

**COMMENTO AI RISULTATI VEQ 2015 SULLE DROGHE  
DI ABUSO: PROBLEMATICHE CONNESSE AGLI  
ACCERTAMENTI RICHIESTI PER FINALITA' GIUDIZIARIE**

Agostino Pasqualini UOS Farmaco-Tossicologia  
Azienda Ospedaliera Universitaria Senese

Firenze 14 novembre 2016



**AL PROGRAMMA 2015 HANNO PARTECIPATO  
257 LABORATORI**

**IL PROGRAMMA DI VEQ PREVEDE L'INVIO DI  
12 CAMPIONI DI URINE DI PAZIENTI  
TOSSICODIPENDENTI NELLE QUALI SONO  
PRESENTI DROGHE, LORO METABOLITI ED  
EVENTUALI SOSTANZE INTERFERENTI**



## **SOSTANZE ANALIZZATE**

- **OPPIACEI**
- **COCAINA**
- **CANNABINOIDI**
- **AMFETAMINE**
- **MDMA**
- **BENZODIAZEPINE**
- **METADONE**
- **BUPRENORFINA**

## SCREENING

- Questi test permettono di identificare (e quindi, eventualmente, di escludere da ulteriori indagini quantitative) i campioni che non contengono la sostanza o la classe di sostanze in esame, oppure i **campioni in cui la concentrazione della sostanza medesima è al di sotto di un valore prestabilito**, detto **valore soglia** o *cut off*, cioè un valore di riferimento scelto in base agli obiettivi analitici, espresso in concentrazione, al di sopra del quale il risultato di un test è considerato positivo e al di sotto del quale il test è giudicato negativo.


- **CEDIA:** Metodo enzimatico in fase omogenea; Ditta Olympus, Microgenics. I.L. ecc.
- **EMIT:** Metodo enzimatico in fase omogenea; Ditta Syva, ecc.
- **EMIT-BECKMAN:** Metodo enzimatico in fase omogenea; Ditta Beckman
- **EMIT-DIMENSION:** Metodo enzimatico in fase omogenea; Ditta Siemens (Strumento Dimension)
- **EMIT-I.L.:** Metodo enzimatico in fase omogenea Ditta I.L.
- **FPIA:** Metodo a fluorescenza polarizzata, Ditta Abbott ( Strumento AXSYM )
- **IMMUNO CROMATOGRAFIA:** Metodi che usano membrane sensibilizzate, Ditta Biosite, Medic ecc.
- **KIMS:** Metodo turbidimetrico, Ditta Roche




Sono tecniche **immunochimiche**.

Si basano sulle proprietà immunogene delle sostanze : un dato analita può comportarsi da **antigene** e legarsi al proprio **anticorpo** formando il **complesso antigene-anticorpo**.

La determinazione della sostanza interessata (antigene) avviene grazie alla possibilità di rivelare il complesso Ag-Ab mediante la variazione della densità ottica della soluzione provocata dall'attività dell'enzima su un substrato, che sarà direttamente proporzionale alla concentrazione dell'enzima stesso (**EMIT**), o attraverso una molecola “**tracciante**”(FPIA).



I vantaggi di queste metodiche consistono in una manipolazione del campione pressoché assente, una strumentazione di relativa facilità di impiego, tempi di analisi brevi e costi di esercizio contenuti



Lo svantaggio principale della tecniche immunochimiche è che mostrano una bassa specificità, in quanto gli anticorpi impiegati possono avere affinità anche per sostanze con struttura simile a quella dell'antigene (cross-reactivity)

La reazione antigene-anticorpo può quindi avvenire anche per molecole diverse da quelle che si vogliono determinare.



Indipendentemente dal metodo di analisi impiegato, i risultati sono stati omogenei per tutte le classi di sostanze esaminate, ad eccezione dei cannabinoidi.



AZIENDA OSPEDALIERO  
UNIVERSITARIA  
CAREGGI - FIRENZE

VEQ  
DROGHE  
Ciclo 2015

Firenze li 05/02/2016

S.O.D.  
SICUREZZA E QUALITÀ  
tel. 055.7947907 - fax 055.7947714

Valori ottenuti in GC-MS  
Molecole determinate: Ac. Delta9 - THC -Totale

	Delta9-THC
Campione n° 1	18
Campione n° 2	8
Campione n° 3	16
Campione n° 4	18
Campione n° 5	11
Campione n° 6	15
Campione n° 7	19
Campione n° 8	8
Campione n° 9	15
Campione n° 10	<5
Campione n° 11	<5
Campione n° 12	16

M.C.R. <5 ng/mL

Campioni inviati:

Campione n° 1: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 2: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 3: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 4: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 5: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 6: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 7: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 8: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 9: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 10: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 11: Urine di Tossicodipendenti  
Campione n° 12: Urine di Tossicodipendenti

Valori ottenuti dalla SODc "Tossicologia Forense" della AOU- Careggi (FI)

Campione n.4	Risultati Quantitativi			Risultati Qualitativi		
	n.	media	c.v	Pos.	Neg.	Dubbio
CEDIA	14	40.07	12.67	2	18	2
EMIT	22	58.71	15.87	21	3	3
EMIT - I.L.	18	53.22	8.76	16	3	1
EMIT-BECKMAN				9	3	
EMIT-DIMENSION	15	68.93	5.87	24		
IMMUNO CROMATOG.				31	5	1
KIMS	38	39.47	21.17	4	29	3
				107	61	10

**Camp. n.4 Acido Delta 9 THC = 18ng/ml**

Campione n.5	Risultati Quantitativi			Risultati Qualitativi		
	n.	media	c.v	Pos.	Neg.	Dubbio
CEDIA	13	37.62	14.17	2	20	
EMIT	21	49.45	22.06	16	10	2
EMIT - I.L.	18	44.50	15.19	5	14	2
EMIT-BECKMAN				3	9	
EMIT-DIMENSION	16	61.31	7.98	24		
IMMUNO CROMATOG.				25	8	4
KIMS	38	36.03	20.16	2	29	1
				77	90	9

**Camp. n.5 Acido Delta 9 THC = 11ng/ml**


Campione n.10	Risultati Quantitativi			Risultati Qualitativi		
	n.	media	c.v	Pos.	Neg.	Dubbio
CEDIA	13	17.55	22.85	1	21	
EMIT	23	26.95	38.85	3	24	1
EMIT - I.L.	16	18.69	16.78		21	
EMIT-BECKMAN					7	
EMIT-DIMENSION	15	39.33	10.29		25	
IMMUNO CROMATOG.				14	20	2
KIMS	31	24.47	29.13		30	
				18	148	3

Campione n.11	Risultati Quantitativi			Risultati Qualitativi		
	n.	media	c.v	Pos.	Neg.	Dubbio
CEDIA	9	6.25	43.40		18	
EMIT	15	12.64	39.68		22	
EMIT - I.L.	5				14	
EMIT-BECKMAN					7	
EMIT-DIMENSION	10	17.90	15.00		20	
IMMUNO CROMATOG.				1	33	
KIMS	20	13.45	24.66	1	25	
				2	139	

**Camp. n.10 Acido Delta 9 THC = <5 ng/ml**

**Camp. n.11 Acido Delta 9 THC = <5 ng/ml**



Le case produttrici riportano nei kit uno o più valori di cut-off, che frequentemente è in accordo con quello raccomandato dalla Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA).

Nel caso dei Cannabinoidi i valori di cut-off sono in genere di 20 ng/ml o 50 ng/ml.



**AZIENDA OSPEDALIERO  
UNIVERSITARIA  
CAREGGI - FIRENZE**

**VEQ  
DROGHE  
Ciclo 2015**

**Valori ottenuti in GC-MS  
Molecole determinate: Ac. Delta9 - THC -Totale**

	<u>Delta9-THC</u>
Campione n° 1	18
Campione n° 2	8
Campione n° 3	16
Campione n° 4	18
Campione n° 5	11
Campione n° 6	15
Campione n° 7	19
Campione n° 8	8
Campione n° 9	15
Campione n° 10	<5
Campione n° 11	<5
Campione n° 12	16

**M.C.R. <5 ng/mL**



Linee Guida per Strutture dotate di Laboratori per gli accertamenti di sostanze di abuso con Finalità Tossicologico-Forensi e Medico-Legali del Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (Revisione n. 4 del 6.12.2012).

**Cut-Off** Valore Soglia o Soglia Decisionale: limite di concentrazione definito, in maniera convenzionale, per stabilire la negatività ovvero la positività (non negatività nel caso di analisi di screening) di un campione. Il valore di cut-off, pertanto, può variare dipendendo dall'ambito di applicazione dell'analisi.

**Valori di cut-off di screening e di conferma nell'urina.**

<b>Classe di sostanze o sostanza (sostanza target per lo screening)</b>	<b>Cut-off screening (ng/ml)</b>	<b>Cut-off conferma (ng/ml)</b>
<b>Oppiacei (<i>morfina libera</i>)</b> <i>morfina totale*</i> <i>codeina totale*</i> <i>6-acetilmorfina</i>	<b>300</b>	 100 100 10
<b>Cocaina metabolita (<i>benzoilecgonina</i>)</b> <i>cocaina</i> <i>benzoilecgonina</i>	<b>300</b>	 100 100
<b>Amfetamina e congeneri</b> <i>amfetamina</i> <i>metamfetamina</i>	<b>500</b>	 200 200
<b>3,4-Metilendioossimetamfetamina e congeneri</b> <i>MDMA</i> <i>MDA</i> <i>MDEA</i> <i>MBDB</i>	<b>500</b>	 200 200 200 200
<b>Metadone (<i>metadone</i>)</b> <i>metadone</i> <i>EDDP</i>	<b>300</b>	 100 100
<b>Cannabinoidi (<i>THC-COOH</i>)</b> <i>THC-COOH</i>	<b>50</b>	 15
<b>Buprenorfina</b> <i>buprenorfina totale*</i> <i>norbuprenorfina totale*</i>	<b>5</b>	 5 5

\* Il valore è riferito al campione sottoposto a idrolisi (la verifica dell'efficienza della reazione di idrolisi su morfina-3-glucuronide in fase di validazione del metodo è obbligatoria).

**Valori di cut-off di conferma nel sangue intero.**

<b>Sostanza</b>	<b>Cut-off conferma (ng/ml)</b>
<i>morfina</i>	10
<i>codeina</i>	10
<i>6-acetilmorfina</i>	10
<i>cocaina</i>	10
<i>cocaetilene</i>	10
<i>amfetamina</i>	20
<i>metamfetamina</i>	20
<i>MDMA</i>	20
<i>MDA</i>	20
<i>MDEA</i>	20
<i>MBDB</i>	20
<i>metadone</i>	10
<i>THC</i>	2
<i>11-OH-THC</i>	2





**I cut-off sono stati stabiliti per normativa dalla deliberazione della Regione Toscana del 27/10/2008, n. 868 (legge 131/2003)**

**“Accertamenti sanitari di assenza di tossicodipendenza in lavoratori addetti a mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l’incolumità e la salute di terzi”**

I test immunochimici di screening devono essere considerati positivi al superamento delle concentrazioni soglia (cut-off) espresse in ng/ml e riportate in Tabella 1.

Tabella 1

CLASSI DI SOSTANZE	CUT-OFF (ng/ml)
Oppiacei metaboliti	300
Cocaina metaboliti	300
Cannabinoidi (THC)	50
Amfetamina - Metamfetamina	500
MDMA	500
Metadone	300

#### 2.2.4 - *Esami di conferma e valori soglia*

Gli esami di conferma devono essere attuati con metodica cromatografica accoppiata a spettrometria di massa (GC/MS o LC/MS).

Gli esami in GC/MS o LC/MS saranno effettuati nei casi di positività al test di screening per una o più classi di sostanze.

Gli esami devono essere considerati positivi al superamento delle concentrazioni soglia (cut-off) espresse in ng/ml e riportate in Tabella 2.

Tabella 2

SOSTANZE	CUT-OFF (ng/ml)
Oppiacei metaboliti (morfina, codeina, 6-acetilmorfina)	100
Cocaina e metaboliti	100
Cannabinoidi metaboliti	15
Amfetamina ed analoghi (metamfetamina, MDMA, MDA, MDEA)	250
Metadone	100
Buprenorfina	5



**ANALISI RICHIESTE AI LABORATORI DEL SSN  
DAGLI ORGANI DI POLIZIA GIUDIZIARIA PER I  
CONDUCENTI COINVOLTI IN INCIDENTE  
STRADALE E SOTTOPOSTI A CURE MEDICHE  
PRESSO I REPARTI DI PRONTO SOCCORSO**


- **Accertamenti ai sensi art. 187 DLg 30/04/1992 n°285 (codice della strada) e successive modificazioni**
- Art. 187. Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti.
- 1. (2) **Chiunque guida in stato di alterazione psico-fisica dopo aver assunto sostanze stupefacenti o psicotrope è punito con l'ammenda da euro 1.500 a euro 6.000 e l'arresto da sei mesi ad un anno.**
- All'accertamento del reato consegue in ogni caso la sanzione amministrativa accessoria della sospensione della patente di guida da uno a due anni.

# LEGGE 23 marzo 2016, n. 41

Chiunque, ponendosi alla guida di un veicolo a motore in stato di ebbrezza alcolica o di **alterazione psico-fisica conseguente all'assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope** ai sensi rispettivamente degli articoli 186, comma 2, lettera c), e 187 del decreto legislativo 30 aprile 1992, n. 285, cagioni per colpa la morte di una persona, e' punito con la **reclusione da otto a dodici anni**.


Chiunque, ponendosi alla guida di un veicolo a motore in stato di ebbrezza alcolica o di **alterazione psico-fisica conseguente all'assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope** ai sensi rispettivamente degli articoli 186, comma 2, lettera c), e 187 del decreto legislativo 30 aprile 1992, n. 285, cagioni per colpa a taluno una lesione personale, e' punito con la **reclusione da tre a cinque anni per le lesioni gravi e da quattro a sette anni per le lesioni gravissime**.

Alla condanna o al patteggiamento per omicidio o lesioni stradali consegue automaticamente la **revoca della patente**. L'interessato non può conseguire una nuova patente prima che siano decorsi **quindici anni** dalla revoca (per omicidio) o **cinque anni** (per lesioni). Il termine è aumentato nelle ipotesi più gravi.




**Per determinare lo stato di alterazione psicofisica conseguente all'assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope è necessario effettuare le analisi tossicologiche su campione ematico**

**La normativa non prevede valori di cut-off**




**Protocollo operativo da applicare a tutti i conducenti coinvolti in incidente stradale e sottoposti a cure mediche presso i reparti di Pronto Soccorso con lo scopo di garantire un percorso operativo corretto sotto il profilo clinico, diagnostico - laboratoristico e medico -legale**





**Definire i compiti del personale sanitario e dei medici del Pronto Soccorso in relazione alla corretta modalità di esecuzione dei prelievi, dell'espressione del consenso informato e degli obblighi di referto.**

- 
- **Definire i ruoli e le responsabilità di tutti gli operatori sanitari e non, coinvolti negli accertamenti.**
  - **Attribuzione delle competenze alle strutture sanitarie di laboratorio per l'esecuzione delle analisi di screening e di conferma.**

- **Catena di custodia:** procedura documentata atta a garantire l'autenticità, l'integrità e la tracciabilità di un campione dal momento del prelievo/raccolta sino allo smaltimento; essa deve permettere, tra l'altro, di ricostruire l'iter del campione all'interno del laboratorio, di conservarlo verificandone le condizioni, di preservarlo in tutte le fasi da manomissioni ed adulterazioni volontarie o involontarie, nonché di individuare tutte le movimentazioni e manipolazioni del campione, con registrazione della data e dell'operatore.

**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**