Advisory?»

A sua volta anche l'EMCDDA insieme all'Europol, gestisce una rete europea creata per raccogliere informazioni sulle nuove sostanze psicoattive, Early Warning System on NPS. Il ruolo di questa agenzia verrà ampiamente illustrato nel capitolo 1.

L'obbiettivo di questa tesi è quello di fornire una panoramica sugli aspetti legali nazionali ed europei riguardanti le NPS, chiarire i limiti attuali, e proporre una matrice biologica di elezione e un metodo analitico validato e aggiornabile, per le nuove sostanze, che sia utile in ambito clinico e forense.

CAPITOLO 1

LO SVILUPPO DEL RUOLO DELL'OSSERVATORIO EUROPEO SULLE DROGHE E DELLE TOSSICODIPENDENZE (EMCDDA) NELLA DIVULGAZIONE DELLE INFORMAZIONI RIGUARDANTI LE NPS.

Sul finire degli anni 80', il presidente francese François Mitterrand propose ai leader dell'UE una strategia d'azione comune finalizzata ad affrontare l'escalation del problema della droga in Europa.

Il Comitato Europeo per la Lotta Alla Droga (CELAD), in funzione di questa strategia, elaborò nel 1990 un Piano Europeo a contrasto della diffusione delle sostanze stupefacenti in Europa. Questa fu la prima volta in cui gli Stati membri dovettero cooperare e coordinarsi per trovare un approccio comune al problema degli stupefacenti su territorio dell'Unione.

Questo primo traguardo mise le basi per l'istituzione nel 1993 dell'Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze (EMCDDA) ^{22 23}.

L'Agenzia è stata ufficialmente inaugurata a Lisbona nel 1995, e da quel momento è diventata la principale autorità europea in materia di sostanze illecite.

²² Regolamento (CEE) n. 302/93 del Consiglio, dell'8 febbraio 1993, relativo all'istituzione di un Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze.

²³ Regolamento (CE) n. 1920/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 dicembre 2006, relativo all'istituzione di un Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze (rifusione).

Il ruolo che ricopre l'EMCDDA è quello di fornire informazioni fattuali, obiettive, affidabili, tempestive e comparabili sulle droghe, le tossicodipendenze e le conseguenze che ne derivano sul territorio UE ²⁴.

L'Osservatorio non fa politica e non formula raccomandazioni, ma fornendo informazioni complete e derivate da un approccio multidisciplinare, aiuta a garantire che le decisioni politiche dei responsabili nazionali e dell'UE non si basino sull'ideologia o su giudizi morali ²⁵.

L'esigenza continua dell'EMCDDA nel doversi adattare ai cambiamenti repentini del mercato delle sostanze, l'ha vista evolvere da semplice fornitrice di informazioni ad istituzione proattiva.

L'obiettivo principale dell'EMCDDA è quello di preservare la salute e la sicurezza su tutto il territorio dell'UE, questa funzione viene assolta perseguendo obiettivi strategici ben definiti ²⁶.

Gli obiettivi strategici che l'Osservatorio si pone per contribuire alla salute pubblica sono:

- Sostenere risposte rapide alle nuove minacce per la salute;
- Sostenere le iniziative politiche;
- Fornire una panoramica completa del consumo di droghe;
- Fornire interventi di supporto per ridurre le conseguenze del consumo di droga.

²⁴ Regolamento (CE) n. 1920/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 dicembre 2006 , relativo all'istituzione di un Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze (rifusione).

²⁵ «Contributing to a healthier and more secure Europe | www.emcdda.europa.eu».

²⁶ «Contributing to a healthier and more secure Europe | www.emcdda.europa.eu».

Gli obiettivi strategici che l'Osservatorio si pone per contribuire alla sicurezza sono:

- Sostenere risposte rapide alle nuove minacce per la salute;
- Sostenere le politiche e le risposte operative;
- Fornire una panoramica completa del mercato della droga;
- Valutare le conseguenze dei reati legati alla droga.

I fattori trainanti su cui si basa il servizio dell'Osservatorio sono²⁷:

- ✓ Il rapporto con il Quadro Istituzionale dell'UE;
- ✓ La collaborazione con partner nazionali, europei e internazionali;
- ✓ Un potenziale scientifico adeguato;
- ✓ La capacità di gestire adeguatamente il sistema

EMCDDA, in stretta collaborazione con l'Europol, persegue i suoi obiettivi strategici, giocando un ruolo centrale nel sistema di allerta precoce sulle NPS (EWS - Early Warning System).

L'EWS è un sistema di scambio di informazioni che può contare su una rete internazionale, e che coinvolge 29 sistemi nazionali di allerta precoce in tutta Europa (NEWS), ed inoltre comprende l'Agenzia Europea del Farmaco (EMA) e la Commissione Europea Informazioni sul sistema di allerta precoce dell'UE.

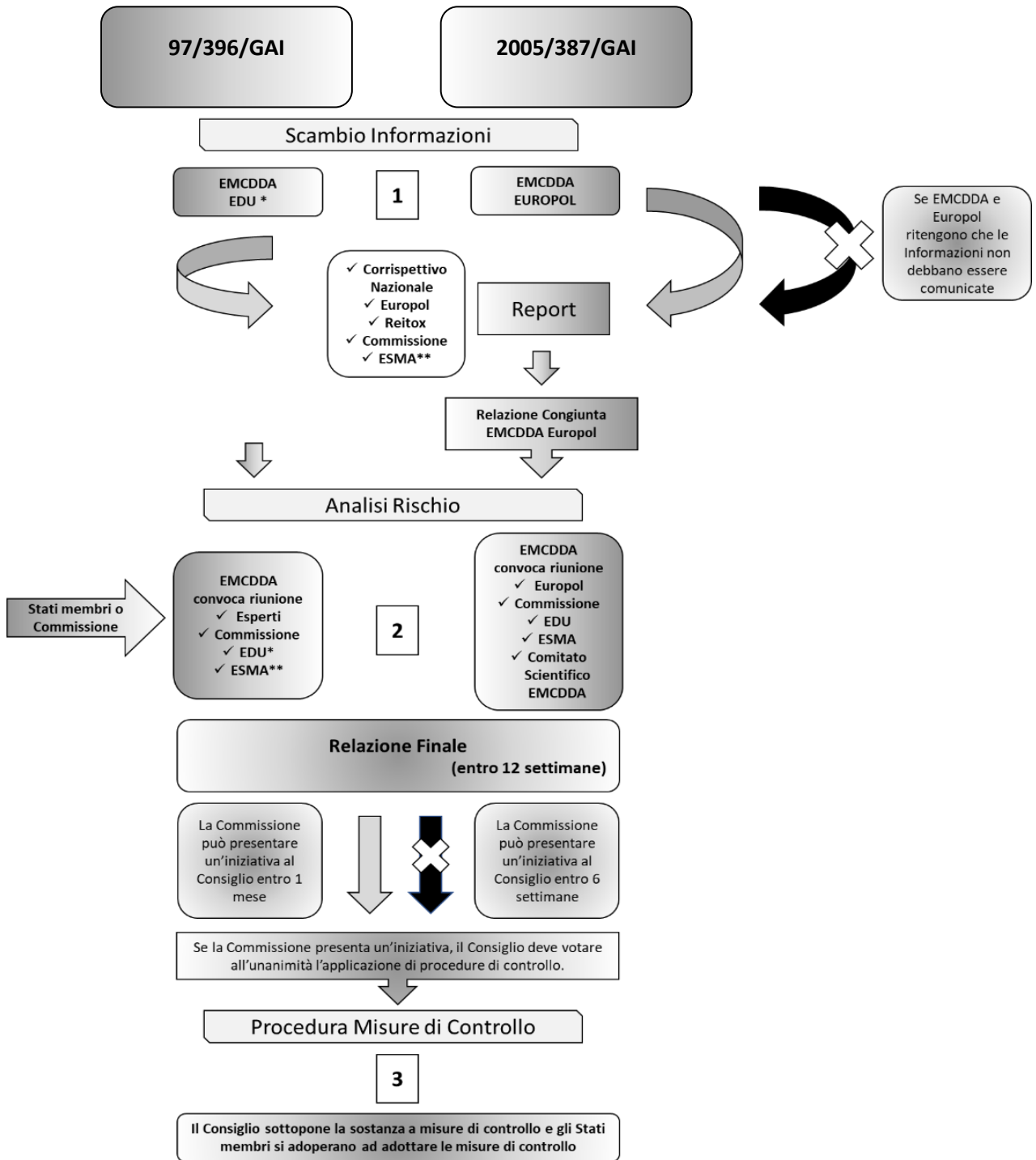
Con l'Azione Comune 97/396/GAI, e successivamente con la decisione 2005/387/GAI del Consiglio europeo, l'UE rende operativo il primo sistema a 3 fasi per lo scambio rapido di informazioni, specifico per le nuove droghe sintetiche.

²⁷ «Contributing to a healthier and more secure Europe | www.emcdda.europa.eu».

In figura 1 vengono mostrate in parallelo le procedure relative ai due provvedimenti che si sono avvicinati nel tempo, e le Agenzie europee attive nel Sistema.

Come riportato nella stessa figura, l'EMCDDA acquisisce il materiale proveniente dalle nazioni che effettuano una segnalazione, e gioca un ruolo fondamentale di coordinamento e di gestione del Sistema.

Figura 1. Procedure descritte nell’Azione Comune 97/396/GAI e nella decisione 2005/387/GAI del Consiglio europeo.



*EDU: Europol Drugs Unit

Rimane significativo il passaggio tra i due provvedimenti in cui il termine “nuove droghe sintetiche” presente nella 97/396/GAI viene sostituito dal termine “nuove sostanze psicoattive”, definite come [...] “un nuovo stupefacente o una nuova droga psicotropa allo stato puro o contenuta in un preparato”^{28 29},

Seppur mantenendo sempre lo stesso approccio in 3 fasi, la procedura dell'EWS, ha subito modificazioni nel tempo dovute alla velocità con cui le nuove sostanze comparivano sul mercato; aspetto non riferito solo al numero di sostanze, ma anche alla loro varietà e alla modalità di vendita e distribuzione.

La revisione più importante del sistema viene proposta proprio dall'EMCDDA nella relazione congiunta con Europol del 2011, in cui viene messa in evidenza l'inadeguatezza del processo proposto dalla decisione 2005/387/GAI;

la procedura per sottoporre una sola sostanza a misure restrittive poteva durare fino a due anni, questo avrebbe permesso ai produttori e spacciatori di queste sostanze, di aggirare le misure di controllo, apportando piccole modifiche alla struttura chimica della sostanza, senza attenuarne le gravi conseguenze per la salute³⁰.

Inoltre la natura binaria della 2005/387/GAI prevedeva solamente due azioni: misure penali o nessuna azione, questo riduceva la capacità di intervento dell'Unione non consentendole di prendere in considerazione opzioni efficaci per misure di controllo rapide e mirate.

²⁸ 97/396/JHA: Joint Action of 16 June 1997 adopted by the Council on the basis of Article K.3 of the Treaty on European Union, concerning the information exchange, risk assessment and the control of new synthetic drugs.

²⁹ Decisione 2005/387/GAI del Consiglio, del 10 maggio 2005, relativa allo scambio di informazioni, alla valutazione dei rischi e al controllo delle nuove sostanze psicoattive.

³⁰ «EMCDDA-Europol_Annual_Report_2011_2012_final_335568.pdf».

Per tali motivi nella relazione del 2011, vengono fornite le seguenti linee di indirizzo ^{31 32}:

- Migliorare il monitoraggio e la valutazione del rischio delle sostanze, estendendo il supporto alle analisi forensi, agli studi tossicologici, farmacologici ed epidemiologici;
- Fornire risposte più rapide e sostenibili alla diffusione delle sostanze, possibilmente studiando un modo per esaminare il gruppo più che la singola sostanza, conservando però la necessità di studiare la nocività della singola molecola;
- Consentire una risposta più rapida attraverso divieti temporanei, per le sostanze che presentino rischi immediati;
- Allineare meglio le leggi per il controllo dei farmaci, della sicurezza degli alimenti e della protezione dei consumatori e dei medicinali, per coprire l'ampia varietà di sostanze che emergono.

Prendendo atto delle valutazioni di EMCDDA ed Europol, nel 2013 la Commissione europea su proposta dell'EMA, decide di cambiare la struttura del Sistema proposto nella 2005/387/GAI, rendendolo più veloce ed efficace, rafforzando la capacità dell'UE di rispondere al fenomeno delle NPS.

Nella Figura 2 viene riportato lo schema della nuova procedura (IP/13/837) ³³.

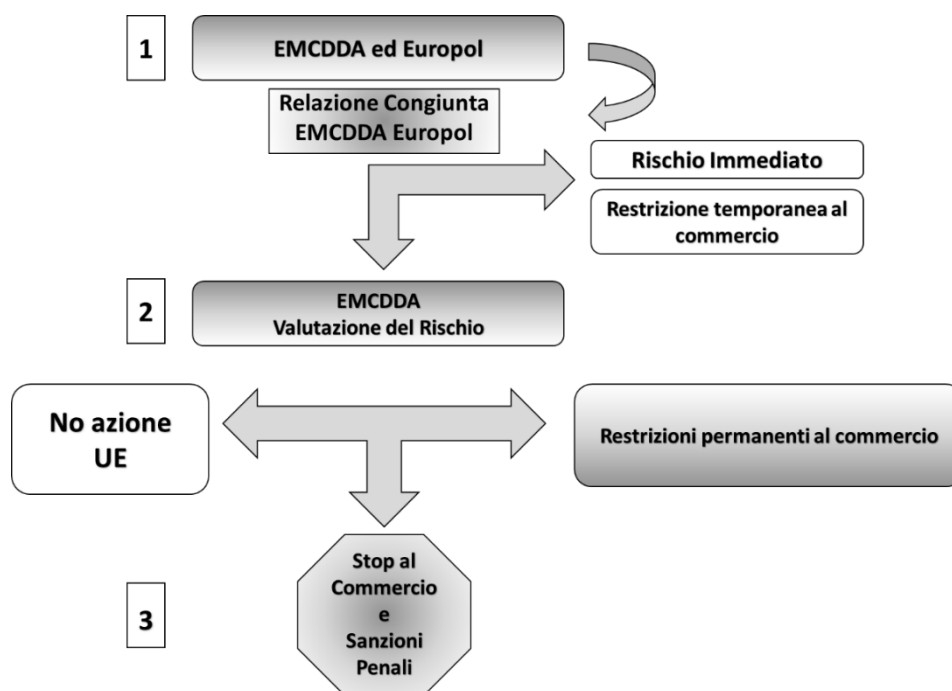
³¹ «EMCDDA-Europol_Annual_Report_2011_2012_final_335568.pdf».

³² Vari et al., «New Psychoactive Substances».

³³

«News_releaseEN_NewRegulation2018app_NPS_EN_FINAL_webQUOTE1.pdf».

Figura 2. Nuova procedura proposta dalla Commissione (IP/13/837).



In questa proposta, le sostanze che presentano un rischio moderato subiscono una restrizione permanente dal mercato dei consumatori, mentre quelle che presentano un rischio elevato vengono bandite dal mercato; ma in entrambi i casi non sono previste sanzioni penali.

Quelle più nocive, che comportano un grave rischio per la salute dei consumatori, sono oggetto di sanzioni penali ³⁴³⁵.

Nello specifico, nel caso in cui una nuova molecola desse motivo di preoccupazione per rischi sanitari, sociali e di sicurezza, la Commissione, con la sola relazione congiunta di EMCDDA e Europol può, sulla base di motivi validi, richiedere un'adeguata valutazione del rischio.

³⁴ Vari et al., «New Psychoactive Substances».

³⁵

«News_releaseEN_NewRegulation2018app_NPS_EN_FINAL_webQUOTE1.pdf».

Se la relazione congiunta dimostrasse che la sostanza presenta rischi immediati per la salute pubblica, la Commissione può già bloccare la vendita in tutta Europa ³⁶.

In questo contesto vengono introdotte anche delle misure temporanee oltre a quelle permanenti già applicate nella 2005/387/GAI.

Se una sostanza rappresentasse un rischio immediato, se ne può limitare la vendita entro poche settimane fino ad un anno, ma non vengono impediti gli usi industriali, commerciali o scientifici.

In caso di rischio grave vengono applicate misure permanenti, entro 10 mesi anziché 2 anni come avveniva prima, che ne limitano sia la vendita che l'uso nel settore industriale ^{37 38}.

Nell'ambito di questo meccanismo l'EMCDDA ha la possibilità di includere nella sua valutazione anche le sostanze simili a quella già formalmente in esame, impedendo agli spacciatori di NPS, di immettere sul mercato sostanze con struttura chimica simile ed eludere la legge.

Nel 2017 sono state segnalate ben 51 nuove sostanze, alla fine dello stesso anno l'EMCDDA ha riferito di essere arrivato a monitorare 670 NPS rispetto alle 350 del 2013.

Sono apparse sul mercato degli stupefacenti, nuovi cannabinoidi e oppioidi sintetici, che hanno creato problemi sociali e sanitari tra cui intossicazioni e decessi, e che hanno indotto l'Osservatorio di Lisbona a rivedere le valutazioni di rischio di 9 NPS³⁹.

³⁶

«News_releaseEN_NewRegulation2018app_NPS_EN_FINAL_webQUOTE1.pdf».

³⁷ Vari et al., «New Psychoactive Substances».

³⁸

«News_releaseEN_NewRegulation2018app_NPS_EN_FINAL_webQUOTE1.pdf».

³⁹ Vari et al., «New Psychoactive Substances».

L'aggravarsi della minaccia sociale e sanitaria ha indotto la Commissione e il Parlamento europeo a rafforzare le procedure esistenti, snellendo e accelerando la raccolta dei dati e le procedure di valutazione del rischio (il regolamento (CE) n. 1920/2006 viene modificato con il regolamento (UE) 2017/2101).

Il regolamento (UE) 2017/2101 invita i centri focali delle reti nazionali REITOX e la propria unità nazionale Europol a fornire tempestivamente e senza indebito ritardo le informazioni riguardanti le NPS all'EMCDDA e allo stesso Europol.

EMCDDA e Europol si impegnano a loro volta a raccogliere, raffrontare, analizzare e valutare le informazioni e comunicarle tempestivamente ai centri focali, alle unità Europol e alla Commissione.

Questo per dare la possibilità di diramare un'eventuale allerta precoce e consentire all'EMCDDA di redigere la relazione iniziale.

Se l'Osservatorio o la Commissione o la maggioranza degli Stati membri ritiene che le informazioni raccolte su una nuova sostanza possano avere dei riflessi sociali o di salute pubblica, la Commissione incarica l'EMCDDA di redigere una relazione iniziale.

Nella (UE) 2017/2101, vengono riportate le informazioni principali che la relazione iniziale deve contenere, che sono:

- Natura, numero e portata di incidenti potenzialmente associati alla sostanza, da cui emergono problemi sociali e sanitari, nonché i trend di consumo;
- gli aspetti chimico-fisici, chimico-tossicologici, chimico-farmacologici e medici propri della nuova sostanza;
- l'esistenza di precursori utilizzati nella fabbricazione della sostanza sotto indagine;

- il coinvolgimento di gruppi criminali nella fabbricazione e nello spaccio della sostanza;
- l'eventuale utilizzo della sostanza ad uso medico-veterinario, industriale e per fini di ricerca

ed infine se la sostanza sia sotto misure restrittive negli Stati membri o oggetto di valutazione a livello internazionale.

Per redigere la relazione iniziale, l'EMCDDA a sua volta, può richiedere informazioni supplementari sulla nuova molecola ai punti focali, i quali avranno 2 settimane dal ricevimento della richiesta per rispondere.

L'Osservatorio può inoltre richiedere informazioni a riguardo, alle seguenti Agenzie europee:

- EMA, che si impegna a fornire i dati a disposizione senza indebito ritardo, riguardanti l'uso umano o veterinario del principio attivo o se è stata inoltrata richiesta per tale uso;
- Europol, che si impegna a fornire notizie sulla fabbricazione e sullo spaccio della sostanza da parti di gruppi criminali;
- Agenzia europea per le sostanze chimiche (ECHA);
- Centro europeo per il controllo delle malattie (ECDC);
- Autorità europea per sicurezza alimentare (EFSA).

La relazione iniziale, una volta ultimata, viene trasmessa alla Commissione e agli Stati membri, entro 5 settimana dalla richiesta.

Un aspetto fondamentale che è stato introdotto dal nuovo regolamento e che in parte era presente nella IP/13/837, è la possibilità che ha Osservatorio di raccogliere informazioni su più sostanze che abbiano struttura chimica simile, e redigere una relazione iniziale unica cumulativa entro 6 settimane

dalla richiesta, purché vengano individuate le caratteristiche delle singole NPS.

Entro 2 settimana dalla ricezione della relazione iniziale o della relazione cumulativa, la Commissione può richiedere all'EMCDDA di valutare i rischi potenziali che la nuova o le nuove sostanze presentano. Nel caso in cui nella relazione iniziale e nella relazione iniziale cumulativa, siano già stati evidenziati rischi sociali e di salute pubblica, la Commissione richiede all'Osservatorio di elaborare una relazione di valutazione del rischio.

La valutazione del rischio viene effettuata direttamente dal comitato scientifico dell'Osservatorio.

Su suggerimento del presidente del comitato scientifico, il direttore può, proporre che la valutazione della pericolosità sia effettuata da un comitato allargato ad esperti scientifici del settore.

La (UE) 2017/2101, stabilisce le informazioni principali che deve contenere la relazione di valutazione del rischio.

Devono essere riportate le proprietà chimico-fisiche, farmacologiche e tossicologiche, nonché gli aspetti che riguardano i rischi per la salute in termini di tossicità acuta, cronica e potenziale d'abuso.

Sono richieste informazioni riguardanti i rischi sociali derivanti dall'assunzione della sostanza, le conseguenze per l'ordine pubblico e le attività criminali associate all'uso della sostanza.

Il comitato scientifico dell'Osservatorio deve anche riferire informazioni se disponibili, sui modelli di consumo e sulla disponibilità e potenzialità di diffusione, nonché sull'uso industriale e scientifico che ne viene fatto al momento della valutazione.

Sulla base della relazione, la Commissione può proporre di controllare la sostanza, e il Consiglio dell'UE e il Parlamento europeo avranno due mesi per accettare o meno questa proposta.

Il regolamento (UE) 2017/2101 deve essere letto in combinato disposto con la Direttiva (EU) 2017/2103 del Parlamento europeo e del Consiglio, che di fatto abroga la decisione 2005/387/GAI.

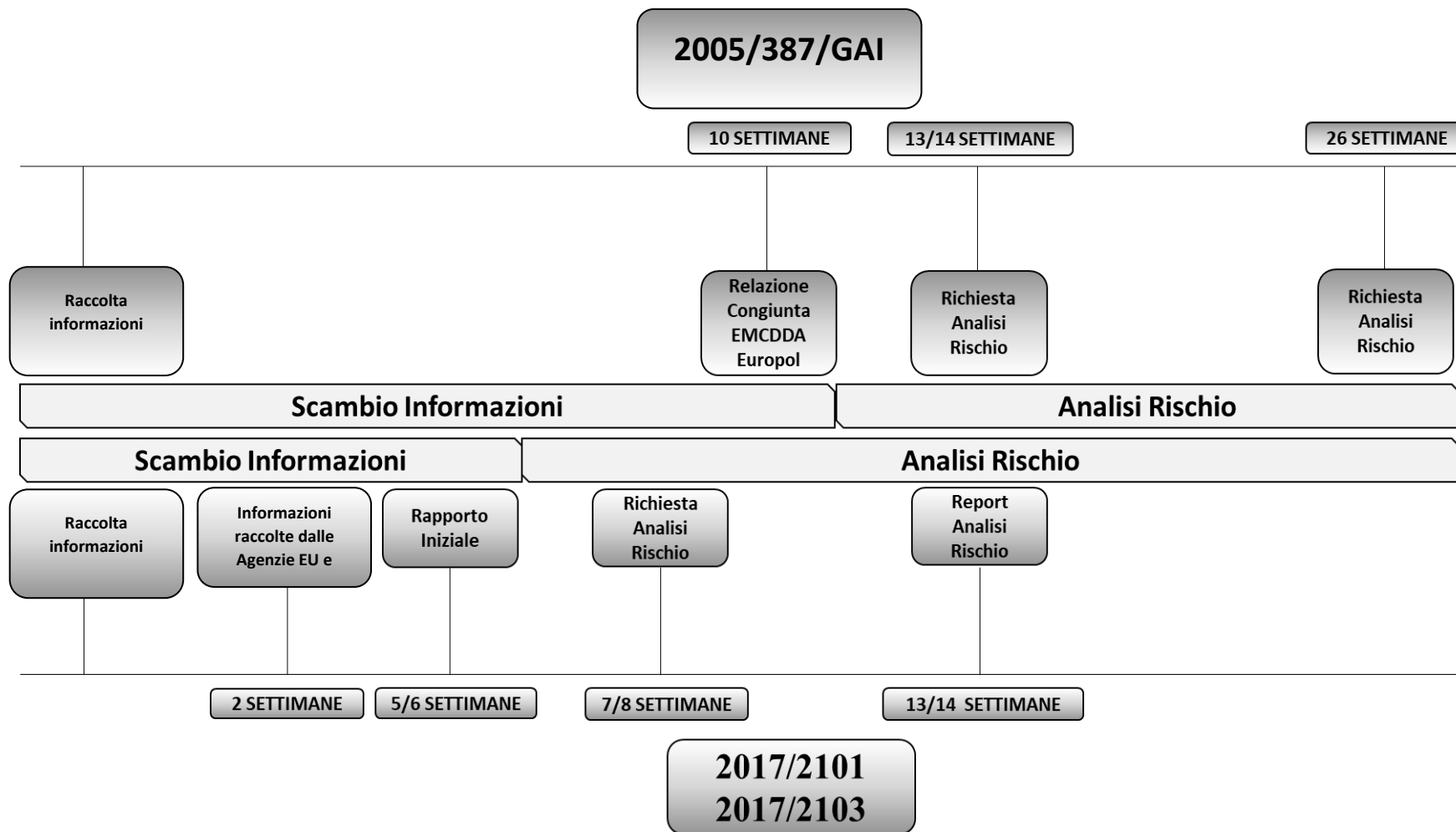
La Direttiva (EU) 2017/2103, nel momento in cui sia stato rilevato un rischio grave per la salute ed ove possibili gravi rischi per la società, introduce una nuova procedura di inclusione della nuova sostanza o nuove sostanze psicoattive nella definizione di “stupefacenti”.

Se la commissione decide di sottoporre a controllo una o più sostanze, questa direttiva al punto 4 dell’Articolo 1, paragrafo 2, riporta che gli Stati membri avranno sei mesi (invece di 12 mesi secondo il vecchio sistema) per assoggettare la sostanza a misure di controllo nazionale.

La Figura 3 ⁴⁰ mette in evidenza la sequenza temporale relativa alle due normative che si sono avvicinate.

⁴⁰ «EMCDDA Operating Guidelines for the European Union Early Warning System on New Psychoactive Substances».

Figura 3. Sequenza temporale della procedura descritta nel Regolamento (UE) 2017/2101 e nella Direttiva (UE) 2017/2103 (in basso), confrontata con la vecchia procedura descritta nella Decisione 2005/387/GAI del Consiglio europeo (in alto).



CAPITOLO 2

Il DPR.309/90 ed il ruolo del Sistema Nazionale di Allerta Precoce (SNAP) nella nell'inserimento delle Nuove Sostanze nelle Tabelle allegate e nella divulgazione delle informazioni riguardanti le NPS.

Il DPR n. 309 del 9 ottobre 1990: “Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza”⁴¹, è un Decreto del Presidente della Repubblica, concernente la disciplina giuridica degli stupefacenti e delle sostanze psicotrope, unitamente alle norme per la prevenzione, la cura e la riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza ⁴² ⁴³. La norma è suddivisa in 12 Titoli, 136 Articoli e 5 Tabelle.

Il Titolo I istituisce il Comitato di Coordinamento Nazionale per l'Azione contro la Droga, e descrive il ruolo politico che esso esercita sulle scelte di prevenzione e di intervento, contro la produzione illecita e la diffusione delle sostanze stupefacenti o psicotrope. Il Comitato si avvale del lavoro dell'Osservatorio nazionale permanente sull'andamento del fenomeno delle tossicodipendenze afferente al Dipartimento delle Politiche Antidroga (DPA).

⁴¹ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

⁴² «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

⁴³ Di Luca et al., «Evolution of Italian Laws Banning Trafficking, Use and Abuse of Psychotropic Drugs».

In questa parte vengono anche stabilite le funzioni generali di vigilanza del Ministero della Salute e del Ministero dell'Interno, nonché le attività di vigilanza e controllo che devono svolgere le Forze dell'ordine ⁴⁴.

Questa parte definisce anche i meccanismi di inclusione delle sostanze stupefacenti e psicotrope nelle tabelle allegate alla Legge.

I Titoli II, III, IV, V, VI e VII esaminano tutti gli aspetti relativi alla coltivazione, produzione, fabbricazione, distribuzione, uso, importazione e transito delle sostanze psicoattive, stabilendo requisiti specifici per l'autorizzazione, la documentazione e la comunicazione di dati e informazioni ⁴⁵.

In particolare, nel Titolo VI, Capo III, articolo 49, viene concesso, previa autorizzazione del Ministero della Salute che ne valuta l'idoneità, agli istituti universitari e ai laboratori che svolgono attività di ricerca scientifica e sperimentazione, di approvvigionarsi delle sostanze stupefacenti e psicotrope ai fini della ricerca scientifica o per indagini richieste dall'autorità giudiziaria.

Questo articolo è di fondamentale importanza, perché permette agli enti di ricerca e ai laboratori che affiancano il lavoro delle Forze dell'ordine, di poter aggiornare con nuove sostanze stupefacenti e psicotrope i propri database interni. I laboratori che detengono l'autorizzazione hanno degli obblighi specifici, come l'aggiornamento di un registro di carico e scarico delle sostanze stupefacenti da parte di un responsabile interno, e di produrre una relazione annuale in cui viene riportato l'uso fatto delle sostanze e il nome degli operatori e dei periti associati all'attività di ricerca e/o forense ad esso collegato.

⁴⁴ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

⁴⁵ Di Luca et al., «Evolution of Italian Laws Banning Trafficking, Use and Abuse of Psychotropic Drugs».

Il Titolo VIII, dedicato alla repressione delle attività illecite, al Capo I, articolo 72, definisce il quadro sanzionatorio relativo alla produzione, traffico e detenzione illeciti delle sostanze stupefacenti o psicotrope senza autorizzazione.

Le sanzioni vengono applicate anche a chi importa, esporta, acquista, riceve a qualsiasi titolo o comunque illecitamente detiene sostanze stupefacenti e psicotrope superiori ai limiti massimi consentiti, stabiliti dalla tabella allegata al D.M. 11 aprile 2006⁴⁶.

Le pene sono ridotte da un terzo alla metà, in caso di possesso di farmaci contenenti sostanze stupefacenti o psicotrope presenti in tabella dei medicinali sezione A del DPR 309/90 e smi, che eccedono delle quantità prescritte.

I Titoli IX, X e XI contengono i principi che guidano la legge e che riguardano gli aspetti di prevenzione, educazione, ma anche di cura e riabilitazione dalle tossicodipendenze.

In particolare, nel Titolo IX, Capo I, viene designato il Ministero della pubblica istruzione come promotore di attività mirate all'educazione alla salute e all'informazione sui danni causati da tabagismo, alcol, sostanze stupefacenti e psicotrope, e dalle patologie correlate. Queste attività vengono affidate alle scuole e inserite nelle normali attività didattiche. Il personale scolastico viene preventivamente e opportunamente formato a svolgere questo ruolo.

I Titoli X e XI definiscono la funzione di prevenzione, cura e riabilitazione dei centri per le tossicodipendenze sia pubblici che privati, e come questi vengono gestiti sul territorio.

⁴⁶ «D.M.-11-aprile-2006.pdf».

Le tabelle allegate al DPR 309/90 e smi riportano l'elenco delle sostanze stupefacenti e psicotrope, e sono state modificate più volte sia nei contenuti che nel quadro sanzionatorio ad esso applicato.

A seguito della sentenza 32/2014 della Corte Costituzionale, il Decreto legge 20 marzo 2014, n. 36⁴⁷ convertito in Legge 16 maggio 2014, n.79⁴⁸, ha ripristinato il sistema sanzionatorio collegato agli illeciti relativi alle sostanze stupefacenti e psicotrope suddivise in quattro tabelle.

Questa Legge⁴⁹ ha istituito una quinta tabella in cui sono contenuti i medicinali e preparazioni farmaceutiche a base di sostanze stupefacenti o psicotrope. Questi farmaci sono utilizzati principalmente nella terapia del dolore, nelle cure palliative e nella disassuefazione dagli stati di tossicodipendenza.

Le modalità di prescrizione e di dispensazione sono rimaste invariate per tutte le terapie che comportano il loro utilizzo, rimane invariata anche la gestione di questi medicinali da parte degli operatori farmaceutici.

Le tabelle I e III sono quelle che contengono le sostanze per le quali sono previste sanzioni maggiori, mentre per le sostanze presenti nella II e la IV, sono previste sanzioni minori.

Questo aspetto viene puntualizzato all'articolo 14 del DPR 309/90 e smi, al punto d), viene riportato che nella tabella IV devono essere indicate: "le sostanze per le quali sono stati accertati concreti pericoli di induzione di dipendenza fisica o psichica di intensità e gravità minori di quelli prodotti dalle sostanze elencate nelle tabelle I e III"⁵⁰.

⁴⁷ «DECRETO-LEGGE 20 marzo 2014, n. 36».

⁴⁸ «LEGGE 16 maggio 2014, n. 79».

⁴⁹ «LEGGE 16 maggio 2014, n. 79».

⁵⁰ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

In particolare, la tabella I è dedicata alle sostanze stupefacenti e psicotrope di uso comune e alle NPS inserite attraverso un meccanismo che verrà illustrato in seguito.

La tabella II contiene la cannabis sia nella forma di infiorescenze e foglie, che come prodotto lavorato nella forma di resina e olio.

La tabella III è dedicata ai composti barbiturati, depressori del sistema nervoso centrale, e utilizzati in campo farmaceutico per le loro proprietà ansiolitiche, ipnotiche, anticonvulsivanti, sedative e anestetiche.

La tabella IV include le sostanze ansiolitiche e sedativo-ipnotiche, come le benzodiazepine e le cosiddette “Z-Drugs”, ovvero Zaleplon, Zolpidem e Zopiclone. In questa tabella sono presenti anche l'acido gamma-idrossibutirrico e il suo lattone, il GBL.

Benzodiazepine, Z-Drugs, GHB, sono sia sostanze utilizzate ad uso terapeutico, perché presenti come principi attivi in alcuni prodotti farmaceutici, ma anche a scopo voluttuario e nei reati di natura sessuale, perché sono in grado di causare sia amnesia anterograda che rendere la vittima manipolabile e priva di volontà⁵¹.

La tabella dei medicinali è invece suddivisa in cinque sezioni indicate con le lettere A, B, C, D ed E, dove viene indicato anche il regime di dispensazione (Tabella 1).

⁵¹ Carfora et al., «Long-Term Detection in Hair of Zolpidem, Oxazepam and Flunitrazepam in a Case of Drug-Facilitated Sexual Assault».

Tabella 1. Regime di dispensazione dei medicinali corrispondente alla sezione di appartenenza.

Sez. A	Medicinali soggetti a prescrizione medica speciale: ricetta ministeriale a ricalco.
Sez. B	Medicinali soggetti a prescrizione medica da rinnovarsi volta per volta: ricetta non ripetibile.
Sez. C	
Sez. D	
Sez. E	Medicinali soggetti a prescrizione medica: ricetta ripetibile.

L'Allegato III bis di questa tabella riporta i medicinali che usufruiscono delle modalità prescrittive semplificate.

Nelle sezioni E e D viene anche indicata la composizione della forma farmaceutica e la modalità di somministrazione, ad uso di medici, farmacisti e operatori del settore farmaceutico.

Le 5 tabelle vengono aggiornate generalmente con Decreto ministeriale (pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana) ogni qualvolta:

- venga registrato un nuovo medicinale contenente una sostanza ad azione stupefacente o psicotropa;
- una nuova molecola venga introdotta nel mercato delle sostanze stupefacenti o psicotrope;
- una sostanza diventi oggetto d'abuso;
- cambi la classificazione di una sostanza a livello nazionale e internazionale.

L'aggiornamento e le modalità di aggiornamento delle tabelle, sono previste dagli articoli 2, 13 e 14 del DPR 309/90 e s.m.i., che stabiliscono le procedure e i criteri di carattere generale per l'inserimento di nuove molecole nelle tabelle delle sostanze stupefacenti e psicotrope.

La tabellazione prevede un iter amministrativo e uno tecnico-scientifico per la formazione del decreto ministeriale di inserimento in tabella a firma del Ministro della Salute.

L'iter viene avviato e coordinato dal Ministero della Salute, in particolare dall'Ufficio Centrale Stupefacenti, e coinvolge l'Istituto Superiore di Sanità e il Consiglio Superiore di Sanità. I due organi scientifici e sanitari nazionali elaborano e forniscono al Ministero della Salute distinti pareri tecnico-scientifici, che una volta acquisiti, permetteranno di procedere alla predisposizione ed emanazione del decreto ministeriale di inserimento in tabella, e quindi all'applicazione delle misure di controllo.

Il Ministero della Salute avvia l'iter in seguito al recepimento di input nazionali o internazionali, ad esempio quando si verifica l'inserimento di una sostanza nelle convenzioni internazionali del 1961 e del 1971, applicando di fatto l'art. 13 comma 2, che recita “Le tabelle di cui al comma 1 devono contenere l'elenco di tutte le sostanze e dei preparati indicati nelle convenzioni e negli accordi internazionali e sono aggiornate tempestivamente anche in base a quanto previsto dalle convenzioni e accordi medesimi ovvero a nuove acquisizioni scientifiche”^{52 53}

L'articolo 14 del DPR 309/90 e smi riporta i criteri per l'inclusione delle sostanze stupefacenti o psicotrope nelle tabelle; per quanto attiene le NPS, si fa riferimento prioritariamente al comma 1, lettera a), punto 7, che recita “ogni altra pianta o sostanza naturale o sintetica che possa provocare allucinazioni o gravi distorsioni sensoriali e tutte le sostanze ottenute per

⁵² «SINGLE CONVENTION ON NARCOTIC DRUGS, 1961 As Amended by the 1972 Protocol Amending the Single Convention on Narcotic Drugs, 1961».

⁵³ «CONVENTION ON PSYCHOTROPIC SUBSTANCES , 1971».

estrazione o per sintesi chimica che provocano la stessa tipologia di effetti a carico del sistema nervoso centrale”⁵⁴.

Questo criterio di inclusione molto ampio, consente di tabellare ogni sostanza che potenzialmente può determinare un rischio per la salute.

L’elaborazione dei pareri tiene conto di tutte le informazioni disponibili sulla sostanza:

- proprietà chimiche e fisiche della nuova sostanza psicoattiva;
- i metodi di sintesi e i precursori utilizzati per la sua fabbricazione o estrazione;
- le proprietà farmacologiche e tossicologiche;
- l’analisi dei rischi per la salute associati alla nuova sostanza psicoattiva, in particolare per quanto riguarda la tossicità acuta e cronica, i rischi di abuso, la potenzialità di indurre dipendenza e gli effetti fisici, mentali e comportamentali;
- l’analisi dei rischi sociali associati alla nuova sostanza psicoattiva; in particolare le conseguenze per le interazioni sociali, l’ordine pubblico e le attività criminali;
- la partecipazione di gruppi criminali alla fabbricazione, alla distribuzione e ai metodi di distribuzione, nonché al traffico della nuova sostanza psicoattiva.

Vengono inoltre considerate le informazioni disponibili sulla:

- portata e sui modelli di consumo della nuova sostanza psicoattiva, nonché sulla sua disponibilità e potenzialità di diffusione all’interno dell’Unione Europea;

⁵⁴ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

- le informazioni disponibili circa l'uso commerciale e industriale della nuova sostanza psicoattiva, sulla portata di tale uso;
- informazioni sul suo utilizzo a fini di ricerca e sviluppo scientifici e qualunque altra informazione pertinente, ove disponibile.

Gli input principali riguardanti le informazioni su nuove sostanze, necessarie ad avviare l'iter di inserimento nelle tabelle del DPR 309/90 e smi, vengono forniti principalmente attraverso il Sistema Nazionale di Allerta Precoce (SNAP), omologo italiano NEWS, dell'EWS europeo gestito da EMCDDA ed Europol.

Il progetto SNAP ISS ha scadenza triennale, e viene gestito dal Dipartimento per le politiche antidroga (DPA) in cooperazione con il Centro Dipendenze e Doping dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), ed è finalizzato all'organizzazione e alla gestione evoluta di un sistema nazionale per il monitoraggio delle nuove sostanze psicoattive sul territorio nazionale.

Lo SNAP recepisce le informazioni sulla presenza e la diffusione delle NPS sia su territorio europeo, grazie alla rete del Sistema EWS, che su territorio nazionale, grazie alla rete di Centri Collaborativi, in particolare alle Forze dell'Ordine, Pronto Soccorso, Medicine Legali e ai Centri antiveleno.

Lo SNAP svolge ruolo attivo in ⁵⁵:

- Individuazione su segnalazione, di nuove sostanze psicoattive, acquisendo informazioni sulle modalità di consumo e sui rischi associati alla salute, favorendo le iniziative di prevenzione alla diffusione e al trattamento delle conseguenze;
- Vigilanza sul fenomeno attraverso lo scambio di dati con i partner nazionali ed europei;

⁵⁵ «Sistema Nazionale di Allerta Precoce».

- Raccolta ed elaborazione delle informazioni acquisite;
- Presentazione dei dati finali che confluiranno nella Relazione al Parlamento in materia di dipendenze redatta dal DPA;
- Attività di informazione e comunicazione istituzionale a disposizione in chiaro sul sito politicheantidroga.gov.it.

Un servizio importante che svolge lo SNAP è quello di fornire ai Centri Collaborativi, standard certificati delle nuove NPS, e di proporre un servizio di verifica esterna di qualità (VEQ) su matrice cheratinica e salivare, mirata alla ricerca di queste sostanze.

Gli standard delle NPS possono essere forniti solo ai Centri Collaborativi in possesso dell'autorizzazione ministeriale secondo l'articolo 49 del DPR 309/90⁵⁶, mentre per la spedizione delle VEQ non ci sono limitazioni.

Fornire know-how ai laboratori che collaborano con il Sistema, vuol dire implementare le potenzialità dello SNAP, mettendo in grado i Centri di fornire informazioni corrette.

Un problema fondamentale di alcuni laboratori dei Centri Collaborativi risiede nelle limitazioni strumentali dovute a sistemi analitici fatiscenti o inadatti alle analisi delle NPS, e talvolta alla carenza di personale qualificato, in grado di aggiornare le metodiche di indagine.

⁵⁶ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

CAPITOLO 3

L'accertamento Tossicologico Clinico e Forense in matrici convenzionali e non convenzionali. Le principali tecniche analitiche utilizzate per la ricerca delle sostanze stupefacenti e psicotrope nelle diverse matrici biologiche. Interpretazione del dato analitico.

Le matrici biologiche utilizzate per finalità tossicologiche cliniche e forensi possono essere distinte in: convenzionali come sangue/siero, fluido orale e urine, e non convenzionali come capelli/peli e unghie (matrici cheratiniche).

Questa classificazione si concentra sulla prevalenza di utilizzo, ma la scelta preventiva del campione biologico su cui effettuare gli accertamenti tossicologici, deve tenere conto principalmente delle finestre temporali caratteristiche di ogni matrice.

Per ottenere questo genere di informazioni è essenziale conoscere la farmacocinetica della molecola, ovvero l'insieme delle reazioni biologiche (biotrasformazioni) che subisce dal momento in cui viene assorbita dall'organismo umano, fino alla sua eliminazione.

Ossia, è importante conoscere l'andamento temporale del suo assorbimento, biodisponibilità, distribuzione, metabolismo ed escrezione.

Gli accertamenti effettuati sulla matrice ematica (sangue, plasma o siero) e su quella salivare, coprono un breve arco temporale dal momento dell'assunzione, adatto a valutare "l'attualità d'uso di sostanze illecite"⁵⁷.

⁵⁷ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità¹ dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

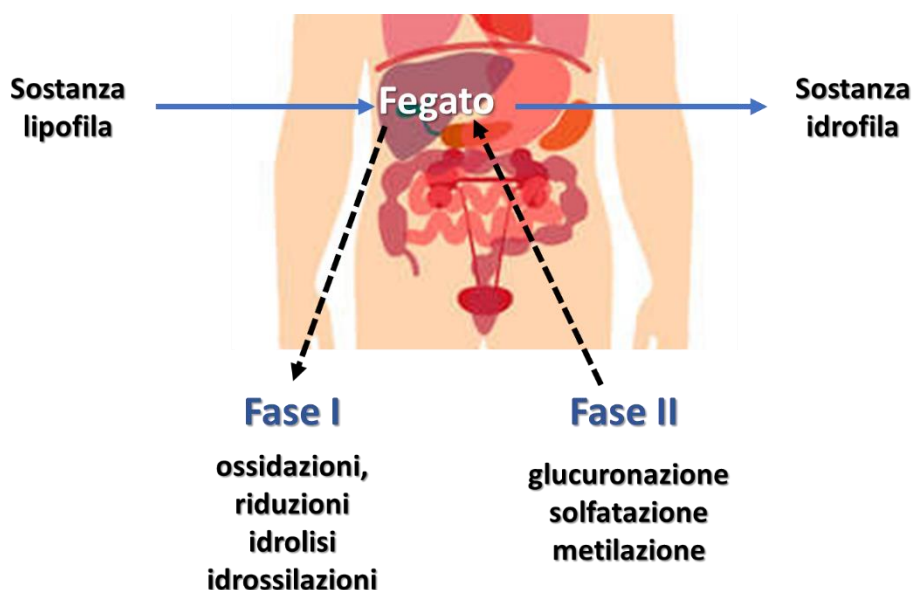
Nella matrice ematica, la concentrazione della sostanza assunta raggiunge in poco tempo il suo massimo (picco ematico) per poi decrescere rapidamente, lasciando il posto a metaboliti attivi e inattivi che si formano a seguito dei processi metabolici (metabolismo di Fase I e II).

Alcuni metaboliti attivi agiscono sul sistema nervoso centrale in modo paragonabile o superiore alla parent-drug (sostanza originaria), prolungandone gli effetti nel tempo⁵⁸.

Il metabolismo umano delle sostanze esogene si compone delle reazioni di Fase I e Fase II.

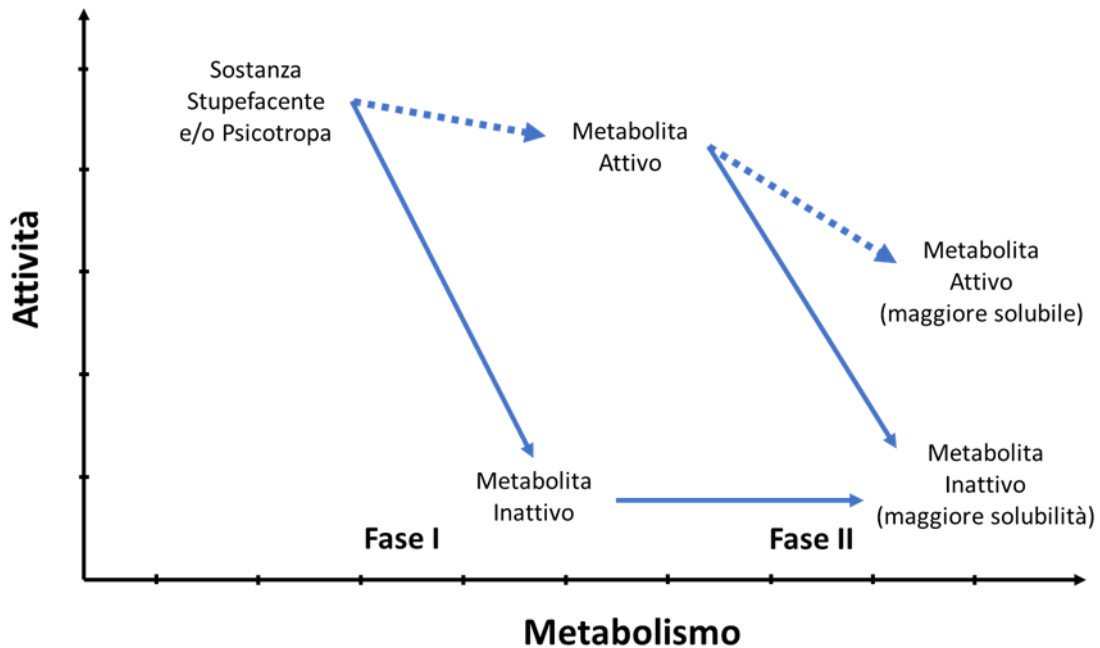
Per interpretare al meglio il dato analitico, la ricerca dello stupefacente o psicotropo somministrato, deve includere anche quella dei principali metaboliti attivi. Come riportato in figura 4 e 5, le reazioni di Fase I e II, includono diversi passaggi, con la produzione di intermedi attivi e inattivi.

Figura 4. Metabolismo di Fase I e di Fase II.



⁵⁸ Moffat et al., *Clarke's analysis of drugs and poisons*.

Figura 5.⁵⁹ Esempio del metabolismo di una generica sostanza stupefacente e/o psicotropa.



Evidenze scientifiche hanno dimostrato l'elevato grado di correlazione tra le concentrazioni degli xenobiotici presenti nel fluido orale e quelle presenti nella matrice ematica ⁶⁰ ⁶¹. La maggior parte delle sostanze d'abuso diffonde liberamente nella saliva dal torrente circolatorio permettendo di utilizzare la saliva in alternativa al sangue.

⁵⁹ Rice, *Understanding Drug Action*.

⁶⁰ Van der Linden et al., «DUID».

⁶¹ Busardo et al., «Correlation between Blood and Oral Fluid Psychoactive Drug Concentrations and Cognitive Impairment in Driving under the Influence of Drugs».

La matrice urinaria, principale matrice di escrezione, è invece riconducibile ad un consumo “recente”⁶², in una finestra temporale che va da poche ore fino a diversi giorni successivi all’assunzione della sostanza.

Su di essa vengono ricercati principalmente i metaboliti, in quanto la parent-drug, tranne in casi particolari, se presente possiede una concentrazione basse e spesso al disotto della sensibilità strumentale.

La matrice cheratinica è utilizzata per verificare lo “stato di assuntore cronico” o per valutare “comportamenti pregressi di uso/abuso”, potendo coprire un ampio intervallo temporale che va da pochi mesi ad anni⁶³.

Nella matrice cheratinica è la parent-drug ad essere presente in maniera predominante rispetto ai suoi metaboliti.

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.

I capelli prelevati dalla zona nucale hanno un ritmo di crescita costante nel tempo di circa un centimetro al mese⁶⁴.

Questo permette di poter valutare l’uso delle sostanze nella totalità della lunghezza o su più segmenti di interesse.

⁶² «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell’Associazione Scientifica “Gruppo Tossicologi Forensi Italiani” (GTFI).pdf».

⁶³ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell’Associazione Scientifica “Gruppo Tossicologi Forensi Italiani” (GTFI).pdf».

⁶⁴ Kintz, «Hair Analysis in Forensic Toxicology».

La regione prossimale del capello (porzione più vicina alla cute) permette di valutare una esposizione temporalmente vicina all'assunzione della sostanza mentre la regione distale permette una valutazione di un'esposizione più lontana nel tempo. Infine, un'Analisi segmentale da informazioni sulla storia e sulla tipologia del consumo di una determinata sostanza nei mesi corrispondenti al segmento di capello analizzato.

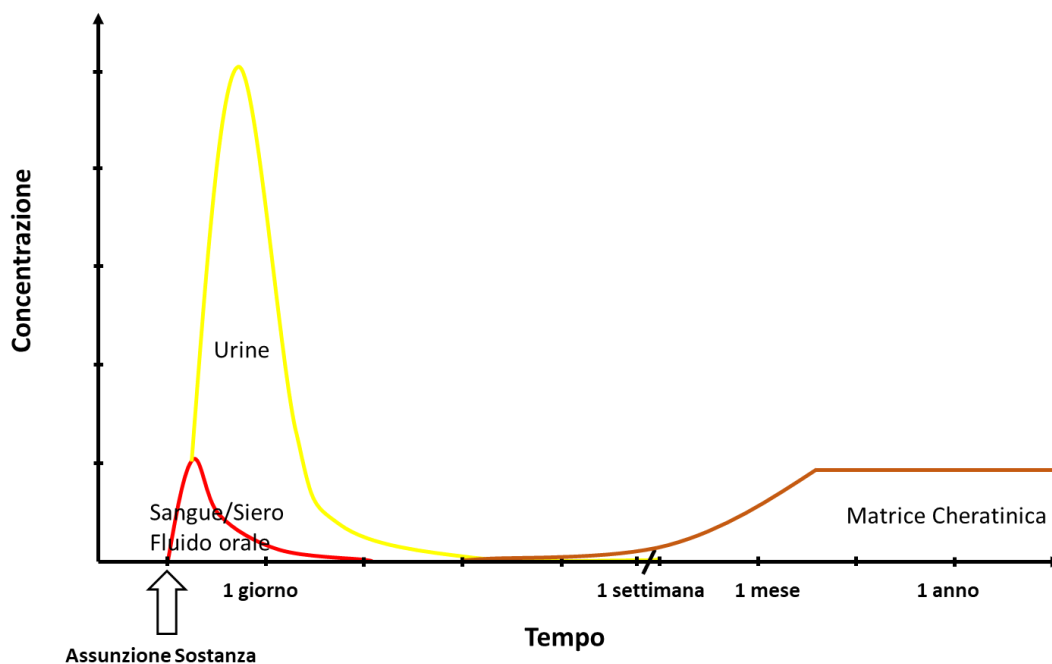
L'analisi della matrice pilifera prelevata da diversi distretti corporei (ascellari, pettorali, pubici ecc.) non è in grado di dare una interpretazione temporale altrettanto univoca, vista la variabilità dei ritmi di crescita differenti tra differenti soggetti.

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

Le unghie, per la difficoltà di campionamento, variabilità di crescita, patologie annesse e pericolo di contaminazione, non vengono attualmente utilizzate per analisi di routine.

Per una corretta interpretazione del dato analitico è indispensabile considerare tutti gli aspetti evidenziati in precedenza ed in particolare gli intervalli di rivelabilità delle diverse matrici, rappresentati graficamente in figura 6.

Figura 6. Finestre di rilevabilità delle sostanze assunte compresi dei rispettivi metaboliti.



Indipendentemente dal tipo di matrice che si vuole utilizzare, in tossicologia clinica e forense vengono applicati due livelli di accertamento (accertamenti di screening o di primo livello e analisi di conferma), che richiedono però un differente approccio strumentale.

Qualsiasi sia la tecnica utilizzata, i valori di concentrazione semiquantitativi o quantitativi ottenuti dalle analisi strumentali di una specifica matrice biologica, devono essere confrontati con dei valori soglia di riferimento.

Il valore soglia di riferimento (cut-off) di una sostanza è definito in maniera convenzionale e stabilisce la negatività o la positività di un campione riguardo detta sostanza. Il risultato delle analisi è positivo solo se la concentrazione trovata è uguale o superiore al valore di cut-off.

Gli accertamenti di screening o di primo livello⁶⁵, sono analisi preliminari in cui il campione biologico viene testato per una sostanza o una classe di sostanze, e il cui risultato positivo (non negativo) rispetto ad un cut-off, deve essere confermato con una tecnica più specifica per avere valenza forense⁶⁶.

Le analisi di conferma o di secondo livello, devono essere dotate di una maggiore specificità rispetto a quelle di primo livello, riuscendo così ad identificare oltre alla sostanza anche i metaboliti principali ad essa associati.

La tecnica di screening attualmente più utilizzata è quella immunometrica, basata sulla specificità che ha un anticorpo di legare uno specifico antigene (analita)⁶⁷. I metodi immunometrici che includono nella reazione un enzima prendono il nome di immunoenzimatici.

I metodi immunoenzimatici più comuni utilizzati per le analisi tossicologiche sono: EMIT (enzyme-multiplayed immunoassay technique), KIMS (kinetic interaction of microparticle in solution), Cedia (cloned enzyme donor immunoassay).

Questi sono tutti metodi detti “competitivi”, perché si basano sulla competizione per il legame tra antigene libero (analita presente nel campione) e antigene marcato con un enzima, con l’anticorpo specifico. Nel caso in cui

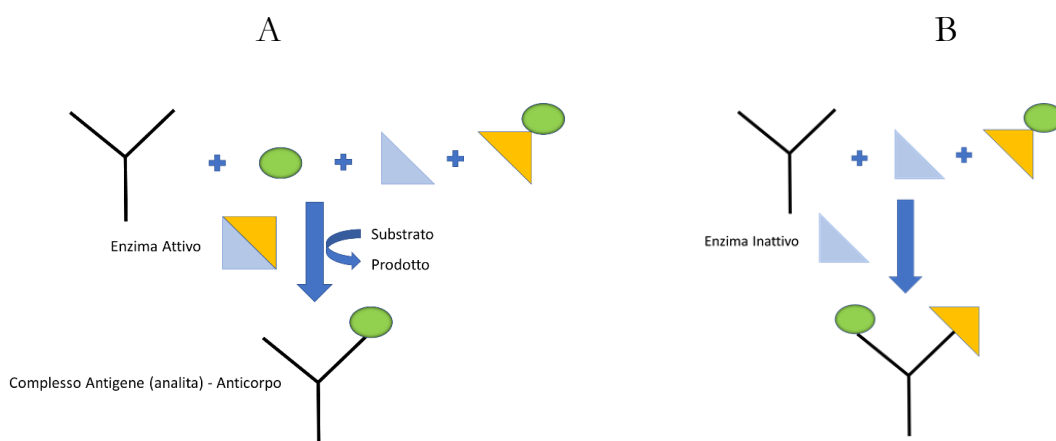
⁶⁵ «LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D’ABUSO CON FINALITÀ TOSSICOLOGICO-FORENSI E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell’Associazione Scientifica “Gruppo Tossicologi Forensi Italiani” (GTFI).pdf».

⁶⁶ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell’Associazione Scientifica “Gruppo Tossicologi Forensi Italiani” (GTFI).pdf».

⁶⁷ Koivunen e Krogsrud, «Principles of Immunochemical Techniques Used in Clinical Laboratories».

nel campione biologico sia presente l'analita libero, questo si lega all'anticorpo e si registra una variazione dell'attività enzimatica, che corrisponde ad una variazione di un segnale strumentale⁶⁸. La variazione del segnale è proporzionale alla concentrazione dell'analita. In figura 7 viene riportato a titolo di esempio, lo schema di funzionamento dei reagenti CEDIA.

Figura 7. A: reazione in presenza dell'analita (campione positivo); B: reazione in assenza dell'analita (campione negativo). Nel caso B si registra un abbassamento dell'attività enzimatica.



I test immunoenzimatici vengono applicati principalmente alla matrice urinaria.

I reagenti CEDIA trovano applicazione anche nella matrice sierica, mentre la matrice cheratinica può essere analizzata indipendentemente dal metodo immunoenzimatico, a seguito di un pretrattamento di idrolisi necessario ad estrarre gli analiti dal campione solido.

⁶⁸ Koivunen e Krogsrud.

I test immunoenzimatici sono ormai applicati ad analizzatori di chimica clinica completamente automatici, che possiedono un sistema di lettura di tipo fotometrico.

Lo strumento effettua la lettura del campione registrando il valore di assorbanza ad una determinata lunghezza d'onda, a seguito della reazione immunoenzimatica.

Questo valore di assorbanza viene confrontato con i valori registrati attraverso una curva di calibrazione preventivamente costruita, fornendo così un dato semi – quantitativo di concentrazione.

Con l'utilizzo di questi strumenti si ottiene inoltre la tracciabilità del campione, requisito fondamentale per gli accertamenti sia clinici che di interesse forense, e la riproducibilità del dato analitico (figura 8).

Figura 8. Due esempi di analizzatori automatici utilizzati nella farmacotossicologia e nella tossicologia forense [Fonti: <https://www.werfen.com/it/it/chimica-clinica/ilab-taurus>; <https://www.beckmancoulter.com/it/products/chemistry/au480>]



In caso di positività al test di primo livello, le analisi di conferma devono essere effettuate con una tecnica che assicuri una selettività e una sensibilità analitica superiore a quella associata al metodo screening⁶⁹.

La cromatografia abbinata alla spettrometria di massa è in grado di assicurare questi risultati⁷⁰.

La cromatografia è una tecnica separativa applicata principalmente a miscele organiche omogenee, e nella sua evoluzione strumentale può essere a sua volta suddivisa in gassosa (gascromatografia-GC) o liquida (cromatografia liquida ad alte prestazioni o pressioni - HPLC).

La GC è stata utilizzata fin dagli anni 60' del secolo scorso, e impone un trattamento preliminare del campione biologico con l'utilizzo di solventi estraenti o tecniche di estrazione in SPE (estrazione in fase solida).

L'HPLC, tecnica più recente, presuppone un pretrattamento del campione meno importante che spesso può essere ridotto ad una semplice diluizione della matrice biologica.

La separazione cromatografica avviene grazie alla differente distribuzione dei componenti la miscela fra due diverse fasi messe a contatto, la fase mobile e la fase stazionaria.

⁶⁹ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

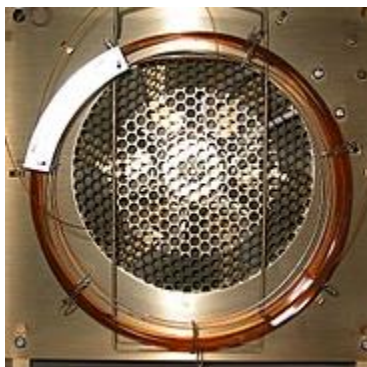
⁷⁰ «LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITÀ TOSSICOLOGICO-FORENSI E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

In GC e in HPLC questo fenomeno avviene all'interno di una colonna cromatografica, dove la fase mobile in cui è immersa la miscela scorre attraverso una fase stazionaria.

Le molecole vengono ritenute nel loro cammino dalla fase stazionaria in funzione della propria polarità, secondo un fenomeno fisico chiamato adsorbimento, uscendo dalla colonna a tempi differenti (tempi di ritenzione).

In GC, la colonna è un capillare di silice fusa cavo (figura 9), di lunghezza variabile (15 metri - 60 metri) e della sezione nell'ordine dei micrometri, dove sulle pareti interne è ancorato un film sottile di materiale organico (fase stazionaria).

Figura 9. Colonna gascromatografica.



In HPLC viene utilizzata una colonna d'acciaio (figura 10), di lunghezza variabile (5 cm - 20 cm) e della sezione nell'ordine dei millimetri, riempita di un materiale poroso composto da silice, a cui viene ancorata una fase organica (fase stazionaria).

Figura 10. Colonna cromatografiche per HPLC



Nel GC, la miscela viene preventivamente vaporizzata e fatta fluire nella colonna, variando la temperatura secondo un gradiente, sospinta da un gas inerte (fase mobile).

In HPLC, il campione viene fatto fluire nella colonna attraverso il moto propulsivo di un liquido (fase mobile), applicando elevate pressioni

Ciascuna molecola in uscita dalla colonna cromatografica, viene introdotta nello spettrometro di massa che rappresenta il sistema di rivelazione.

L'accoppiamento della cromatografia e della spettrometria di massa, costituisce un unico sistema strumentale configurabile a seconda delle esigenze analitiche che la matrice biologica posta sotto indagine richiede (figura 11).

Figura 11. A sinistra un GC-MS/MS (sistema a triplo quadrupolo) a destra un HPLC-MS/MS (sistema a triplo quadrupolo) [Fonte: <https://www.agilent.com>]



La spettrometria di massa è una tecnica identificativa, che permette il riconoscimento di una molecola rispetto al rapporto massa/carica (m/z). Le molecole dell'analita in ingresso allo spettrometro vengono frammentate e ionizzate attraverso differenti tecniche di ionizzazione.

In GC la tecnica di ionizzazione più frequente è quella ad impatto elettronico (EI), indotta da un fascio di elettroni a 70 eV di energia.

In ambito tossicologico viene utilizzata anche la ionizzazione chimica (CI)⁷¹, una tecnica soft che risulta utile nei casi in cui sia necessario analizzare delle molecole a basso peso molecolare.

Più complessi sono i sistemi di ionizzazione utilizzati in HPLC, essendo necessario nebulizzare il campione prima di essere introdotto nel sistema spettrometrico.

⁷¹ Vignali et al., «Variability on Ethyl Glucuronide Concentrations in Hair Depending on Sample Pretreatment, Using a New Developed GC-MS/MS Method».

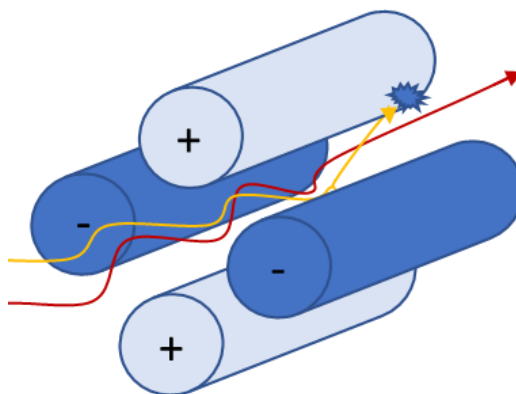
L'elettrospray (ESI) è la tecnica di ionizzazione più utilizzata nella cromatografia liquida, e consiste nella nebulizzazione e nella ionizzazione dell'analita attraverso l'applicazione di un potenziale elettrico.

I frammenti che si formano hanno sia carica positiva che negativa, caratteristica che permette di selezionare l'analisi dell'una o dell'altra parte, in funzione del guadagno in sensibilità rispetto ad un determinato analita.

I singoli frammenti carichi passano attraverso un sistema formato da quattro barre metalliche parallele chiamato quadrupolo (QMS), a cui vengono applicati dei potenziali elettromagnetici oscillanti.

Il passaggio di una popolazione di ioni di specifica m/z , avviene solo per una precisa frequenza di oscillazione, le altre particelle finiscono con lo scaricarsi su una delle quattro barre (figura 12).

Figura 12. Filtro quadrupolare



Gli spettrometri utilizzati per le analisi di routine in tossicologia sono a singolo quadrupolo (QMS) e a triplo quadrupolo (TQMS).

I sistemi TQMS sono composti da tre quadrupoli in linea, di cui il primo (Q1) e il terzo (Q3), funzionano da filtri di massa come illustrato in precedenza, mentre quello centrale ha il ruolo di cella di collisione.

Questo sistema ha la possibilità di effettuare due frammentazioni, questo comporta la formazione di ioni ottenuti da ioni generati dalla prima frammentazione e una doppia selezione (MS/MS).

La differenza in termini di performance tra queste due diverse configurazioni, è rappresentata da una maggiore sensibilità e specificità del sistema TQMS.

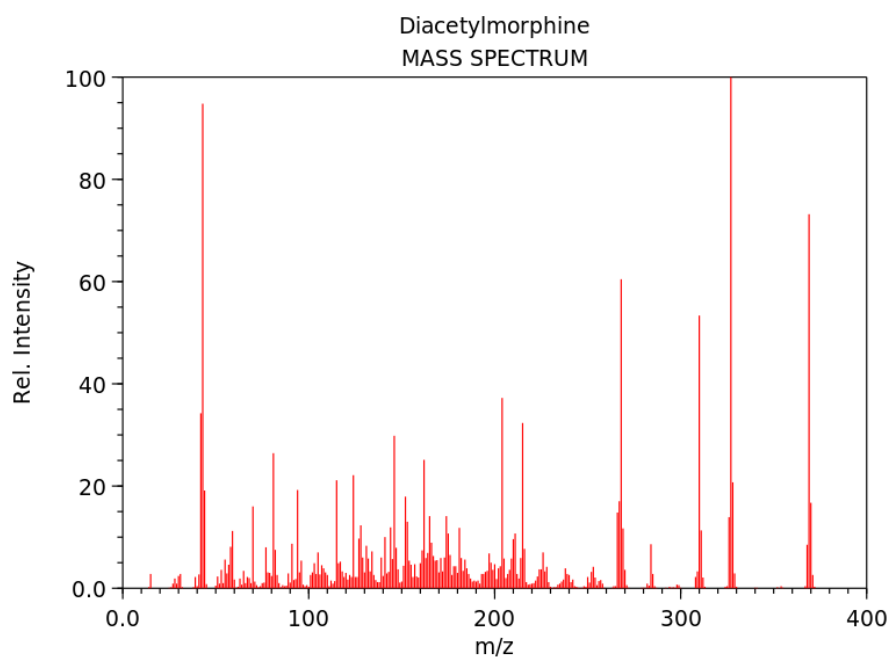
Esistono altri tipi di spettrometri dotati di una sensibilità ancora superiore, sono quelli ad alta risoluzione (HRMS), che vengono abbinati alla cromatografia liquida, ma non sono per ora strumenti molto diffusi per via dei costi molto elevati.

Gli spettrometri ad alta risoluzione permettono di determinare la massa con una accuratezza fino alla quarta cifra decimale, ciò che si chiama comunemente la massa esatta. Dato che le masse dei nuclidi non sono intere, la massa molecolare esatta è un parametro che caratterizza univocamente la formula bruta della sostanza. La tecnica HRMS permette di determinare il peso molecolare di un composto, di delucidare la struttura molecolare, di identificare le componenti di una miscela e di condurre indagini quantitative.

Diverse sono le modalità di acquisizione degli spettri di massa. La modalità SCAN (detta anche FULL SCAN) viene utilizzata quando è necessario riconoscere il maggior numero di composti presenti in un campione ed è la modalità preferita quando si analizza per la prima volta un nuovo campione o si sta mettendo a punto un nuovo metodo analitico. Il Full Scan MS è un esperimento di massa in cui l'analizzatore trasmette sequenzialmente al detector tutte le masse, formate nella sorgente, in un range selezionato dall'operatore. Si ottiene così, momento per momento, l'intero spettro di massa di ciò che viene eluito.

In figura 13 ⁷²è rappresentato lo spettro di massa dell'Eroina, ottenuto per ionizzazione elettronica a 70 eV di energia, in modalità full-scan.

Figura 13. Spettro di massa dell'Eroina [Fonte: <https://webbook.nist.gov>]



NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

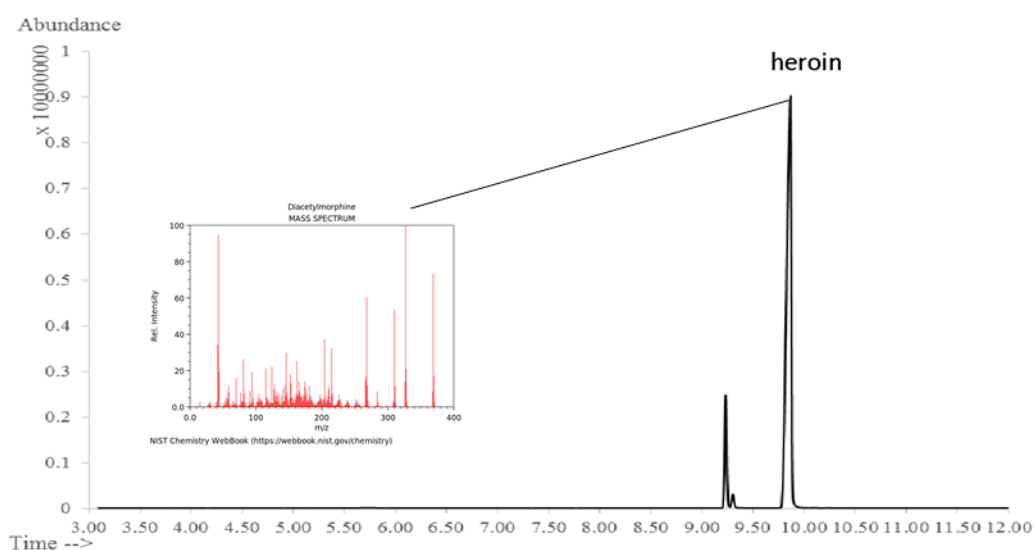
La modalità Selected Ion Monitoring (SIM) è un metodo di acquisizione a singolo stadio in cui sono monitorati uno o più ioni di particolari rapporti massa/carica.

Nella modalità di acquisizione SIM gli ioni formati in sorgente vengono accumulati nell'analizzatore, e di qui solo quelli che presentano il rapporto m/z prescelto sono isolati, fuoriescono dall'analizzatore, che funge da filtro e vengono quindi rivelati producendo uno spettro di massa SIM in cui le intensità degli ioni preselezionati sono "continuamente" registrate in funzione del tempo.

⁷² «Diacetylmorphine».

Ogni frammento m/z , possiede un'intensità di segnale proporzionale al numero di frammenti generati con il medesimo valore m/z . Lo spettro di una sostanza viene associato graficamente ad un picco rappresentato al tempo di ritenzione, e la cui area è proporzionale alla concentrazione dell'analita, in un diagramma nel tempo chiamato cromatogramma (figura 14)

Figura 14. Picco cromatografico dell'eroina associato al suo spettro di massa



Gli strumenti QMS, a singolo quadrupolo sia in GC che il HPLC, stanno divenendo antiquati sia nel campo della tossicologia clinica che in quella forense se usati da soli, e stanno lasciando il posto a strumenti più performanti a TQMS.

Gli strumenti che abbinano la cromatografia liquida alla spettrometria di massa a triplo quadrupolo (LC-MS/MS) rappresentano ormai lo standard analitico maggiormente utilizzato per gli accertamenti di secondo livello, sia in campo clinico che forense.

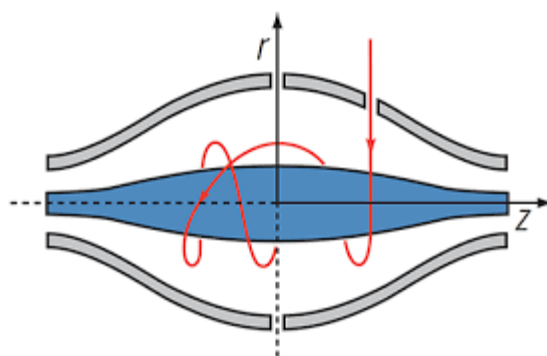
La spettrometria di massa in alta risoluzione sta assumendo un ruolo sempre più importante sia nella identificazione e caratterizzazione di vari

analiti che in analisi quantitativa con applicazioni nella proteomica, metabolomica, food, ambiente e attualmente in tossicologia clinica e forense. La capacità di identificare e caratterizzare ioni isobarici, e quindi la possibilità di effettuare analisi con alta specificità e selettività, rendono la spettrometria di massa in alta risoluzione uno strumento estremamente potente nello studio di miscele complesse. La possibilità di poter misurare la massa accurata e di determinare la formula bruta costituiscono un aiuto importante nella identificazione e caratterizzazione di composti incogniti.

In particolare, la parte spettrometrica utilizzata nel presente studio, accoppia un sistema a singolo quadrupolo ad un elemento tecnologicamente più avanzato, chiamato Orbitrap (figura 15).

Figura 15. Struttura di un analizzatore Orbitrap.

[Fonte: <https://www.creative-proteomics.com>]

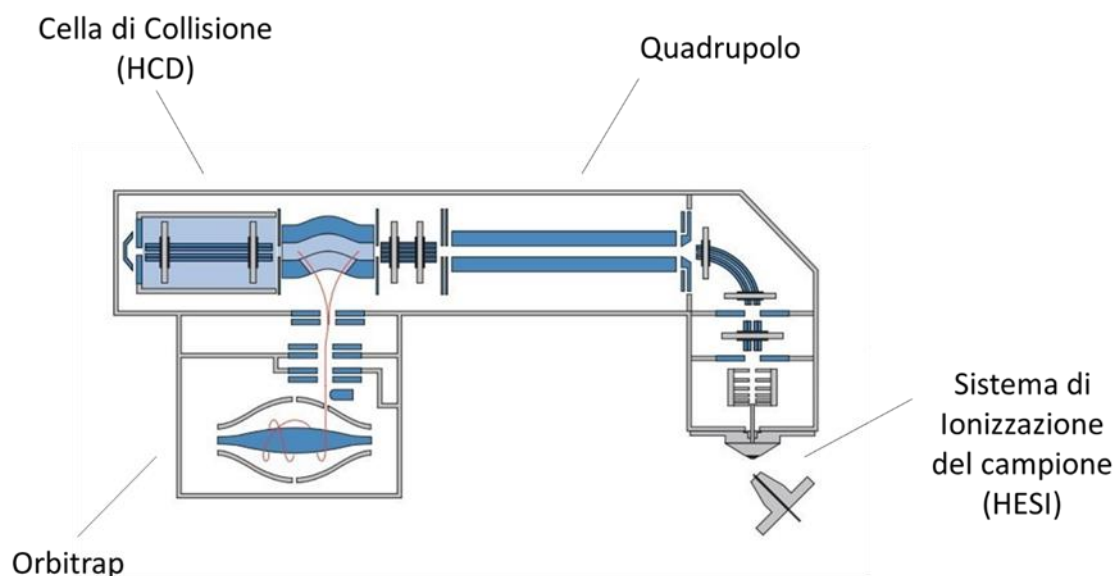


Dopo la desolvatazione e frammentazione della molecola ad opera di un sistema di ionizzazione a caldo (HESI), i frammenti con una determinata m/z entrano all'interno di questo spazio fisico che rappresenta una particolare tipologia di trappola ionica, ed iniziano a oscillare intorno all'asse z , in virtù di un campo elettrico applicato.

La presenza di questi due elementi differenti, compresa una cella di collisione chiamata HCD, che dà la possibilità di frammentare nuovamente gli ioni generati nel sistema di ionizzazione iniziale (figura 16), eseguendo una così detta analisi massa – massa (MS/MS), mette lo strumento nella condizione di operare in differenti modalità, target, untarget.

Figura 16. Schema generale di un sistema Q Exactive Focus Orbitrap

[Fonte: <https://www.creative-proteomics.com>]



CAPITOLO 4

Aspetti legali dei controlli tossicologici forensi a fronte della mancata ricerca e identificazione delle NPS.

L'attualità d'uso di una o più sostanze stupefacenti o psicotrope, determinata tramite gli accertamenti su sangue/siero e fluido orale, viene utilizzata per finalità forensi nella contestazione dell'articolo 187 del C.d.S.⁷³ (guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).

La Legge 23 marzo 2016, n. 41⁷⁴, introduce il reato di omicidio stradale e quello di lesioni personali stradali gravi e gravissime, rispettivamente con gli articoli 589 bis c.p. e 590 bis c.p., dove la violazione dell'articolo 187 del C.d.S.⁷⁵ corrisponde ad una circostanza aggravante ed un conseguente aumento di pena detentiva.

Le nuove linee guida per i controlli su strada in materia di verifica delle condizioni psico-fisiche dei conducenti (applicazione degli art. 186 e 187 del C.d.S.)⁷⁶, indicano che venga effettuato un test non invasivo di screening su matrice salivare (test di primo livello), informando contestualmente la persona sottoposta ad accertamento, sulle modalità e sulle fasi di svolgimento del controllo. In caso di rifiuto, il soggetto sottoposto ad accertamento verrà perseguito secondo il comma 8 dell'articolo 187 del C.d.S.

⁷³ «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).»

⁷⁴ «LEGGE 23 marzo 2016, n. 41 Introduzione del reato di omicidio stradale e del reato di lesioni personali stradali, nonché disposizioni di coordinamento al decreto legislativo 30 aprile 1992, n. 285, e al decreto legislativo 28 agosto 2000, n. 274. (16G00048) (GU Serie Generale n.70 del 24-03-2016)».

⁷⁵ «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).»

⁷⁶ «nuove linee guida per i controlli su strada in materia di verifica delle condizioni psico-fisiche dei conducenti (applicazione degli artt. 186 e 187 del C.d.S.).»

Se il conducente risulta positivo al test di screening, si applica una specifica procedura che prevede il prelievo di altri due campioni salivari per le analisi di conferma, e la visita da parte del personale medico di supporto, nominato all'inizio di ogni servizio “ausiliare di polizia giudiziaria” (ai sensi dell’art. 348 comma 4 c.c.p.), per accertare la condizione psicofisica, riportando i dati su una specifica scheda anamnestica⁷⁷.

Solo nel caso in cui venga accertato lo stato di alterazione psico-fisico associato all’uso dello stupefacente, la Polizia può effettuare il ritiro cautelare della patente di guida. In caso di positività ma in assenza dello stato di alterazione, la Polizia segnala il conducente alla Commissione Medica Locale, per eventuali valutazioni sul titolo abilitativo.

Se il conducente risulta negativo al test ma in evidente stato di alterazione psicofisica, viene comunque effettuato il campionamento per le analisi di conferma, per verificare la presenza di eventuali sostanze non rilevate dal test. In questo caso le Forze dell’ordine non possono però eseguire il ritiro cautelare della patente di guida.

È importante precisare che con lo screening salivare vengono ricercate le sostanze d’abuso cosiddette “classiche” di uso più comune, quindi se lo stato di alterazione è causato da assunzione di NPS il test risulterà negativo.

Nei casi che prevedono il prelievo dei due campioni di saliva, dopo aver redatto un verbale di accertamento urgente di cui all’articolo 354 c.p.p., il conducente viene preventivamente informato della possibilità di farsi assistere da un legale, senza che questo comporti un ritardo nei tempi e modalità di svolgimento delle analisi.

⁷⁷ «nuove linee guida per i controlli su strada in materia di verifica delle condizioni psico-fisiche dei conducenti (applicazione degli artt. 186 e 187 del C.d.S.)».

Prima del prelievo il medico illustra il protocollo di campionamento, che include la controfirma dell'interessato su entrambi i contenitori una volta terminata la procedura. Anche in questo caso, il rifiuto del conducente a sottoporsi al campionamento, viene perseguito secondo il comma 8 dell'articolo 187 del C.d.S.

Su uno dei due campioni vengono effettuate le analisi di conferma, eseguite in loco solo se è presente un laboratorio mobile della Polizia di Stato, altrimenti viene spedito presso il Centro Ricerche di Laboratorio e Tossicologia Forense della Polizia di Stato di Roma, o presso dei laboratori convenzionati con la Direzione Centrale di Sanità.

Se le analisi di conferma risultano positive e venga verificato dal personale medico uno stato di alterazione psicofisica compatibile con l'uso di sostanze stupefacenti o psicotrope, viene identificato ed eletto il domicilio del conducente e vengono redatti gli atti per la denuncia ai sensi dell'articolo 187 del C.d.S. con il conseguente ritiro della patente. Se il test di conferma risulta positivo ma non viene verificato lo stato di alterazione da parte del personale medico, viene informato l'Ufficio competente della Motorizzazione per verificare il titolo abilitativo.

In questo caso, il conducente potrà mantenere valida la propria licenza di guida fino all'eventuale esito positivo degli accertamenti di secondo livello.

Il controcampione o campione di revisione, viene mantenuto sigillato, identificato con un codice a barre o alfanumerico applicato anche al verbale di prelievo in catena di custodia, e custodito nel caso vi sia la richiesta di una eventuale analisi di revisione nelle modalità dettate dall'Autorità Giudiziaria.

La conservazione sarà almeno di 90 giorni dalla data del prelievo, salvo diverse disposizioni.

Anche nel caso delle analisi di conferma in spettrometria di massa su matrice salivare è necessario possedere il giusto know-how che permetta una ricerca a largo spettro delle NPS.

Il laboratorio che esegue questo tipo di accertamenti dovrebbe essere dotato di un metodo analitico in LC-MS/MS per la ricerca delle NPS, che possa essere aggiornato costantemente.

L'analisi tossicologica su matrice urinaria, che permette accertamenti a medio termine, viene utilizzata invece per gli accertamenti clinici provenienti dai Pronto Soccorso e nell'ambito delle terapie di disassuefazione dalle sostanze stupefacenti secondo il titolo XI del DPR 309/90 e smi⁷⁸.

Questa matrice è utilizzata per finalità medico-legale negli accertamenti tossicologici richiesti per le idoneità alla guida a seguito della contestazione dell'articolo 187 del C.d.S.⁷⁹, in applicazione degli articoli 128 e 218 del C.d.S.^{80 81}, da parte delle Commissioni Mediche Locali. Per il rilascio del porto d'armi⁸², invece non c'è un riferimento legislativo che indichi quali siano le sostanze da ricercare in matrice biologica. La Commissione Medica Locale generalmente si affida a quanto riportato nella normativa relativa alla sorveglianza sanitaria secondo gli articoli 25 e 41 comma 4 del D.Lgs.

⁷⁸ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

⁷⁹ «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti)».

⁸⁰ «Art. 128. Revisione della patente di guida.»

⁸¹ «Art. 218. Sanzione accessoria della sospensione della patente.»

⁸² «DECRETO LEGISLATIVO 10 agosto 2018, n. 104 Attuazione della direttiva (UE) 2017/853 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 17 maggio 2017, che modifica la direttiva 91/477/CEE del Consiglio, relativa al controllo dell'acquisizione e della detenzione di armi. (18G00127) (GU Serie Generale n.209 del 08-09-2018)».

81/2008⁸³ per i lavoratori che svolgono mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute dei terzi.

Per i lavoratori che svolgono mansioni a rischio, nel documento approvato nella seduta del 18 settembre 2008 dalla Conferenza Permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e Bolzano dal titolo "Procedure per gli accertamenti sanitari di assenza di tossicodipendenza o di assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope in lavoratori addetti a mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi"⁸⁴ applicative del provvedimento n. 99/cu 30 ottobre 2007 (Gazzetta Ufficiale n. 266 del 15 novembre 2007)⁸⁵, vengono riportate le tabelle che identificano le sostanze stupefacenti e psicotrope da sottoporre ad indagine in matrice urinaria e in matrice cheratinica, in ottemperanza del D.Lgs. 81/2008⁸⁶.

Le sostanze e le classi di sostanze d'abuso tabellate, sia per gli accertamenti di primo livello che quelli di secondo livello, sono quelle di uso più comune (figura 17).

⁸³ Giugno, «D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106 TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO».

⁸⁴ «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008».

⁸⁵ «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008».

⁸⁶ Giugno, «D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106 TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO».

Figura 17. Classi di sostanze ricercate nelle analisi di screening (in alto) e nelle analisi di conferma (in basso) in matrice urinaria con i relativi valori di cut-off⁸⁷.

TABELLA I: Concentrazione soglia (cut-off) nei test iniziali per la positività delle classi di sostanze nelle urine

CLASSE DI SOSTANZA	CONCENTRAZIONE
OPPIACEI METABOLITI	300 ng/ml
COCAINA METABOLITI	300 ng/ml
CANNABINOIDI (THC)	50 ng/ml
AMFETAMINA, METANFETAMINA	500 ng/ml
MDMA	500 ng/ml
METADONE	300 ng/ml

⁸⁷ «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008».

TABELLA 2: Concentrazione soglia (cut-off) nei test di conferma per la positività delle classi di sostanze nelle urine

CLASSE DI SOSTANZA	CONCENTRAZIONE URINE
OPPIACEI METABOLITI (morfina, codeina, 6-acetilmorfina)	100 ng/ml
COCAINA E METABOLITI	100 ng/ml
CANNABINOIDI METABOLITI	15 ng/ml
METADONE	100 ng/ml
AMFETAMINE ED ANALOGHI	
Amfetamina	250 ng/ml
Metamfetamina	250 ng/ml
MDMA-MDA-MDEA	250 ng/ml
BUPRENORFINA	5 ng/ml

Come è possibile osservare non sono presenti classi di sostanze appartenenti alle NPS.

In caso di positività del test di screening (primo livello), viene effettuata l'analisi di conferma in spettrometria di massa (secondo livello).

In “presenza di comportamenti o sintomi suggestivi di uso di sostanze non rilevabili con test di primo livello”⁸⁸, in attesa dello svolgimento delle analisi di conferma, vengono preventivamente applicate le stesse misure indicate in caso di positività al test di primo livello.

Nelle analisi di conferma, nel caso venisse riscontrata la presenza di una sostanza inclusa nelle tabelle del D.P.R. 309/90⁸⁹, ma non presente nelle tabelle di riferimento riportate in figura 16, rimane comunque complesso valutare una positività in assenza di un valore di cut-off.

⁸⁸ «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008».

⁸⁹ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

La richiesta di una analisi tossicologica sulla matrice cheratinica è legata soprattutto alla possibilità di incrementare la finestra temporale di rilevabilità di una determinata sostanza. (capitolo 3).

Valutata come matrice alternativa, è ora utilizzata nella routine dalle Commissioni Mediche Locali, nei protocolli per l'accertamento dell'idoneità alla guida a seguito della contestazione dell'articolo 187 del C.d.S.⁹⁰, in maniera complementare alle urine.

Come per la matrice urinaria, le Commissioni Mediche Locali hanno piena discrezione nella scelta degli analiti, ma anche in questo caso si affidano a quanto riportato nella normativa relativa alla sorveglianza sanitaria secondo gli articoli 25 e 41 comma 4 del D.Lgs. 81/2008, per i lavoratori che svolgono mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute dei terzi.

Allo stesso modo delle urine, le sostanze e le classi di sostanze d'abuso tabellate nel documento "Procedure per gli accertamenti sanitari di assenza di tossicodipendenza o di assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope in lavoratori addetti a mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi"⁹¹ applicative del provvedimento n. 99/cu 30 ottobre 2007 (Gazzetta Ufficiale n. 266 del 15 novembre 2007)⁹², sono quelle di uso più comune (figura 18), e non vengono contemplate le NPS.

⁹⁰ «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).»

⁹¹ «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008».

⁹² «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008».

Figura 18. Classi di sostanze ricercate nelle analisi di conferma su matrice cheratinica con i relativi valori di cut-off.

TABELLA 3: Concentrazione soglia (cut-off) nei test su matrice pilifera

CLASSE DI SOSTANZA	CONCENTRAZIONE CAPELLI
OPPIACEI METABOLITI (morfina, codeina, 6-acetilmorfina)	0,2 ng/mg
COCAINA E METABOLITI	0,2 ng/mg 0,05 ng/mg (Benzoilecgonina)
CANNABINOIDI METABOLITI	0,1 ng/mg
METADONE	0,2 ng/mg
AMFETAMINE ED ANALOGHI	
Amfetamina	0,2 ng/mg
Metamfetamina	0,2 ng/mg
MDMA-MDA-MDEA	0,2 ng/mg
BUPRENORFINA	0,05 ng/mg

In conclusione, in mancanza di una richiesta legislativa formale, i pannelli di analisi negli screening di primo livello presenti in commercio, sono limitati alle sostanze più comuni in cui non rientrano le NPS. Questo limite è dovuto verosimilmente, ad una questione di opportunità economica delle aziende produttrici rispetto alla scarsa richiesta del mercato.

È altresì evidente che la produzione di anticorpi può richiedere più tempo della “vita” di una specifica NPS sul mercato⁹³.

Per questi motivi, i metodi immunoenzimatici applicati alle matrici salivari, urinarie e cheratiniche, non sono strumenti validi per la ricerca delle nuove sostanze psicoattive.

Le tecniche analitiche di secondo livello, seppur dotate di flessibilità, sensibilità e selettività, elementi favorevoli alla determinazione delle NPS,

⁹³ Graziano et al., «Screening Methods for Rapid Determination of New Psychoactive Substances (NPS) in Conventional and Non-Conventional Biological Matrices».

presentano alcuni fattori limitanti. In molti casi non si conoscono gli spettri di massa delle nuove sostanze da ricercare, e risulta necessario acquistare degli standard certificati per individuarle.

Come rappresentato in precedenza, per alcune matrici in particolare le urine, è necessario conoscere anche i metaboliti delle nuove sostanze, che spesso non si conoscono o sono comuni tra le molecole di una stessa classe.

Nel caso degli oppioidi sintetici appartenenti alla classe dei fentanil, la 4-anilino piperidina (4-ANPP) è il metabolita dello stesso fentanil, ma anche dell'acriloilfentanil e di molti altri analoghi strutturali⁹⁴. In matrice urinaria quindi determinare la sola presenza di 4-ANPP non permette di risalire alla parent-drug che è stata assunta. Questo elemento diventa determinante perché il fentanil è un farmaco anestetico utilizzato a scopo terapeutico e sotto controllo medico, mentre acrililfentanil è un oppioide che viene venduto nel mercato clandestino delle NPS.

Utilizzando la cromatografia abbinata alla spettrometria di massa, risulta essenziale valutare anche la purificazione del campione, necessaria per evitare il cosiddetto “effetto matrice”, che attenua la sensibilità strumentale.

In considerazione della necessità di aggiornare e/o validare metodi in spettrometria di massa che includano anche le NPS, anche se dal punto di vista legislativo non venga ufficialmente richiesto, risulta complesso e dispendioso sia in termini economici che di tempo; ma risulta fondamentale.

⁹⁴ Wilde et al., «Metabolic Pathways and Potencies of New Fentanyl Analogs».

CAPITOLO 5

Gli accertamenti tossicologici su capello e le potenzialità di questa matrice nel valutare il consumo delle NPS.

Gli accertamenti tossicologici su matrice cheratinica, come già riportato nel capitolo 3, sono legati alla possibilità di incrementare la finestra temporale di rilevabilità di una determinata sostanza.

La Society of Hair Testing (SoHT), società scientifica internazionale che si occupa degli accertamenti su matrice cheratinica, ribadisce nelle sue linee guida aggiornate al 2021, la centralità del capello per questo tipo di analisi⁹⁵.

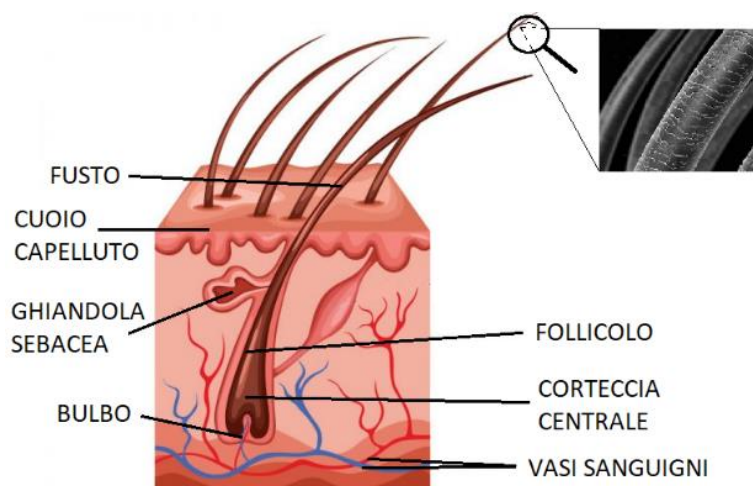
In particolare, gli accertamenti eseguiti sui capelli provenienti dal vertice posteriore del capo (capitolo 3), sono in grado di restituire informazioni puntuali sul trend di consumo della sostanza assunta.

Il capello è costituito da cheratina per il 65-85%, da lipidi per 1-9%, e per il 15 - 35% da acqua.

Le parti che compongono il capello sono: una corteccia centrale ricoperta da una cuticola esterna ed un follicolo a triangolo collegato con una ghiandola sebacea e apocrina (sudoripara); la parte che si sviluppa sotto la cute termina in un bulbo a contatto con una zona altamente vascolarizzata, in grado di cedere nutrimento e favorendone la crescita (figura 19).

⁹⁵ «2021 SoHT CONSENSUS ON DRUGS OF ABUSE (DOA) TESTING IN HAIR Consensus revision – presented in Santiago September, 17th 2021 after expert meeting in Sevilla Feb 7-8th, 2020, and on-line meeting in June 29th, 2020».

Figura 19. Struttura anatomica del capello.



Il capello alterna fasi di crescita dette anagen comprese tra i 2 e 7 anni, a fasi di quiescenza dette catagen della durata di 2 settimane e telogen della durata di 3-4 mesi⁹⁶.

- Non si ha ancora la certezza di come il capello incorpori le sostanze esogene nella fase anagen; le ipotesi scientificamente condivise sono le seguenti:
- attraverso la matrice ematica che scorre nei vasi sanguigni e porta nutrimento al bulbo;
- attraverso il contatto con il sebo e il sudore, matrici di escrezione delle sostanze d'abuso;
- attraverso una costante esposizione passiva del capello alle sostanze d'abuso.

⁹⁶ «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

Se ci si riferisce alle sostanze stupefacenti, quest'ultima via di incorporazione è plausibilmente caratteristica degli "addetti ai lavori", ovvero soggetti che sono esposti allo stupefacente per scopi illeciti⁹⁷.

Il colore naturale dei capelli (o tenore di melanina) è una variabile che influisce su questo processo, e di cui bisognerebbe tenere conto nelle analisi della matrice cheratinica. Considerando le caratteristiche chimico-fisiche della sostanza indagata, capelli di diverso colore incorporano in maniera differente. Le sostanze alcaline come eroina e cocaina ad esempio, tendono ad accumularsi maggiormente nei capelli neri rispetto ai soggetti biondi⁹⁸.

Una persona adulta ha mediamente l'85% dei capelli in fase anagen, con dei ritmi crescita che variano tra 0,60 cm e 1,42 cm⁹⁹ al mese, rispetto all'area della testa considerata.

È confermato dalla letteratura scientifica internazionale, che i capelli presenti nel vertice posteriore della testa danno maggiori garanzie di uniformità di crescita per due ragioni fondamentali:

- si trovano prevalentemente nella fase anagen;
- le differenze sesso - età correlate¹⁰⁰ risultano minori.

Il tasso di crescita in quella zona è stimato in circa 1 cm al mese¹⁰¹, con un intervallo temporale che è funzione della lunghezza della ciocca prelevata.

Il dato di concentrazione è quindi di tipo quantitativo, perché incluso in un intervallo di tempo definito.

La ciocca prelevata, può essere suddivisa e analizzata nei singoli segmenti, per poter valutare intervalli di tempo circoscritti.

⁹⁷ Kintz, «Hair Analysis in Forensic Toxicology».

⁹⁸ Kelly et al., «Hair Analysis for Drugs of Abuse.»

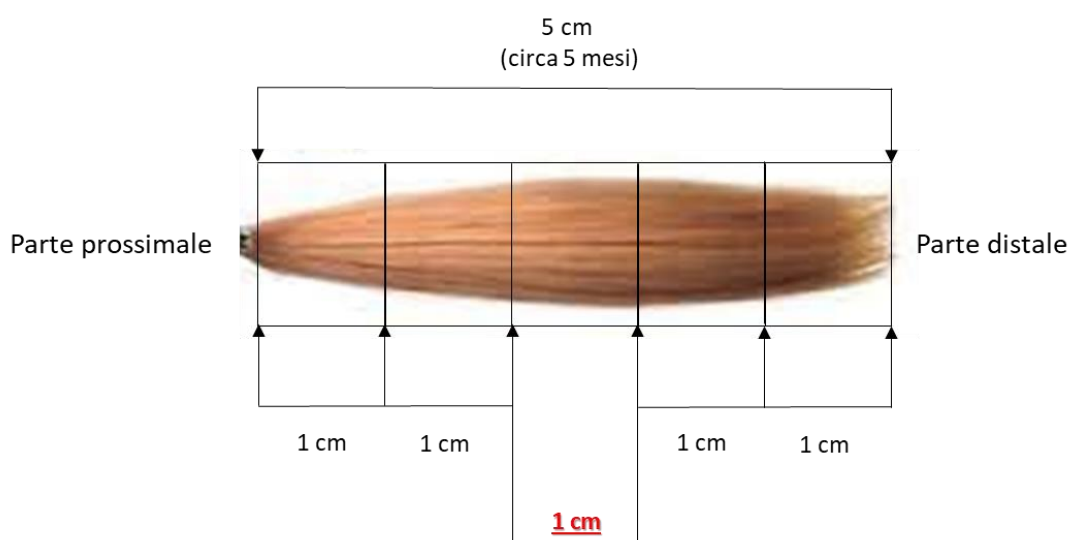
⁹⁹ Kintz, «Hair Analysis in Forensic Toxicology».

¹⁰⁰ Kintz.

¹⁰¹ Kintz.

L'analisi tossicologica su singolo segmento permette di valutare in maniera approssimata il trend di consumo relativo a quel periodo (figura 20).

Figura.20 Esempio di analisi segmentale del capello. Il segmento evidenziato in rosso, rappresenta approssimativamente il terzo mese antecedente al campionamento.



Nell'ultimo decennio questo tipo di accertamento è stato utilizzato anche in termini probatori, per dimostrare la somministrazione di farmaci o sostanze stupefacenti in grado di obnubilare la coscienza della vittima, favorendo i reati di natura sessuale ¹⁰² ¹⁰³, anche dopo mesi dall'evento delittuoso.

La matrice pilifera d'elezione per le analisi delle sostanze stupefacenti è rappresentata dai capelli, tuttavia, quando il loro prelievo non è possibile (ad

¹⁰² Johansen e Dahl-Sørensen, «A Drug Rape Case Involving Triazolam Detected in Hair and Urine».

¹⁰³ Busardo et al., «Correlation between Blood and Oral Fluid Psychoactive Drug Concentrations and Cognitive Impairment in Driving under the Influence of Drugs».

esempio calvizie, rasatura) si può ricorrere a siti di prelievo alternativi come il torace, il pube, le ascelle o il viso (peli della barba).

La raccolta dei campioni in parti intime del corpo richiede una attenta valutazione del rispetto della privacy del soggetto sottoposto al controllo, garantendo tuttavia che non venga compromessa la correttezza del processo di prelievo. Inoltre la velocità di crescita dei peli prelevati in queste zone del corpo sono differenti dalla velocità di crescita dei capelli.

Pertanto, sono in grado di fornire informazioni in una finestra temporale molto ampia e poco definita, compresa tra i 9-18 mesi¹⁰⁴ se il pelo non è stato tagliato.

Questa variabilità restituisce un dato analitico di tipo qualitativo, che permette di constatare l'uso pregresso ma non la cronologia di assunzione.

Nelle linee guida della SoHT¹⁰⁵ aggiornate al 2021, vengono riportati i valori in conferma dei cut-off per sostanza o classe di sostanze, applicabili solo ai capelli e non alle altre matrici cheratiniche (figura 21).

Questi valori sono coerenti con i valori presenti nelle linee guida del GTFI¹⁰⁶ ma con dei distinguo:

¹⁰⁴ «LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITA' TOSSICOLOGICO-FORENSI E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

¹⁰⁵ «2021 SoHT CONSENSUS ON DRUGS OF ABUSE (DOA) TESTING IN HAIR Consensus revision – presented in Santiago September, 17th 2021 after expert meeting in Sevilla Feb 7-8th, 2020, and on-line meeting in June 29th, 2020».

¹⁰⁶ «LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITA' TOSSICOLOGICO-FORENSI E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

- I cut-off possono essere applicati ad un segmento massimo pari a 3 cm, se applicati ad un segmento più lungo deve essere considerata una diluizione dell'estratto;
- Per i crimini coadiuvati dall'uso degli stupefacenti (drug facilitated crime) e nei casi di singola assunzione/esposizione, non può essere considerato il valore di cut-off, ma il LLOQ (basso limite di quantificazione) del metodo analitico strumentale;
- I metaboliti, essenziali per l'interpretazione del dato analitico, sono privi dei cut-off. Come riportato, i valori possono essere stabiliti in accordo con le attuali conoscenze scientifiche;
- Sono stati valutati i cut-off e inserite in tabella tre nuove molecole di interesse tossicologico: ketamina, ossicodone e tramadol.

Figura 21. Valori di cut-off riportati nelle linee guida SoHT del 2021.

Drug group Analyte	Cut-off pg/mg	Comments
Opiates group		
Morphine, Codeine, Dihydrocodeine	200	Heroin consumption must be differentiated from codeine or morphine use by the presence of 6-acetylmorphine and/or heroin
6-Monoacetylmorphine, Heroin	200	
Cocaine group		
Cocaine	500	The presence of benzoylecgonine, norcocaine , cocaethylene, hydroxyl-cocaines or hydroxy-benzoylecgonine must be considered to confirm use. For crack cocaine use, anhydroecgoninemethylester must be considered
Amphetamine group		
MDMA, MDEA, MDA, methamphetamine, amphetamine	200	
Canabinoids		
THC	50	Detection of THC-COOH strongly supports THC use/intake (*)
CBD	50	
Opioids group		
Tramadol	200	Confirmation of desmethyltramadol definitively proves the use of tramadol
Oxycodone	100	
Methadone		
Methadone	200	Confirmation of EDDP definitively proves the use of methadone
Buprenorphine		
Buprenorphine	10	Confirmation of norbuprenorphine definitively proves the use of buprenorphine
Ketamine		
Ketamine	200	Confirmation of norketamine definitively proves the use of Ketamine

For metabolites, additional cut-offs can be established according to scientific knowledge

* For the confirmation of THC-COOH the minimum required LOQ is 0.2 pg/mg

Non vengono menzionate altre sostanze perché al momento della redazione di questo documento, la letteratura scientifica è insufficiente per stabilire valori soglia di eventuali altre sostanze.

Il capello è una matrice solida, il cui prelievo è non invasivo quindi di semplice esecuzione, ma che richiede maggiori attenzioni nelle fasi preliminari e di lavorazione del campione.

Negli accertamenti sulle matrici cheratiniche risultano fondamentali tre fasi preliminari: il campionamento, la decontaminazione e la digestione.

Le linee guida nazionali redatte dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e la Regione Lazio¹⁰⁷, quelle internazionali della SoHT e quelle europee della EWDTS (European guidelines for workplace drug and alcohol testing in hair), dedicano uno spazio importante a queste tre fasi.

Le linee guida nazionali dei GTFI¹⁰⁸ e dell'ISS¹⁰⁹ descrivono in maniera dettagliata la fase di campionamento ed il ruolo dell'operatore che effettua la procedura.

La persona autorizzata ad effettuare la raccolta del campione, ha il ruolo di spiegare la procedura al soggetto che si sottopone all'accertamento, eseguire il prelievo compilando un apposito verbale, far firmare il consenso informato e compilare le apposite sezioni del modulo della catena di custodia.

Il verbale di campionamento serve a raccogliere informazioni sul soggetto che si sottopone ad accertamento, in particolare su eventuali terapie farmacologiche o sostanze farmacologicamente attive assunte prima del

¹⁰⁷ «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

¹⁰⁸ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

¹⁰⁹ «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

prelievo, e trattamenti cosmetici effettuati su capello effettuati negli ultimi mesi.

I trattamenti chimici e/o fisici effettuati sui capelli (es. decolorazione, tintura, permanente, stiratura, esposizione ai raggi UV, ecc.), possono influire in modo determinante sul dato finale e quindi è necessario tenerne conto quando si andrà a valutare il risultato analitico¹¹⁰.

Nel consenso informato invece, la persona soggetta agli accertamenti dichiara di aver verificato che la procedura di campionamento sia stata effettuata secondo quanto scritto, e autorizza il laboratorio a svolgere le analisi atte alla ricerca delle sostanze stupefacenti e/o psicotrope, nonché a comunicare i risultati al richiedente o alla struttura che ha richiesto gli accertamenti.

Sia il verbale di campionamento che il consenso informato devono essere firmati dal soggetto sottoposto agli accertamenti analitici.

Il campione prelevato sia negli accertamenti con finalità cliniche che medico legali deve essere diviso in due aliquote, A e B (linee guida ISS, GTFI^{111 112}).

L'aliquota A, chiusa con sigilli antieffrazione e controfirmata dall'interessato al momento del prelievo, è quella su cui verranno effettuati gli accertamenti tossicologici.

¹¹⁰ «2021 SoHT CONSENSUS ON DRUGS OF ABUSE (DOA) TESTING IN HAIR Consensus revision – presented in Santiago September, 17th 2021 after expert meeting in Sevilla Feb 7-8th, 2020, and on-line meeting in June 29th, 2020».

¹¹¹ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità¹ dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

¹¹² «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

L'aliquota B, anche essa opportunamente sigillata e controfirmata, verrà conservata in caso di contenzioso se il richiedente intenderà effettuare delle analisi di revisione.

La catena di custodia serve a tracciare le due aliquote A e B, dal momento del prelievo fino al loro smaltimento finale^{113 114}.

Su di essa devono essere riportati i codici identificativi o i codici a barre corrispondenti a ciascuna aliquota; anche questo documento deve essere controfirmato dal soggetto sottoposto agli accertamenti analitici.

La corretta esecuzione della fase di campionamento con le garanzie date dalla tracciabilità del campione, sono aspetti indispensabili in ambito forense per dare attendibilità medico legale all'accertamento che viene eseguito¹¹⁵.

La decontaminazione e la digestione del campione sono altre due fasi critiche che ricadono negli aspetti tecnici della validazione del metodo analitico, ma fondamentali per l'attendibilità dei risultati.

La decontaminazione o lavaggio, serve a rimuovere ciò che è presente sulla superficie esterna della matrice cheratinica, e che potrebbe inficiare le analisi quali-quantitative dei principi attivi presenti all'interno del capello.

¹¹³ «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

¹¹⁴ «LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITA' TOSSICOLOGICO-FORENSI E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

¹¹⁵ «LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITA' TOSSICOLOGICO-FORENSI E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

La fonte di contaminazione è data:

- dalla parte lipidica naturale (sebacea) che porta ad un effetto matrice in grado di generare un aumento o una soppressione del segnale analitico.
- dalla sostanza oggetto di indagine a causa di una contaminazione esterna colposa o dolosa.

Nel primo caso, sebo e sudore possono contenere anche la sostanza indagata e i suoi metaboliti, ma a fronte di un suo uso recente. La mancata decontaminazione restituisce un risultato analitico parzialmente vero, ma relativo ad un trend di assunzione non riferibile alla lunghezza della ciocca analizzata.

Nel secondo caso, la contaminazione diretta dovuta ad un'esposizione passiva allo stupefacente, restituisce un dato analitico privo dei metaboliti e quindi non conforme a quanto richiesto da tutte le linee guida mondiali, al fine di decretare una positività.

Le raccomandazioni fornite nelle linee guida ISS¹¹⁶ in merito alla decontaminazione del capello, servono a ovviare una erronea valutazione del dato analitico dovuto a questi due fenomeni:

- è opportuno lavare i capelli con passaggi veloci, per evitare di estrarre una parte della sostanza inclusa nel capello;
- è opportuno effettuare dei lavaggi sia con solvente acquoso che con solvente organico, per essere certi di rimuovere contaminanti di diversa polarità;
- è opportuno analizzare le soluzioni di lavaggio per verificare l'efficienza del processo di lavaggio.

¹¹⁶ «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

La digestione è un processo che favorisce la solubilizzazione delle sostanze contenute nel capello verso un determinato solvente organico o acquoso.

L'estratto risultante può essere analizzato direttamente o potrebbe richiedere un processo di purificazione ulteriore.

La scelta di un opportuno solvente di digestione è determinante per ottenere un recupero soddisfacente della sostanza dalla matrice.

Se si utilizzano solventi acquosi tamponati ad un determinato pH, bisogna tener conto dei pKa delle sostanze che devono essere ricercate.

Se il capello contiene delle sostanze labili come cocaina e eroina, il contatto con solventi acquosi a pH acidi o alcalini ne determina l'idrolisi^{117 118}.

La digestione in solvente organico blando come metanolo o acetonitrile, non provoca i medesimi problemi ma tende a mantenere una scarsa efficienza estrattiva¹¹⁹.

In conclusione, gli accertamenti tossicologici sui capelli, sono in grado di fornire molte informazioni sul trend di consumo di un soggetto assuntore, anche se è richiesta l'applicazione di una procedura più complessa non scivola da criticità.

L'accertamento tossicologico a scopo clinico e medico legale eseguito su matrice cheratinica applicato ai casi illustrati nel capitolo 4, può essere

¹¹⁷ «2021 SoHT CONSENSUS ON DRUGS OF ABUSE (DOA) TESTING IN HAIR Consensus revision – presented in Santiago September, 17th 2021 after expert meeting in Sevilla Feb 7-8th, 2020, and on-line meeting in June 29th, 2020»,.

¹¹⁸ «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

¹¹⁹ «2021 SoHT CONSENSUS ON DRUGS OF ABUSE (DOA) TESTING IN HAIR Consensus revision – presented in Santiago September, 17th 2021 after expert meeting in Sevilla Feb 7-8th, 2020, and on-line meeting in June 29th, 2020»,.

implementato inserendo nei pannelli di base una rappresentanza delle NPS più significative.

Le NPS non sono presenti nelle tabelle dei cut-off, questa assenza è giustificata, come riportato in precedenza dalla mancanza di informazioni necessarie a stabilire dei valori soglia.

Nella maggior parte dei casi non si è a conoscenza neanche dei metaboliti principali di queste sostanze, questo crea in caso debba essere valutata una pregressa assunzione, l'impossibilità di utilizzare la matrice urinaria.

Nella matrice cheratinica, in cui la parent-drug rappresenta invece la forma predominante rispetto ai metaboliti, è possibile valutare l'esposizione alla sostanza in funzione di un limite di quantificazione strumentale (Low Limit of Detection – LLOQ).

La matrice cheratinica si rivela quindi la matrice di elezione per la determinazione delle NPS in un medio-ampio intervallo temporale.

Partendo da questa idea, è stato validato un metodo cromatografico abbinato alla spettrometria di massa, che ha le caratteristiche di uno test di screening, aggiornabile con nuove sostanze nei tempi che il mercato delle NPS impone.

CAPITOLO 6

Validazione di un metodo in LC-HRMS su capello e la sua applicazione su 100 campioni reali. Risultati e discussione.

Nel capitolo 3 sono state descritte le tecniche analitiche più utilizzate in tossicologia clinica e forense.

Le tecniche di screening immunoenzimatiche sono state associate alle analisi di primo livello, mentre le tecniche utilizzate per le analisi di conferma come la cromatografia abbinata alla spettrometria di massa, sono state associate alle analisi di secondo livello.

Una delle principali sfide che la maggior parte dei laboratori di tossicologia si trova ad affrontare è la ricerca di centinaia di xenobiotici e loro metaboliti in matrici biologiche, ciò è ulteriormente complicato dal costante aumento nel mercato di nuove sostanze di sintesi.

I laboratori di tossicologia hanno anche bisogno di controllare rapidamente la presenza di farmaci, di quantificare eventuali xenobiotici rilevati e avere accesso a dati analitici retrospettivi.

Inutile dire che tutte queste difficoltà analitiche devono essere affrontate riducendo al minimo il costo per campione (o per analisi).

Sebbene ciascuna delle sfide sopra menzionate possa essere affrontata per contesto e finalità differenti, è difficile affrontarle tutte con un unico approccio analitico.

Una metodica analitica che associa un'efficiente cromatografia liquida con una spettrometria di massa HRAM (massa accurata) ad alta risoluzione consente il rilevamento e una quantificazione di un ampio pannello di analiti

in un'unica analisi automatizzata, fornendo tempi di risposta rapidi per risultati affidabili.

In questa tesi, si sono voluti evidenziare i vantaggi che può portare l'utilizzo di una tecnologia ad alta risoluzione, applicata ad un'analisi di screening mirato per l'identificazione di più di 1.000 sostanze psicoattive in matrice cheratinica.

Ciò che si è voluto ottenere è quindi un metodo di screening, in grado di fornire una probabile positività, da confermare utilizzando sempre il medesimo strumento in alta risoluzione ma in una differente modalità di analisi, come suggerito nelle linee guida del Gruppo Tossicologi Forensi Italiani ¹²⁰.

Il metodo è stato applicato alla matrice cheratinica, perché come più volte ribadito, questo dà la possibilità di analizzare direttamente la parent-drug, piuttosto che i metaboliti, situazione ideale per gli accertamenti delle NPS.

Per valutare le prestazioni analitiche del metodo, sono stati testati dei campioni in matrice cheratinica di soggetti femminili al termine di una gravidanza.

Questi provengono da uno studio osservazionale prospettico condotto nel Nuevo Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca", Guadalajara, Jalisco, Messico tra novembre 2019 e gennaio 2020.

Tutte le donne che hanno ricevuto cure per il parto presso questa struttura ospedaliera e hanno accettato di partecipare firmando il consenso informato, sono state incluse nello studio.

¹²⁰ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

È stata condotta un'intervista per raccogliere alcuni aspetti sociodemografici e informazioni sul consumo di sostanze d'abuso, compreso tabacco e alcol.

Sono stati campionati 9 cm di capelli prossimali prelevati dalla parte posteriore della testa, per un peso di almeno 100 mg, tre-quattro settimane dopo il parto.

Al fine di garantire la privacy delle partecipanti, i dati riferibili a ciascun soggetto e i capelli raccolti sono stati codificati e il Comitato Etico della Ricerca Umana locale (CONBIOETICA-14-CEI-008-20161212) ha approvato il protocollo di studio.

Per comprendere l'importanza e i motivi per cui sia è stata scelta questa applicazione, è necessario ricordare che le sostanze psicotrope più utilizzate in gravidanza a livello mondiale, secondo uno studio del 2020¹²¹, sono risultate: nicotina, etanolo, marijuana e cocaina, mentre l'uso di amfetamine ed oppiacei è risultato meno comune¹²².

Tenendo conto di queste informazioni sui consumi di sostanze utilizzate in gravidanza, si dimostra quale possa essere l'utilità di effettuare uno studio a 360 gradi su soggetti che dovrebbero mantenere una condotta di vita in primis rispettosa della tutela della salute del nascituro e poi di sé stessi.

La possibilità di individuare un elevato numero di sostanze stupefacenti classiche, NPS e farmaci utilizzati impropriamente o come sostanze d'abuso, pone anche degli interrogativi di natura legale relativi alla potestà genitoriale.

In caso di un uso o misuse di sostanze, accertato dalle analisi in matrice cheratinica, è concreta l'esigenza di dover tutelare il minore dopo il parto, in caso in cui la genitrice possa perpetuare la propria condotta e determinare dei problemi di salute per la prole.

¹²¹ Tavella et al., «Prevalence of Illicit Drug Use During Pregnancy».

¹²² Mburu et al., «Determinants of Women's Drug Use During Pregnancy».

Questo metodo, sottoposto ad un processo di validazione prima di essere applicato su campioni reali, risulterebbe altrettanto efficace negli accertamenti tossicologici richiesti per le idoneità alla guida a seguito della contestazione dell'articolo 187 del C.d.S.¹²³, in applicazione degli articoli 128¹²⁴ e 218¹²⁵ del C.d.S., da parte delle Commissioni Mediche Locali, e negli accertamenti tossicologici necessari per il rilascio del porto d'armi¹²⁶.

Un'applicazione analogamente adeguata è quella dei controlli tossicologici per la sorveglianza sanitaria secondo gli articoli 25 e 41 comma 4 del D.Lgs. 81/2008¹²⁷, per i lavoratori che svolgono mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute dei terzi.

In letteratura sono già presenti lavori su matrice cheratinica che prevedono l'utilizzo di analisi "target" o "untarget" in spettrometria di massa ad alta risoluzione.

Questi lavori presentano delle complessità analitiche, strumentali e di interpretazione del dato, molto più elevate rispetto al metodo elaborato e validato in questo lavoro di tesi^{128 129 130}.

¹²³ «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).»

¹²⁴ «Art. 128. Revisione della patente di guida.»

¹²⁵ «Art. 218. Sanzione accessoria della sospensione della patente.»

¹²⁶ «DECRETO LEGISLATIVO 10 agosto 2018, n. 104 Attuazione della direttiva (UE) 2017/853 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 17 maggio 2017, che modifica la direttiva 91/477/CEE del Consiglio, relativa al controllo dell'acquisizione e della detenzione di armi. (18G00127) (GU Serie Generale n.209 del 08-09-2018).»

¹²⁷ Giugno, «D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106 TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO».

¹²⁸ Salomone et al., «Targeted and Untargeted Detection of Fentanyl Analogues and Their Metabolites in Hair by Means of UHPLC-QTOF-HRMS».

¹²⁹ Montesano et al., «Multi-Class Analysis of New Psychoactive Substances and Metabolites in Hair by Pressurized Liquid Extraction Coupled to HPLC-HRMS».

¹³⁰ Favretto et al., «High Performance Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry and Micropulverized Extraction for the Quantification of Amphetamines, Cocaine, Opioids, Benzodiazepines, Antidepressants and Hallucinogens in 2.5mg Hair Samples».

Inoltre se confrontato con i lavori sopracitati, emerge un aspetto interessante ancora non valutato, che è quello di avere la possibilità di aggiornare facilmente il metodo in itinere.

Brevemente verrà di seguito descritto il metodo analitico e la particolare tecnica ifenata ad alta risoluzione applicata.

La parte preanalitica del trattamento del campione è così stato sviluppato:

- campionamento della parte prossimale di lunghezza pari a 9 centimetri;
- decontaminazione del capello con metanolo e diclorometano e asciugatura a 37°C;
- sminuzzamento del capello, in segmenti compresi tra 2-3 mm;
- pesatura di 50 mg del campione;
- idrolisi del campione a 37°C per una notte, con una miscela formata da ammonio formiato 2mM, metanolo e acetonitrile;
- ultrasuoni e centrifugazione del campione per ottenere il surnatante privo di eventuali impurezze;
- concentrazione del campione fino alla metà del suo volume iniziale; iniezione di 10 µL del campione così ottenuto nello strumento.

Il sistema cromatografico abbinato all'alta risoluzione viene di seguito brevemente descritto.

Il metodo standardizzato per questo scopo, utilizza un sistema di cromatografia liquida ad altissime prestazioni (UHPLC) Thermo Scientific™ accoppiato a uno spettrometro di massa Thermo Scientific™ Q Exactive™. Una libreria spettrale in alta risoluzione archiviata nel database degli spettri di massa Thermo Scientific™ mzVault™ e il database dei composti corrispondenti sono completamente integrati e ricercabili utilizzando il

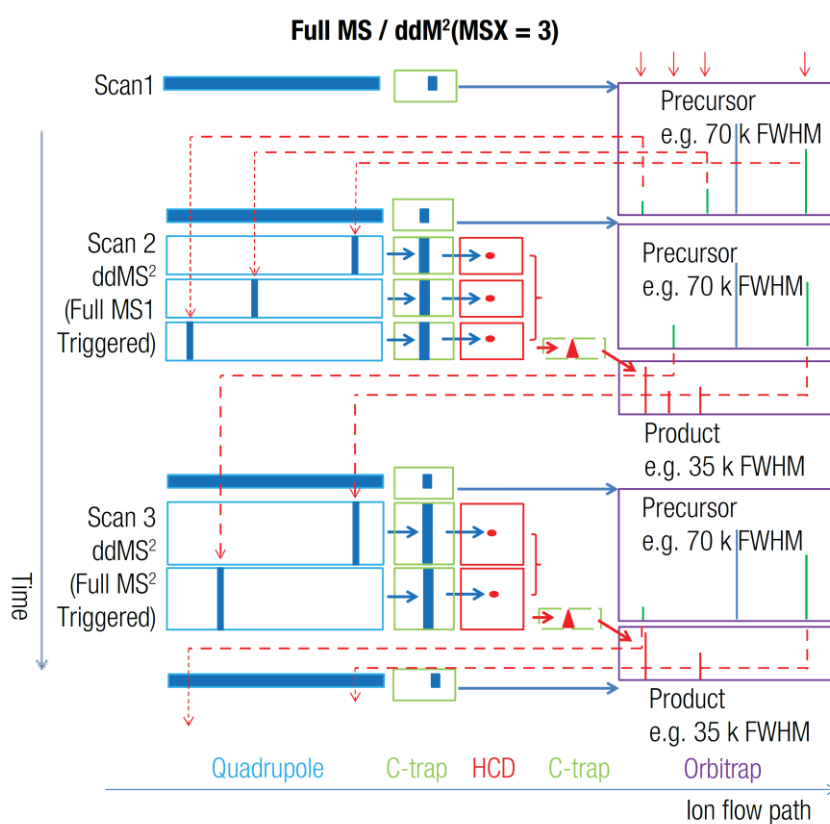
software Thermo Scientific™ TraceFinder™ per un'identificazione efficiente dei composti.

Come UHPLC (cromatografo liquido ad altissima prestazione) è stato utilizzato un Ultimate 3000, abbinato ad uno spettrometro di massa HRMS del tipo Q Exactive Focus Orbitrap di Thermo Scientific, Waltham, MA, USA.

La modalità operativa prescelta per l'acquisizione dei campioni di capelli in matrice cheratinica prende il nome di full-scan HRMS (FullMS)/data dependent MS/MS (ddMS2).

Questa modalità strumentale è riassunta schematicamente in figura 22.

Figura 22. Schema di funzionamento della modalità di acquisizione full-scan HRMS (FullMS)/data dependent MS/MS (ddMS2).



Dalla prima scansione (Scan 1), si ottiene uno spettro full scan a seguito di una frammentazione in elettrospray, ottenendo una risoluzione di 70k FWHM (larghezza del picco a metà altezza).

Se il sistema accerta la presenza degli ioni target HRMS, ioni quindi precursori con massa esatta (m/z esatta alla quinta cifra decimale), avviene la seconda scansione (Scan 2), dove vengono selezionati altri precursori a seguito di una seconda full scan (cosa che non avviene nel caso di specie), e simultaneamente vengono filtrati i precursori trovati nella Scan 1, frammentati nuovamente a tre differenti energie 17,5, 35,0, 52,5 V, ottenendo ioni prodotto ad una risoluzione pari a 17,5 k FWHM (rispetto ai 35k FWHM segnalati in figura).

L'acquisizione full-scan HRMS (FullMS)/data dependent MS/MS (ddMS2) associata all'utilizzo del software Tracefinder™, che tramite il database di spettri di massa integrato, la libreria di spettri di massa di oltre 1400 composti, i tempi di ritenzione, la corrispondenza dei modelli isotopici e le determinazioni della composizione elementare, fornisce gli elementi utili ad identificare e confermare farmaci e metaboliti nei campioni analizzati.

Le sostanze bersaglio su cui è stata effettuata la validazione del metodo sono droghe d'abuso classiche come anfetamine, cocainici, oppiacei, benzodiazepine, allucinogeni (es. LSD, dimetiltriptamina, psilocina e psilocibina, fenciclidina, mescalina), nuove sostanze psicoattive (es. cannabinoidi sintetici, catinoni sintetici, piperazine, triptamine fentanil e analoghi e nuovi oppioidi sintetici), nicotina e caffeina, prodotti farmaceutici inclusi antidolorifici, antistaminici, antidepressivi e prodotti farmaceutici per il trattamento di nausea e vomito, per malattie cardiache tra gli altri ¹³¹.

¹³¹ Marchei et al., «Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry and High-Sensitivity Gas Chromatography-Mass Spectrometry Screening of Classic Drugs and New Psychoactive Substances and Metabolites in Urine of Consumers».

La stessa aliquota di capelli sottoposta ad idrolisi è stata incubata a 95°C per 20 minuti con idrossido di sodio fino a completa digestione del campione, per essere successivamente estratta con una miscela organica per l'analisi dei cannabinoidi: Δ9-tetraidrocannabinolo (THC), acido 11-nor-Δ9-tetraidrocannabinol-9-carbossilico (THC-COOH), cannabinolo (CBN) e cannabidiolo (CBD), e analizzata con tecnica GC/MS ¹³².

Le performance del metodo qualitativo sono state studiate in termini di LOD (limite di Rivelabilità) e LOI (Limite di Identificazione). Questi due parametri sono stati stimati utilizzando un pool di capelli bianchi a cui sono state aggiunte tutte le sostanze a concentrazioni decrescenti (da 5 a 0,005 ng/mg di capelli). In Tabella 2 sono riportati gli analiti per cui sono stati testati questi parametri:

Tabella 2. Valori dei LOD e LOI, per le 58 sostanze di interesse selezionate

Analita	Rt (min)	[M+H]⁺ m/z target	LOD (ng/mg)	LOI (ng/mg)
2-Fluorodescloroketamina	3.13	222.1294	0.01	0.05
4-MEC	3.66	192.1383	0.02	0.05
5F-ADB	7.84	378.2179	0.05	0.10
5-fluoro-Cumil-Pegaclone	8.70	391.2186	0.05	0.10
5-fluoro-MDMB-PICA	8.63	377.2240	0.05	0.10
6-APB	3.76	176.1075	0.05	0.10
6-Monoacetilmorfina	3.37	328.1543	0.03	0.09

¹³² «Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e Roberta Pacifici - settembre 2013.»

AB-FUBINACA	6.84	369.1716	0.02	0.02
Acetil fentanyl	4.89	323.2118	0.05	0.05
Acetil norfentanyl	3.03	219.1488	0.05	0.05
ADB-FUBINACA	7.13	383.1883	0.02	0.02
Alprazolam	6.38	309.0902	0.03	0.10
Amfetamina	2.84	136.1121	0.05	0.05
Benzoyllecgonina	3.84	290.1387	0.05	0.05
Buprenorfina	5.72	468.3108	0.01	0.05
Butilone	3.52	222.1125	0.01	0.05
Cannabidiolo	8.64	315.2319	2.0	5.0
Cannabinolo	8.88	311.2006	2.0	5.0
Carfentanil	5.60	395.2329	0.05	0.05
Clobazam	6.52	301.0738	0.03	0.10
Cocaetilene	4.72	318.1704	0.05	0.05
Cocaina	4.25	304.1543	0.05	0.05
Codeina	2.88	300.1594	0.01	0.05
Cotinina	1.48	177.1028	0.05	0.10
Cumil-Pegaclone	8.27	373.2280	0.05	0.10
Dimetiltriptamina	3.41	189.1392	0.01	0.04
EDDP	5.61	278.1903	0.05	0.05
Etilamfetamina	3.38	164.1434	0.05	0.05
Etilone	3.27	222.1130	0.01	0.05
Eutilone	4.18	236.1287	0.01	0.05

Fentanyl	5.38	337.2279	0.05	0.05
Furanil fentanyl	5.73	375.2067	0.05	0.05
Isobutirril fentanyl	6.01	351.2426	0.05	0.05
Isotonitazene	6.02	411.2396	0.05	0.05
Ketamina	3.77	238.0993	0.01	0.05
MDA	3.24	180.1019	0.05	0.05
MDMA	3.31	194.1176	0.05	0.05
Mefedrone	3.37	178.1226	0.05	0.05
Mescalina	3.15	212.1281	0.05	0.10
Metadone	6.15	310.2165	0.05	0.05
Metamfetamina	3.20	150.1277	0.05	0.05
Metilone	2.97	208.0974	0.05	0.05
Morfina	1.91	286.1438	0.05	0.05
Nicotina	0.80	163.1229	0.05	0.10
Norbuprenorphine	4.81	414.2644	0.01	0.05
Nordiazepam	6.41	271.0633	0.02	0.06
Norfentanyl	3.77	233.1649	0.03	0.05
Norketamina	3.79	224.0837	0.01	0.05
Ocfentanil	5.19	371.2129	0.05	0.05
Oxazepam	6.11	287.0581	0.01	0.02
Ossicodone	3.21	316.1543	0.05	0.10
Paracetamolo	2.34	152.0706	0.03	0.05
Psilocina	2.52	205.1342	0.05	0.10

Psilocibina	0.58	285.0996	0.05	0.10
THC	9.02	315.2319	2.0	5.0
THC-COOH	8.26	345.2060	2.0	5.0
Tramadol	4.13	264.1958	0.02	0.05
Trazodone	4.95	372.1586	0.05	0.10
UR 144	9.07	312.2322	0.05	0.10

È stato valutato l'effetto matrice, ovvero il contributo combinato di tutto ciò che è presente nella matrice stessa escluso l'analita o gli analiti, che può modificare le caratteristiche chimico-fisiche delle sostanze che si devono analizzare portando ad un possibile errore per quanto riguarda l'analisi dal punto di vista quantitativo.

Questo parametro è stato determinato confrontando le aree dei picchi ottenuti fortificando dei campioni bianchi con la miscela delle sostanze (0,1 ng/mg) prima del processo di idrolisi, con quelli ottenuti iniettando la miscela contenente gli standard puri. Non sono stati riscontrati fenomeni significativi di soppressione o incremento del segnale dovuti all'effetto della matrice, in particolare la soppressione del segnale è risultata inferiore al 15%.

Il carry-over, definito come effetto di "trascinamento" o "effetto memoria", viene valutato attraverso l'analisi di un bianco a seguito dell'analisi di un campione ad elevata concentrazione di analita. Se il valore di concentrazione registrato nel bianco è inferiore a quello del LOD, il carry-over è accettabile¹³³. Iniettando un bianco, dopo aver iniettato una miscela

¹³³ «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a

alla concentrazione di 2 ng/mg, non sono stati riscontrati fenomeni di trascinamento.

È stata inoltre verificata l'assenza di interferenti di tipo endogeno ed esogeno, analizzando 20 campioni di capelli reali, privi delle sostanze di interesse. Infine sono state testate robustezza e affidabilità del metodo di screening analizzando 7 controlli esterni di qualità (da QC-A a QC-B), appartenenti al circuito italiano "NPS-LABVEQ".

Su 40 sostanze realmente presenti nei controlli di qualità analizzati (da QC-A a QC-B), l'accordo con le sostanze trovate è pari al 93,2%, ma che escludendo i cannabinoidi che non sono stati rilevati in HRMS, arriva al 100% (Tabella 2).

Tabella 2. Sostanze rilevate (+), non rilevate (nd) rilevate nei controlli di qualità (QC) testati.

Analitia	Concentrazione					Identificazione				
	(ng/mg)					in HRMS				
	QC-A	QC-B	QC-E	QF-F	Q-G	QC-A	QC-B	QC-E	QF-F	QF-G
Amfetamina					0.97					+
MDMA			1.11		1.38			+		+
MDA					0.81					+
Metamfetamina					0.95					+
THC	0.13		0.33		0.53	nd				nd
THC-COOH	0.015		0.0091		0.0022	nd				nd
Cannabinolo					0.60					nd
Cannabidiolo					0.53					nd
Benzoilecgonina	0.25				0.43	+				+
Cocaina	1.19				2.02	+				+

cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf».

Cocaetilene	0.12		0.81	+		+
Acetil fentanyl	0.15				+	
Acetil norfentanyl	0.15				+	
Carfentanil	0.22				+	
Fentanyl	0.16	0.87			+	+
Furanil fentanyl	0.12	1.30			+	+
Isobutirril fentatyl		0.45				+
Isotonitazene		0.77				+
Norfentanyl	0.11				+	
Ocfentanyl		0.68				+
6-monoacetilmorfina	1.80	1.12	1.78		+	+
Codeina	0.38	0.56	0.68		+	+
EDDP	0.15	0.35			+	+
Metadone	0.80	1.15	1.91		+	+
Morfina	0.29	0.95	1.49		+	+
Buprenorfina		0.17				+
Norbuprenorfina		0.17				+
6-APB	0.18				+	
5F-ADB	0.10	0.78			+	+
5-fluoro-Cumyl-Pegaclone		1.14				+
5-fluoro-MDMB-PICA		0.89				+
AB-FUBINACA	0.10	0.99			+	+
ADB-FUBINACA	0.11				+	
Cumil-Pegaclone	0.14				+	
Butilone	0.1				+	
Etilone		0.23				+
Eutilone		0.22				+
Mefedrone	0.1				+	
Mettilone	0.1				+	
2-Fluorodescloroketamina		0.56				+
ketamina		0.86	1.16		+	+
Norketamina		0.98	1.68		+	+

Clobazam	1.25	+
----------	------	---

QC-C e QC-D sono risultati correttamente negativi alle sostanze ricercate e quindi non riportati in tabella.

Questo metodo è risultato inadatto a testare il THC e il suo metabolita THC-COOH, verosimilmente per l'inefficienza del solvente di idrolisi e per la poca sensibilità strumentale nei confronti di queste due sostanze.

Per questo motivo i cannabinoidi sono stati analizzati in GC/MS, applicando un metodo analitico presente in letteratura¹³⁴.

Le 100 donne che hanno partecipato a questo studio erano tutte native messicane, con un'età media \pm deviazione standard di $24,1 \pm 6,3$ anni (età media: 23 anni). Circa la metà (47,0%) è risultata essere in possesso di un diploma di scuola secondaria di secondo grado e solo il 14% è risultata avere un lavoro. In Tabella 3 sono riportati gli esiti delle analisi di screening effettuate.

Tabella 3. Risultati dello screening tossicologico in matrice cheratinica.

Paziente	Sostanze
1	Etofillina
	Nicotina
2	Metoclopramide
3	-
4	Nimesulide
5	Etofillina

¹³⁴ Rotolo et al., «Hair Testing for Classic Drugs of Abuse to Monitor Cocaine Use Disorder in Patients Following Transcranial Magnetic Stimulation Protocol Treatment».

	Paracetamolo
	THC
	Amfetamina, Metamfetamina
6	Etofillina
	Nicotina, Cotinina
	4-Acetamidoantipirina 4-Aminopirina, Noramidopirina
	Aminopirina
7	Antipirina/Fenazone
	Paracetamolo
	Ketorolac
	THC
8	Paracetamolo
	Piroxicam
9	Nicotina
	Amfetamina, Metamfetamina
	Etofillina
10	Levamisolo
	Fenacetina
	BZE, Cocaina
	Nicotina, Cotinina
11	Paracetamolo
12	THC
	Paracetamolo
	Amfetamina, Metamfetamina
13	GABA
	Nicotina, Cotinina

14	-
15	-
16	Carbamazepina, Carbamazepina epossido Metformina Nicotina
17	6-Monoacetilmorfina, papaverina Paracetamolo Citalopram/Escitalopram Doxylamina Metoclopramide
18	Paracetamolo BZE, Cocaina
19	Paracetamolo
20	4-Aminoantipirina Paracetamolo Nicotina
21	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina Aminopirina
22	-
23	-
24	Paracetamolo Metoclopramide Nicotina
25	THC
26	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina

27	-
28	4-Acetamidoantipirina Aminoantipirina, 4-Aminoantipirina THC
29	-
30	Nicotina
31	-
32	-
33	Nicotina
34	Clorofeniramina Metoclopramide
35	-
36	4-aminoantipirina Metoclopramide Fexofenidina N,N-Dimethyltryptamine
37	Nimesulide
38	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina Paracetamolo BZE, Cocaina Destrometorfano, Dextrorphan/Levorphanol
39	Amphetamine, Metamfetamina Nicotina
40	Paracetamolo Nicotina

	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina
	EDDP, Metadone
	Fentanyl Nor-fentanyl
	Aloperidolo
41	Ipratropium
	Metoclopramide
	Metropololo
	Ondansetrone
	Papaverina
	BZE, Cocaina
42	Nicotina
	Nimesulide
43	-
44	-
45	Nicotina/Cotinina
46	Metoclopramide
47	-
	Ketamina, Norketamina
48	Paracetamolo
	Metamfetamina
	Benzidamina
49	Difenilidramina
	Metoclopramide
	Ketamina, Norketamina
50	Doxylamine
	Metoclopramide

51	Nicotina
52	Nicotina, Cotinina
53	4-Acetamidoantipirina Aminoantipirina, 4-Aminoantipirina Paracetamolo Destrometorfano Metoclopramide
54	-
55	-
56	4-Acetamidoantipirina Aminoantipirina, 4-Aminoantipirina Paracetamolo Metoclopramide Nimesulide Ondansetrone Nicotina
57	4-Acetamidoantipirina Aminoantipirina, 4-Aminoantipirina Paracetamolo
58	THC
59	Nicotina
60	Metoclopramide
61	Nicotina
62	Nicotina
63	Paracetamolo Clorofeniramina

	BZE, Cocaina Metamfetamina THC Nicotina
64	-
65	Paracetamolo Fenacetina Metamfetamina THC
66	Metamfetamina THC
67	Paracetamolo Metamfetamina THC Nicotina, Cotinina
68	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina Paracetamolo THC
69	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina Aminoantipirina Paracetamolo Isothipendyl Metoclopramide Nicotina
70	Paracetamolo Loratadine
71	Nicotina

72	4-Aminoantipirina Paracetamolo
73	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina Aminoantipirina Antipirina/Phenazone, Dropropizina Paracetamolo Nicotina
74	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina Aminoantipirina, Antipirina/Phenzone Paracetamolo Efedrina/Pseudoefedrina Omeoprazolo sulfone
75	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina Paracetamolo Benzidamina Difenilidramina Metamfetamina Metoclopramide Sertralina
76	4-Acetamidoantipirina Paracetamolo Nicotina
77	4-Aminoantipirina Paracetamolo
78	Paracetamolo

	Metamfetamina
79	-
	4-aminoantipirina, Noramidopirina
80	Paracetamolo Nicotina/Cotinina
81	Paracetamolo
82	Paracetamolo Nicotina
83	Paracetamolo BZE, Cocaina Destrometorfano Nicotina/Cotinina
84	Paracetamolo Carbamazepine, carbamazepine epoxyde Metamfetamina Nicotina
85	Dextrophan/levorphanol Loratadine Metformin
86	Paracetamolo Metamfetamina Nicotina
87	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina Aminopirine Paracetamolo Dropropizine Metamfetamina

	<i>Ondansetron</i>
	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina, Noramidopirina
	Antipirina/Phenazone
	Paracetamolo
88	Metamfetamina
	Metcatinone (Ephedrone)
	Metoclopramide
	Nicotina
	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina
	Etofylline
	Paracetamolo
89	Metamfetamina
	Metoclopramide
	Efedrina/Pseudoefedrina
	THC
	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina
	Paracetamolo
90	Piroxicam
	Metamfetamina
	Efedrina/Pseudoefedrina
	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina
	Paracetamolo
	Dextrophan/Levorphanol
91	Metamfetamina
	Metoclopramide
	<i>Ondansetron</i>
92	Fexofenidina

	Nimesulide
	4-Acetamidoantipirina, 4-Aminoantipirina
93	Etofylline Paracetamolo Doxylamine
94	-
95	-
96	Paracetamolo Clorofeniramina Metamfetamina THC
97	Paracetamolo Amphetamine, Metamfetamina, Ethylamphetamine BZE, Cocaina THC Nicotina
98	-
99	4-Aminoantipirina
100	-

Secondo le informazioni raccolte, solo 3 donne su 100 hanno dichiarato di aver fatto uso di sostanze stupefacenti durante la gravidanza.

Le dichiarazioni di queste 3 partecipanti sono state confermate analiticamente: la 67, risultata positiva ai cannabinoidi, e la 10 e la 97, entrambi positive alle metamfetamine.

29 campioni su 100 sono risultati positivi ad una o più sostanze, di cui la più diffusa si è rivelata la metamfetamina, che è stata identificata su 20 campioni. Di questi campioni, 4 contenevano anche amfetamina e altri 5 contenevano THC, ketamina, norketamina, e un catinone sintetico, l'efedrone. Sempre di questi 20, uno conteneva cocaina e THC, mentre un altro conteneva cocaina, THC, amfetamina ed etilamfetamina. I fitocannabinoidi, THC, THC-COOH, CBD e CBN sono stati ritrovati in 14 campioni. La cocaina e il suo metabolita, benzoilecgonina, è stata rilevata in 7 campioni di capelli. In un caso è stata rilevata la presenza della 6-monacetilmorfina, metabolita diretto e biomarcatore del consumo di eroina. In questo campione è stata rivelata anche la presenza di papaverina, sostanza presente nella pianta del papavero da oppio, ma non della morfina.

In un campione è stata rilevata la presenza del metadone insieme al fentanyl, e dei loro rispettivi metaboliti, EDDP e norfentanyl.

Questo studio ha permesso di riscontrare, a fronte del 3,0% delle donne che avevano dichiarato di aver fatto uso di sostanze psicotrope in gravidanza, il 29,0% di positività nei campioni di capelli analizzati. In questa coorte di donne in gravidanza, la sostanza più abusata è stata la metamfetamina (20%) seguita dalla marijuana (13%)

È stata riscontrata inoltre la presenza di altre sostanze con un'azione farmacologica antidolorifica di uso comune, come il paracetamolo in 43 casi, e di antinfiammatori non steroidei (FANS) di cui è stata riscontrata la presenza della parent-drug o dei loro metaboliti, come l'aminopirina (10 casi) e l'antipirina (4 casi). Tra le sostanze rilevate ci sono anche farmaci antistaminici e antiemetici, in grado di prevenire nausea e vomito.

Sulla nicotina è stata eseguita una stima semiquantitativa, ed è risultata presente in 32 campioni su 100, mentre le donne che avevano dichiarato di aver fumato in gravidanza erano solo il 4%. 27 campioni hanno un livello di

concentrazione di nicotina riconducibile ad una bassa esposizione (sotto i 3 ng/mg), 4 donne sono risultate mediamente esposte, con una concentrazione di nicotina tra i 3 e i 18 ng/mg, mentre solo 1 è risultato essere esposto in maniera massiccia, con una concentrazione superiore a 18 ng/mg ¹³⁵.

Tra le donne che hanno riferito di non aver fumato e di non essere state esposte al fumo di tabacco durante la gravidanza, il 15,7% aveva livelli misurabili di nicotina nei capelli.

¹³⁵ Pichini et al., «Assessment of Chronic Exposure to Cigarette Smoke and Its Change during Pregnancy by Segmental Analysis of Maternal Hair Nicotine».

CONCLUSIONI

GENERALI

Le Nuove Sostanze Psicoattive, dall'inglese “New Psychoactive Substances” o NPS, sono molecole di sintesi di cui si ha una conoscenza limitata, e per questo possono determinare un potenziale pericolo per la salute pubblica.

Il sistema di produzione e di diffusione delle NPS, è risultato essere un unicum nella storia delle sostanze d'abuso a livello mondiale.

A partire dai primi anni 2000 questo fenomeno ha preso sempre maggior vigore, protetto da leggi insufficienti e da un mercato globale caratterizzato da un e-commerce in totale ascesa, che ne ha permesso la diffusione su larga scala.

La singola sostanza era libera così di circolare fin tanto che era ritenuta legale, veniva tolta dal commercio quando tabellata, ma subito rimpiazzata con una nuova molecola.

Per molto tempo questo è stato il problema principale che ha interessato la propagazione del fenomeno, fin tanto che a livello Europeo si è deciso di agire su vari fronti sia Comunitari che Nazionali.

Il primo passo è stato quello di istituire un sistema di allerta precoce europeo per le sostanze stupefacenti e psicotrope (EWS), gestito dall'Osservatorio europeo EMCDDA ¹³⁶, in grado di scambiare informazioni sui nuovi fenomeni d'abuso compreso quello delle NPS.

¹³⁶ «What is the Early Warning Advisory?»

Prima l’Azione Comune 97/396/GAI¹³⁷ e poi la Decisione 2005/387/GAI¹³⁸ del Consiglio europeo, caratterizzate entrambe da un sistema a 3 fasi (scambio di informazioni, analisi del rischio e misure di controllo) hanno contribuito in maniera importante a contrastare il fenomeno delle NPS.

Nel corso del tempo sono state introdotte anche delle misure preventive, che in caso sospetto di gravi rischi per la salute, imponevano restrizioni al commercio della singola sostanza.

Questo sistema ha dato un buon feedback fintanto che la minaccia sociale e sanitaria non ha imposto alla Commissione e al Parlamento europeo di rafforzare le procedure esistenti, snellendo e accelerando la raccolta dei dati e le procedure di valutazione del rischio sostituendo la Decisione 2005/387/GAI con il Regolamento (UE) 2017/2101 e la Direttiva (UE) 2017/2103¹³⁹.

Questo ha permesso di arrivare a delle misure di controllo per una nuova sostanza in 12 mesi anziché 24 mesi, imponendo ai paesi membri di adeguare le proprie leggi entro 6 mesi.

In Italia la legge che si occupa di sostanze stupefacenti e il DPR n. 309 del 9 ottobre 1990: “Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli

¹³⁷ 97/396/JHA: Joint Action of 16 June 1997 adopted by the Council on the basis of Article K.3 of the Treaty on European Union, concerning the information exchange, risk assessment and the control of new synthetic drugs.

¹³⁸ Decisione 2005/387/GAI del Consiglio, del 10 maggio 2005, relativa allo scambio di informazioni, alla valutazione dei rischi e al controllo delle nuove sostanze psicoattive.

¹³⁹ Direttiva (UE) 2017/2103 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 novembre 2017, che modifica la decisione quadro 2004/757/GAI del Consiglio al fine di includere nuove sostanze psicoattive nella definizione di «stupefacenti» e che abroga la decisione 2005/387/GAI.

stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza”¹⁴⁰.

Nel contesto di questa legge, opera il sistema che si interessa a livello Nazionale di monitorare il fenomeno degli stupefacenti in Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce - SNAP ISS, gestito dal Dipartimento per le politiche antidroga (DPA) in cooperazione con il Centro Dipendenze e Doping dell’Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Il sistema SNAP svolge lo stesso ruolo che a livello Europeo svolge l’EWS.

In particolare, negli articoli 2, 13 e 14 del DPR 309/90 e s.m.i, vengono stabilite le procedure e i criteri di carattere generale per l’inserimento di nuove molecole nelle tabelle delle sostanze stupefacenti e psicotrope.

L’iter di tabellazione viene avviato e coordinato dal Ministero della Salute, coinvolge l’Istituto Superiore di Sanità e il Consiglio Superiore di Sanità, i quali elaborano e forniscono al Ministero distinti pareri tecnico-scientifici, che se favorevoli contribuiscono all’emanazione del decreto ministeriale di inserimento in tabella, e quindi all’applicazione delle misure di controllo.

Il Ministero delle Politiche Antidroga si occupa anche di recepire gli input internazionali raccolti attraverso l’EWS, che provengono dall’EMCDDA.

Sia il Sistema europeo che quello italiano è stato in grado nel tempo, di perfezionarsi e di reagire in modo attivo ai cambiamenti di un mercato complesso come quello delle NPS.

Il sistema di leggi europee e nazionali si è evoluto insieme al fenomeno in maniera piuttosto efficiente ed efficace.

Ciò che è rimasto del tutto carente e nella maggior parte dei casi totalmente insufficiente è l’aspetto analitico clinico e forense.

¹⁴⁰ «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309».

Se la legge viene aggiornata e permette di distinguere ciò che è considerato sostanza psicotropa e stupefacente, le realtà presenti sul territorio e che si occupano di tossicologia come le Commissioni Mediche Locali, i Servizi per le Dipendenze, i laboratori di analisi dei grandi ospedali e i Centri per la Medicina del Lavoro, non si sono rivelate altrettanto pronte nell'aggiornare le tecniche analitiche per la ricerca delle nuove sostanze.

Nelle loro indagini su matrice biologica effettuate nella routine, che comprendono le analisi di primo livello (screening) e di secondo livello (cromatografia abbinata alla spettrometria di massa), vengono ricercate le sostanze d'abuso classiche ma non le NPS.

Le motivazioni registrate sono in parte dovute a questioni amministrative, in tal caso sono i vertici delle istituzioni elencate in precedenza a non ritenere opportuno o economicamente giustificato effettuare anche la ricerca di nuove sostanze psicotrope, non essendo oltretutto presenti dei valori soglia nelle principali linee guida nazionali e internazionali.

Sono state registrate anche delle motivazioni di tipo tecnico, dovute ad un'arretratezza analitica e/o ad una mancanza di know-how legata ad a buona parte dei laboratori che effettuano questo tipo di indagini.

I danni verosimilmente causati dalla mancata identificazione di queste molecole sono riconducibili ad esempio alla mancata contestazione del reato in violazione dell'articolo 187 C.d.S¹⁴¹, ma anche al rilascio improprio di alcune licenze o idoneità che richiedono per legge degli accertamenti tossicologici.

¹⁴¹ «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).»

Tra queste ultime ci sono le idoneità alla guida a seguito della contestazione dell'articolo 187 del C.d.S.¹⁴², il rilascio dei porti d'armi¹⁴³ o i controlli in ottemperanza al D.Lgs. 81/2008¹⁴⁴.

Complessivamente tutto questo può comportare l'impossibilità di sostenere degli stati di alterazione psicofisica o di tossicodipendenza indotta dall'uso/abuso di nuove sostanze psicoattive, generando per i soggetti interessati ma anche per soggetti terzi, un serio pericolo per la salute.

La ricerca delle NPS è subordinata anche alla scelta della matrice biologica che si ha intenzione di analizzare.

Il sangue e la saliva danno la possibilità di stabilire l'attualità d'uso, sia nel caso delle sostanze classiche che per le NPS, dovendo ricercare direttamente il principio attivo.

Le urine coprono una finestra temporale a medio/lungo termine, ma in essa sono presenti in prevalenza i metaboliti della sostanza assunta, che risultano per lo più sconosciuti nel caso delle NPS.

Dovendo quindi riscontrare la presenza di NPS in un arco temporale più ampio, risulta quindi fondamentale l'uso della matrice cheratinica, che contiene in prevalenza il principio attivo rispetto ai metaboliti.

Quindi, la possibilità di accertare la presenza di psicotropi classici e delle nuove sostanze attraverso un metodo analitico unico su matrice cheratinica, risulta funzionale sia in ambito tossicologico clinico che forense.

¹⁴² «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).»

¹⁴³ «DECRETO LEGISLATIVO 10 agosto 2018, n. 104 Attuazione della direttiva (UE) 2017/853 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 17 maggio 2017, che modifica la direttiva 91/477/CEE del Consiglio, relativa al controllo dell'acquisizione e della detenzione di armi. (18G00127) (GU Serie Generale n.209 del 08-09-2018)».

¹⁴⁴ Giugno, «D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106 TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO».

Un metodo che abbia queste caratteristiche deve anche essere aggiornabile ogni qual volta si riversi sul mercato una nuova molecola, in modo da poterla identificare in maniera quasi immediata.

Per queste esigenze è stato validato un metodo di screening in cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa ad alta risoluzione, che avesse le caratteristiche richieste.

Tale metodo è stato applicato per le analisi della matrice cheratinica prelevata da un campione di 100 donne in stato di gravidanza.

Sono state confrontate le affermazioni rese dalle partecipanti con i risultati dello screening, per comprendere la veridicità delle loro affermazioni.

L'analisi dei risultati ha confermato che l'uso dei farmaci/sostanze psicotrope e stupefacenti era molto superiore a quello dichiarato, avvalorando la validità e l'importanza di questo test di screening.

Su due soggetti differenti è stata riscontrata la positività a due NPS, l'etilamfetamina e all'efedrone.

Due soggetti positivi alle NPS su 100 partecipanti è di sicuro un numero poco significativo se analizzato fuori del contesto, ma essendo una coorte di donne in gravidanza è lecito valutare il dato come molto preoccupante.

Questo lavoro è stato successivamente pubblicato su rivista impattata¹⁴⁵. In conclusione, aver validato un metodo di screening in grado di riscontrare la presenza di un ampio pannello di sostanze stupefacenti e psicotrope, ha permesso di valutare correttamente la condotta dei soggetti che si sono sottoposti a questo tipo di accertamenti.

È verosimile pensare che lo stesso studio applicato ad un contesto differente avrebbe portato ha dei risultati molti diversi in termini di positività,

¹⁴⁵ Marchei et al., «Assessment of Licit and Illicit Drugs Consumption during Pregnancy by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (UHPLC-HRMS) Target Screening in Mexican Women Hair».

facendo emergere un problema che sicuramente non ha delle proporzioni endemiche, ma che attualmente risulta decisamente sommerso.

Per questi motivi, la spinta per un upgrade strumentale e tecnico dovrebbe pervenire da quelle istituzioni che si occupano di accertare l'uso o l'abuso di sostanze stupefacenti e psicotrope;

istituzioni che verosimilmente non hanno ancora sviluppato la giusta sensibilità al problema delle NPS.

BIBLIOGRAFIA

- 97/396/JHA: Joint Action of 16 June 1997 adopted by the Council on the basis of Article K.3 of the Treaty on European Union, concerning the information exchange, risk assessment and the control of new synthetic drugs, 167 OJ L § (1997).
http://data.europa.eu/eli/joint_action/1997/396/oj/eng.
- «2021 SoHT CONSENSUS ON DRUGS OF ABUSE (DOA) TESTING IN HAIR Consensus revision – presented in Santiago September, 17th 2021 after expert meeting in Sevilla Feb 7-8th, 2020, and on-line meeting in June 29th, 2020», Consultato 17 febbraio 2022.
https://www.soh.org/images/pdf/Consensus_DoA_2021.pdf.
- «Art. 128. Revisione della patente di guida.», 24 gennaio 2017.
<http://www.aci.it/i-servizi/normative/codice-della-strada/titolo-iv-guida-dei-veicoli-e-conduzione-degli-animali/art-128-revisione-della-patente-di-guida.html>.
- «Art. 187 (Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti).» Consultato 1 febbraio 2022.
https://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaArticolo?art.versione=7&art.idGruppo=11&art.flagTipoArticolo=0&art.codiceRedazionale=092G0306&art.idArticolo=187&art.idSottoArticolo=1&art.idSottoArticolo1=10&art.dataPubblicazioneGazzetta=1992-05-18&art.progressivo=0.
- «Art. 218. Sanzione accessoria della sospensione della patente.», 11 luglio 2016.
<http://www.aci.it/i-servizi/normative/codice-della-strada/titolo-vi-degli-illeciti-previsti-dal-presente-codice-e-delle-relative-sanzioni/art-218-sanzione-accessoria-della-sospensione-della-patente.html>.
- Busardo, Francesco Paolo, Simona Pichini, Manuela Pellegrini, Angelo Montana, Alfredo Fabrizio Lo Faro, Simona Zaami, e Silvia Graziano. «Correlation between Blood and Oral Fluid Psychoactive Drug Concentrations and Cognitive Impairment in Driving under the Influence of Drugs». *Current Neuropharmacology* 16, n. 1 (14 dicembre 2017).
<https://doi.org/10.2174/1570159X15666170828162057>.
- Carfora, Anna, Carlo Pietro Campobasso, Paola Cassandro, Raffaella Petrella, e Renata Borriello. «Long-Term Detection in Hair of Zolpidem, Oxazepam and Flunitrazepam in a Case of Drug-Facilitated Sexual Assault». *Journal of Analytical Toxicology*, 12 novembre 2020, bkaa174.
<https://doi.org/10.1093/jat/bkaa174>.
- «Contributing to a healthier and more secure Europe | www.emcdda.europa.eu». Consultato 16 gennaio 2022.
https://www.emcdda.europa.eu/about/mission_en.

- «CONVENTION ON PSYCHOTROPIC SUBSTANCES , 1971». Consultato 17 gennaio 2022.
https://www.politicheantidroga.gov.it/media/1329/convention_1971_en.pdf.
- Decisione 2005/387/GAI del Consiglio, del 10 maggio 2005, relativa allo scambio di informazioni, alla valutazione dei rischi e al controllo delle nuove sostanze psicoattive, 127 OJ L § (2005).
<http://data.europa.eu/eli/dec/2005/387/oj/ita>.
- Decisione quadro 2004/757/GAI del Consiglio, del 25 ottobre 2004, riguardante la fissazione di norme minime relative agli elementi costitutivi dei reati e alle sanzioni applicabili in materia di traffico illecito di stupefacenti, 335 OJ L § (2004). http://data.europa.eu/eli/dec_framw/2004/757/oj/ita.
- «DECRETO DEL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA 9 ottobre 1990, n. 309». Consultato 17 gennaio 2022.
<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/1990/10/31/090G0363/sg>.
- «DECRETO LEGISLATIVO 10 agosto 2018, n. 104 Attuazione della direttiva (UE) 2017/853 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 17 maggio 2017, che modifica la direttiva 91/477/CEE del Consiglio, relativa al controllo dell'acquisizione e della detenzione di armi. (18G00127) (GU Serie Generale n.209 del 08-09-2018)». Consultato 7 febbraio 2022.
<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2018/09/08/18G00127/sg>.
- «DECRETO-LEGGE 20 marzo 2014, n. 36». Consultato 28 gennaio 2022.
<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2014/03/21/14G00047/sg%20>.
- Di Luca, Natale Mario, Francesco Paolo Busardò, Filippo Pirani, e Maria Rosaria Vari. «Evolution of Italian Laws Banning Trafficking, Use and Abuse of Psychotropic Drugs». *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita* 56, n. 1 (marzo 2020): 76–89. https://doi.org/10.4415/ANN_20_01_12.
- «Diacetylmorphine». National Institute of Standards and Technology. Consultato 13 febbraio 2022. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=561-27-3&Units=SI&cMS=on>.
- Direttiva (UE) 2017/2103 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 novembre 2017, che modifica la decisione quadro 2004/757/GAI del Consiglio al fine di includere nuove sostanze psicoattive nella definizione di «stupefacenti» e che abroga la decisione 2005/387/GAI, 305 OJ L § (2017). <http://data.europa.eu/eli/dir/2017/2103/oj/ita>.
- «D.M.-11-aprile-2006.pdf». Consultato 28 gennaio 2022.
<https://antidroga.interno.gov.it/wp-content/uploads/2019/04/D.M.-11-aprile-2006.pdf>.
- «EMCDDA | Chi siamo». Consultato 16 gennaio 2022.
<https://www.emcdda.europa.eu/html.cfm/index376IT.html>.
- «EMCDDA Operating Guidelines for the European Union Early Warning System on New Psychoactive Substances», s.d., 27.
- «EMCDDA-Europol_Annual_Report_2011_2012_final_335568.pdf». Consultato 16 gennaio 2022.

- https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/689/EMCD DA-Europol_Annual_Report_2011_2012_final_335568.pdf.
- Favretto, Donata, Susanna Vogliardi, Giulia Stocchero, Alessandro Nalesso, Marianna Tucci, e Santo Davide Ferrara. «High Performance Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry and Micropulverized Extraction for the Quantification of Amphetamines, Cocaine, Opioids, Benzodiazepines, Antidepressants and Hallucinogens in 2.5mg Hair Samples». *Journal of Chromatography A* 1218, n. 38 (settembre 2011): 6583–95. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.050>.
- Giugno, Rev. «D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106 TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO», n. 81 (2008): 925.
- Graziano, Silvia, Luca Anzillotti, Giulio Mannocchi, Simona Pichini, e Francesco Paolo Busardò. «Screening Methods for Rapid Determination of New Psychoactive Substances (NPS) in Conventional and Non-Conventional Biological Matrices». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 163 (gennaio 2019): 170–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.10.011>.
- «GU Serie Generale n.236 del 08-10-2008». Consultato 7 febbraio 2022. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2008/10/08/236/sg/pdf>.
- Johansen, S. Stybe, e R. Dahl-Sørensen. «A Drug Rape Case Involving Triazolam Detected in Hair and Urine». *International Journal of Legal Medicine* 126, n. 4 (luglio 2012): 637–43. <https://doi.org/10.1007/s00414-011-0654-6>.
- Kelly, Raymond C, Tom Mieczkowski, Stacy A Sweeney, e James A Bourland. «Hair Analysis for Drugs of Abuse.» *Forensic Science International* 107, n. 1–3 (gennaio 2000): 63–86. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00151-6](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00151-6).
- King, L. A., e A. T. Kicman. «A Brief History of ‘New Psychoactive Substances’». *Drug Testing and Analysis* 3, n. 7–8 (luglio 2011): 401–3. <https://doi.org/10.1002/dta.319>.
- Kintz, Pascal. «Hair Analysis in Forensic Toxicology: An Updated Review with a Special Focus on Pitfalls». *Current Pharmaceutical Design* 23, n. 36 (30 gennaio 2018). <https://doi.org/10.2174/1381612823666170929155628>.
- Koivunen, Marja E., e Richard L. Krogsrud. «Principles of Immunochemical Techniques Used in Clinical Laboratories». *Laboratory Medicine* 37, n. 8 (1 agosto 2006): 490–97. <https://doi.org/10.1309/MV9RM1FDLWAWUWQ3F>.
- «LEGGE 16 maggio 2014, n. 79». Consultato 28 gennaio 2022. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2014/05/20/14G00090/sg>.
- «LEGGE 23 marzo 2016, n. 41 Introduzione del reato di omicidio stradale e del reato di lesioni personali stradali, nonche’ disposizioni di coordinamento al decreto legislativo 30 aprile 1992, n. 285, e al decreto legislativo 28 agosto 2000, n. 274. (16G00048) (GU Serie Generale n.70 del 24-03-2016)». Consultato 1 febbraio 2022. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2016/03/24/16G00048/sg>.
- «Linee guida per la determinazione delle sostanze d’abuso nella matrice pilifera. Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio, a cura di Simona Pichini e

- Roberta Pacifici - settembre 2013.» Consultato 15 febbraio 2022.
https://www.iss.it/documents/20126/1915304/Linee_Guida_Capelli_xweb.pdf/88ffd26a-f665-6eab-2742-fb6f63617161?t=1576442092472.
- «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 Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità1 dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI).pdf». Consultato 31 gennaio 2022. https://www.gtfi.it/wp-content/uploads/2017/06/LG_biologico_revisione_2017_29_05.pdf.
- Marchei, Emilia, Maria Alias Ferri, Marta Torrens, Magí Farré, Roberta Pacifici, Simona Pichini, e Manuela Pellegrini. «Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry and High-Sensitivity Gas Chromatography-Mass Spectrometry Screening of Classic Drugs and New Psychoactive Substances and Metabolites in Urine of Consumers». *International Journal of Molecular Sciences* 22, n. 8 (13 aprile 2021): 4000. <https://doi.org/10.3390/ijms22084000>.
- Marchei, Emilia, Maria Concetta Rotolo, Giulio Mannocchi, Angelica Capomassi, Larissa-María Gómez-Ruiz, Aracely Acosta-López, Ruth-Yesica Ramos-Gutiérrez, Mary-Buhya Varela-Busaka, Simona Pichini, e Óscar García-Algar. «Assessment of Licit and Illicit Drugs Consumption during Pregnancy by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (UHPLC-HRMS) Target Screening in Mexican Women Hair». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 211 (marzo 2022): 114607. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114607>.
- Mburu, Gitau, Sylvia Ayon, Samantha Mahinda, e Khoshnood Kaveh. «Determinants of Women's Drug Use During Pregnancy: Perspectives from a Qualitative Study». *Maternal and Child Health Journal* 24, n. 9 (settembre 2020): 1170–78. <https://doi.org/10.1007/s10995-020-02910-w>.
- Moffat, Anthony C., M. David Osselton, B. Widdop, e Jo Watts, a c. di. *Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material*. Fourth edition. London ; Chicago: Pharmaceutical Press, 2011.
- Montesano, Camilla, Gabriele Vannutelli, Maristella Massa, Maria Chiara Simeoni, Adolfo Gregori, Luigi Ripani, Dario Compagnone, Roberta Curini, e Manuel Sergi. «Multi-Class Analysis of New Psychoactive Substances and Metabolites in Hair by Pressurized Liquid Extraction Coupled to HPLC-HRMS: Multi-Class Analysis of NPS in Hair by HPLC-HRMS». *Drug Testing and Analysis* 9, n. 5 (maggio 2017): 798–807. <https://doi.org/10.1002/dta.2043>.
- «News_releaseEN_NewRegulation2018app_NPS_EN_FINAL_webQUOTE1.pdf». Consultato 16 gennaio 2022. <https://www.emcdda.europa.eu/system/files/attachments/10082/News>

- _releaseEN_NewRegulation2018app_NPS_EN_FINAL_webQUOTE1.pdf.
- «NPS_Report.pdf». Consultato 16 gennaio 2022.
https://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_Report.pdf.
- «nuove linee guida per i controlli su strada in materia di verifica delle condizioni psico-fisiche dei conducenti (applicazione degli artt. 186 e 187 del C.d.S.)». Consultato 1 febbraio 2022.
<https://www.poliziadistato.it/statics/27/servizi-mirati-di-controlli-per-il-controllo-del-fenomeno-della-guida-in-stato-di-ebbrezza-alcolica-o-di-alterazione-dopo-aver-assunto-sostanze-stupefacenti-o-psicotrope..pdf>.
- Orsolini, Laura, Gabriele Duccio Papanti, Giulia Francesconi, e Fabrizio Schifano. «Mind Navigators of Chemicals' Experimenters? A Web-Based Description of E-Psychonauts». *Cyberpsychology, Behavior, and Social Networking* 18, n. 5 (maggio 2015): 296–300.
<https://doi.org/10.1089/cyber.2014.0486>.
- Pichini, Simona, Óscar Garcia-Algar, Laura Muñoz, Oriol Vall, Roberta Pacifici, Cecilia Figueroa, José Antonio Pascual, David Diaz, e Jordi Sunyer. «Assessment of Chronic Exposure to Cigarette Smoke and Its Change during Pregnancy by Segmental Analysis of Maternal Hair Nicotine». *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 13, n. 2 (1 marzo 2003): 144–51. <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500264>.
- Rab, Edmund, Robert J. Flanagan, e Simon Hudson. «Detection of Fentanyl and Fentanyl Analogues in Biological Samples Using Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry». *Forensic Science International* 300 (luglio 2019): 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.04.008>.
- Regolamento (CE) n. 1920/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 dicembre 2006 , relativo all'istituzione di un Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze (rifusione), 376 OJ L § (2006).
<http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1920/oj/ita>.
- Regolamento (CEE) n. 302/93 del Consiglio, dell'8 febbraio 1993, relativo all'istituzione di un Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze, 036 OJ L § (1993).
<http://data.europa.eu/eli/reg/1993/302/oj/ita>.
- «Relazione europea sulla droga Tendenze e sviluppi. 2021», s.d., 60.
- Rice, Peter J., a c. di. *Understanding Drug Action: An Introduction to Pharmacology*. 2215 Constitution Avenue, NW Washington, DC 20037-2985: The American Pharmacists Association, 2014.
<https://doi.org/10.21019/9781582121123>.
- Rotolo, Maria Concetta, Roberta Pacifici, Manuela Pellegrini, Stefano Cardullo, Luis J. Gómez Pérez, Diego Cuppone, Luigi Gallimberti, e Graziella Madeo. «Hair Testing for Classic Drugs of Abuse to Monitor Cocaine Use Disorder in Patients Following Transcranial Magnetic Stimulation Protocol Treatment». *Biology* 10, n. 5 (5 maggio 2021): 403.
<https://doi.org/10.3390/biology10050403>.

- Salomone, Alberto, Daniele Di Corcia, Pierre Negri, Maria Kolia, Eleonora Amante, Enrico Gerace, e Marco Vincenti. «Targeted and Untargeted Detection of Fentanyl Analogues and Their Metabolites in Hair by Means of UHPLC-QTOF-HRMS». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 413, n. 1 (gennaio 2021): 225–33. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02994-x>.
- Shafi, Abu, Alex J. Berry, Harry Sumnall, David M. Wood, e Derek K. Tracy. «New Psychoactive Substances: A Review and Updates». *Therapeutic Advances in Psychopharmacology* 10 (gennaio 2020): 204512532096719. <https://doi.org/10.1177/2045125320967197>.
- «SINGLE CONVENTION ON NARCOTIC DRUGS, 1961 As Amended by the 1972 Protocol Amending the Single Convention on Narcotic Drugs, 1961», s.d., 44.
- Dipartimento per le politiche antidroga. «Sistema Nazionale di Allerta Precoce». Consultato 17 gennaio 2022. <http://www.politicheantidroga.gov.it/it/attivita/sistema-nazionale-allerta-precoce/sistema-nazionale-di-allerta-precoce/>.
- Tavella, Ronan A., Victória O.M. De Abreu, Ana Luiza Muccillo-Baisch, e Flávio M.R. Da Silva Júnior. «Prevalence of Illicit Drug Use During Pregnancy: A Global Perspective». *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 92, n. 4 (2020): e20200302. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020200302>.
- Tittarelli, Roberta, Giulio Mannocchi, Flaminia Pantano, e Francesco Romolo. «Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines». *Current Neuropharmacology* 13, n. 1 (13 aprile 2015): 26–46. <https://doi.org/10.2174/1570159X13666141210222409>.
- GOV.UK. «United Kingdom Drug Situation 2019: Focal Point Annual Report». Consultato 16 gennaio 2022. <https://www.gov.uk/government/publications/united-kingdom-drug-situation-focal-point-annual-report/united-kingdom-drug-situation-focal-point-annual-report-2019>.
- Van der Linden, T., S.-A. Legrand, P. Silverans, e A. G. Verstraete. «DUID: Oral Fluid and Blood Confirmation Compared in Belgium». *Journal of Analytical Toxicology* 36, n. 6 (1 luglio 2012): 418–21. <https://doi.org/10.1093/jat/bks038>.
- Van Hout, Marie Claire, Annemieke Benschop, Michal Bujalski, Katarzyna Dąbrowska, Zsolt Demetrovics, Katalin Felvinczi, Evelyn Hearne, et al. «Health and Social Problems Associated with Recent Novel Psychoactive Substance (NPS) Use Amongst Marginalised, Nightlife and Online Users in Six European Countries». *International Journal of Mental Health and Addiction* 16, n. 2 (aprile 2018): 480–95. <https://doi.org/10.1007/s11469-017-9824-1>.
- Vari, Maria Rosaria, Giulio Mannocchi, Roberta Tittarelli, Laura Leondina Campanozzi, Giulio Nittari, Alessandro Feola, Federica Umani Ronchi, e Giovanna Ricci. «New Psychoactive Substances: Evolution in the Exchange of Information and Innovative Legal Responses in the European Union». *International Journal of Environmental Research and Public*

- Health* 17, n. 22 (23 novembre 2020): 8704.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17228704>.
- Vignali, Claudia, Stefania Ortu, Cristiana Stramesi, Francesca Freni, Matteo Moretti, Luca Tajana, Antonio Marco Maria Osculati, Angelo Groppi, e Luca Morini. «Variability on Ethyl Glucuronide Concentrations in Hair Depending on Sample Pretreatment, Using a New Developed GC–MS/MS Method». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 159 (settembre 2018): 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.06.044>.
- «What are NPS?» Consultato 16 gennaio 2022.
<https://www.unodc.org/LSS/Page/NPS>.
- «What is the Early Warning Advisory?» Consultato 16 gennaio 2022.
<https://www.unodc.org/LSS/Page/About>.
- Wilde, Maurice, Simona Pichini, Roberta Pacifici, Adriano Tagliabracci, Francesco Paolo Busardò, Volker Auwärter, e Renata Solimini. «Metabolic Pathways and Potencies of New Fentanyl Analogs». *Frontiers in Pharmacology* 10 (5 aprile 2019): 238.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00238>.
- United Nations : Office on Drugs and Crime. «World Drug Report 2021». Consultato 16 gennaio 2022. [//www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/wdr2021.html](https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/wdr2021.html).

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il Prof. Ascanio Sirignano, per il suo prezioso supporto e insegnamento, e per avermi mostrato che è possibile superare tutto e ricominciare ogni giorno più tenaci di prima.

Ringrazio la Prof.ssa Giovanna Ricci, per avermi seguito in questo percorso con pazienza, attenzione e cura, e di avermi dato la possibilità di contribuire al sapere di altre persone.

Ringrazio la Prof.ssa Lucia Ruggeri, di avermi sempre dato fiducia e di avermi stimolato ad allargare i miei orizzonti.

Ringrazio la Dott.ssa Simona Pichini, per il suo immenso supporto, senza il quale non avrei mai potuto portare a termine questo lavoro di tesi.

Ringrazio inoltre le Dott.sse: Emilia Marchei, Manuela Pellegrini, Silvia Graziano, Maria Concetta Rotolo e Annagiulia Di Trana, per il loro preziosissimo contributo.

Un ringraziamento speciale alla Dott.ssa Nunzia La Maida, per il suo gioco di squadra per me indispensabile.

Ringrazio tutti i Professori che sin dall'inizio e per tutto il mio percorso hanno contribuito a questo successo finale.

Ringrazio Andrea Gardumi e Massimo Gottardi per il loro prezioso supporto tecnico scientifico.

Ringrazio le mie colleghe, amiche e sorelle Roberta Tittarelli e Flaminia Pantano, perché mi hanno sempre spronato a fare meglio, e a far uscire il meglio di me.

Ringrazio la mia famiglia ed in particolare la mia compagna di vita Rita, che mi ha preso per mano ogni qual volta mi ha visto stanco, mi ha abbracciato tutte le volte che mi ha visto triste e mi ha ammansito con una carezza, ogni volta che mi ha visto arrabbiato, grazie per tutto quello che mi dai ogni giorno.

Ringrazio te, mia forza e mio respiro, che non sei più con me nella tua corporeità ma non mi hai mai abbandonato.