

## **Coro di formazione dipartimentale**

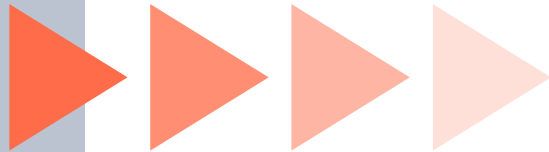
“nuovi e vecchi marcatori dei liquidi biologici nelle sostanze d'abuso” -  
Arezzo 27 sett. 2010

**Dott. Marco Becattini**

**Ser.T. Arezzo**

*Dipartimento delle Dipendenze*

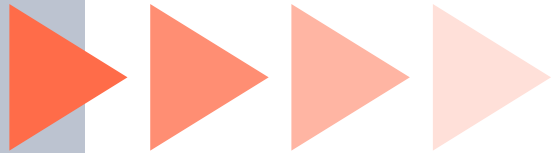
*Dir.Dott Paolo E. Dimauro*



## **Principali droghe e sostanze psicoattive** (suddivise in base all'attività farmacologica)

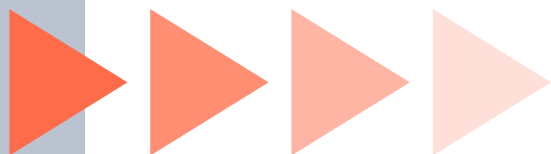
---

Psicolettiche	Narcotici (oppio Eroina morfina), Barbiturici e altri ipnotici, alcol etilico
Psicoanalettiche	Amfetamina e analoghi, cocaina (in abuso cronico), caffeina, antidepressivi
Psicodislettiche	Cannabis (marijuana, hascish), allucinogeni (LSD, Chetamina, altro)



## Principali classi di sostanze dosate in Laboratorio in Italia

- Oppiacei e morfina
- Cocaina e analoghi
- Cannabinoidi
- Amfetamina e metamfetamina
- Barbiturici
- Benzodiazepine
- Antidepressivi triciclici
- Metadone

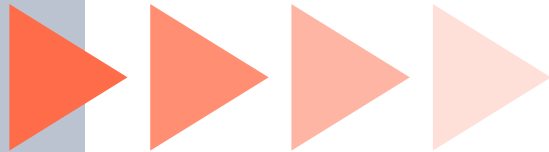


## Tossicologia clinica

Utenti : Dipartimenti clinici

Obiettivi:

- diagnostici
- Ausilio al trattamento
- Prevenzione delle recidive
- cura



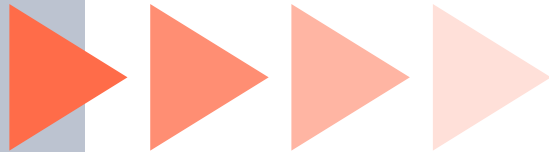
**Un campione positivo ai test immunochimici deve essere verificabile con un test di conferma cromatografico, altrimenti non ha valore medico-legale.**

**Tuttavia il protocollo operativo per gli accertamenti ex art186-187 Dl.vo 30.4.1992 n°285 e succ. capo 3, comma 2 :**

---

**“.. Nel caso in cui il soggetto sia stato sottoposto ad intervento medico a seguito di incidente stradale in cui è rimasto coinvolto, la valutazione clinica, ove possibile, può essere desunta anche dagli atti medici, diagnostici e terapeutici effettuati”**

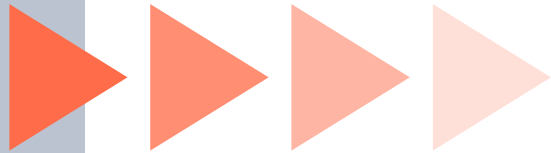
Accade dunque che risultati ottenuti con metodi di screening e non confermati vengano utilizzati, in modo improprio a fini giudiziari.



## Tossicologia forense

Utenti: Enti e Magistratura (organi da quella delegati)

- Commissioni medico legali
- Prefettura: verifica dei trattamenti alternativi alle sanzioni Sperimentazione dell'art.75 dpr 309/90 e modificazione DL Fini Giovanardi
- Determinazione requisiti psicofisici per il rilascio del porto d'armi (GU 304/1991)
- Forze dell'ordine: accertamento dello stato d'ebbrezza o di assunzione sost stupefacenti alla guida (DL 285/1992 e suc modif. art 186 e 187)
- Enti pubblici o privati: accertamenti sui lavoratori le cui mansioni comportino rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi (Prov. N°99/CU 30/10/2007)

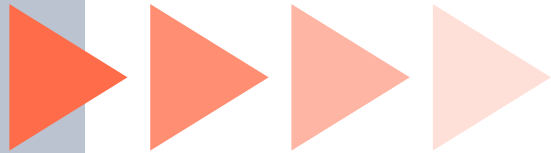


## Il fattore tempo

---

**In tossicologia clinica** le informazioni sono utili in tempo reale, secondo le possibilità dei metodi di screening

**In tossicologia forense** è essenziale la certezza del dato e informazioni precipitose sono controproducenti

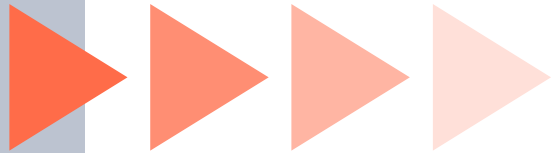


## Matrici biologiche dei campioni

L'urina è la matrice biologica maggiormente utilizzata in Italia

### **vantaggi:**

- Prelievo non invasivo
- Possibilità di campionare grandi volumi
- Possibilità di analizzare le sostanze e loro cataboliti dopo diversi giorni



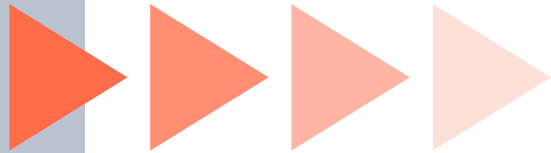
## Matrici biologiche dei campioni

L'urina è la matrice biologica maggiormente utilizzata in Italia

Svantaggi:

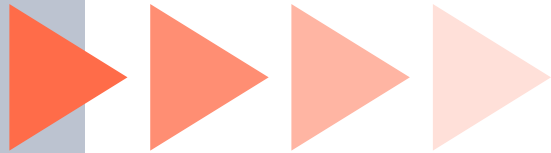
Scarsa rilevanza clinica dell'analisi quantitativa perché le concentrazioni variano con:

- dose
- via di somministrazione
- tempo di latenza tra assunzione e analisi
- stato fisiologico dell'individuo
- facilità dell'adulterazione



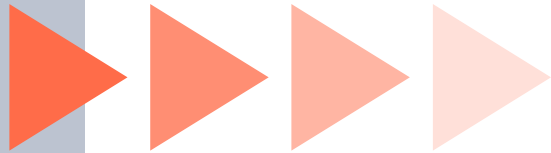
## Matrici biologiche dei campioni

- 
- Sangue
  - Saliva
  - Sudore
  - Capelli
  - Peli pubici/ascellari
  - Unghie



## Tempi di tracciabilità su matrici biologiche

- 
- Ore                    sangue e saliva
  - Giorni                urine
  - Mesi                   capelli peli e unghie



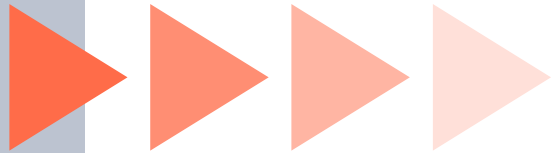
## Valore soglia o *cut off*

---

Il valore di *cut off* è un valore di riferimento scelto in base agli obiettivi analitici, espresso in concentrazione, al di sopra del quale il risultato del test è considerato positivo e al di sotto del quale il test è giudicato negativo.

Il *cut off* è fissato ad una concentrazione maggiore della sensibilità del metodo, e il suo livello deve permettere la conferma cromatografica dei risultati

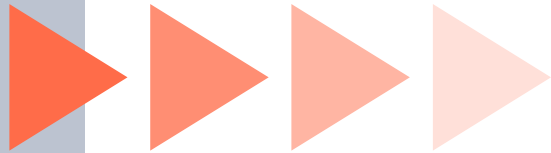
Le concentrazioni di *cut off* sono convenzionali e delegati alle autorità regionali  
DPR 502/517 1997



## Analisi tossicologiche in laboratorio

---

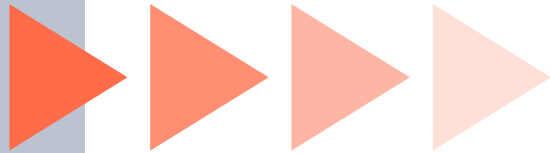
Esistono **esami di screening** (speditivi o iniziali) e **esami di conferma**.



## Test di screening “speditivi”

Sono test che permettono la determinazione della presenza di una più sostanze d'abuso e dei loro metaboliti rispetto a un valore soglia senza apparecchiature e con tempi analisi molto brevi

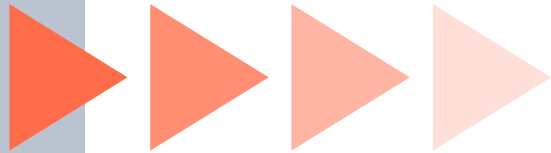
Solitamente i test speditivi usano metodiche immunocromatografiche, con risultati visibili otticamente di tipo qualitativi secondo cut-off. Esistono test immunofluorimetrici non leggibili a occhio nudo che richiedono l'uso di appositi lettori e questo supera il limite della soggettività dell'esaminatore e permette una refertazione archiviabile del test



## Test di screening “speditivi”

---

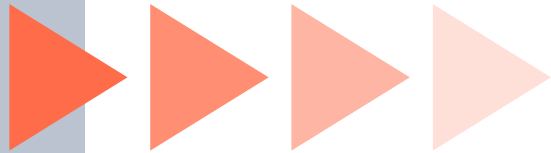
Questi test sono utili nella fase di orientamento diagnostico e sono impiegati in Servizi specialistici o di pronto soccorso, non richiedono personale particolarmente addestrato (forze dell'ordine e simili...)



## Test di screening “iniziali”

Sono chiamati iniziali quei test che in poco tempo permettono di analizzare un gran numero di campioni in maniera efficace economica standardizzata. Sono di tipo immunochimico su fase omogenea:

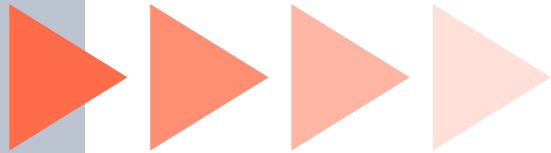
- ENZYME IMMUNOASSAY (EIA)
- IMMUNOFLUORESCENZA A LUCE POLARIZZATA (FPIA)
- INIBIZIONE DELL'AGGLUTINAZIONE (HI)
- ENZYME MULTIPLIED IMMUNOASSAY TEST (EMIT)



## Test di screening “iniziali”

Questi esami sono diretti, automatizzati, veloci e di facile esecuzione richiedono piccoli volumi di campione e forniscono una risposta *quantitativa* che ha tuttavia una limitata significatività ma è assolutamente attendibile nel riconoscimento **qualitativo** in riferimento al cutt-off

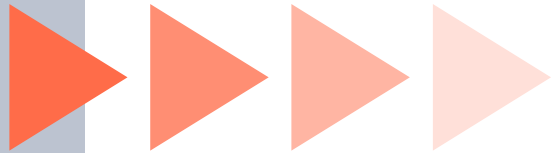
Questi test analizzano una sostanza alla volta e non un pannello.



## Analisi di conferma

Questi esami identificano i singoli analiti e danno risultati quantitativi accurati. Le analisi di conferma servono a verificare gli eventuali referti dei test iniziali falsamente positivi o negativi.

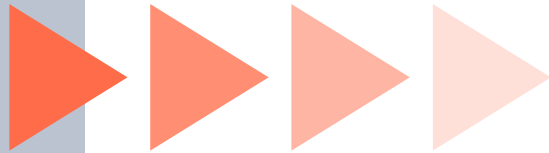
- Identificazione di singoli analiti
- Precisazione quantitativa
- Test con metodiche alternative ai test iniziali
- Sensibilità uguale o maggiore dei test iniziali



## Analisi di conferma

Le metodiche di conferma sono cromatografiche:

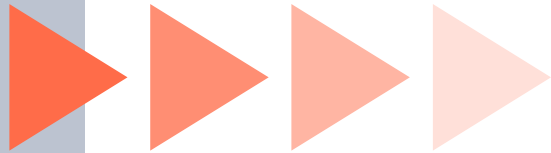
- Gascromatografia (GC)
- Cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC)
- Cromatografia + spettrometria di massa (GC/MS)
- Cromatografia liquida ad alte prestazioni + spettrometria di massa (LC/MS)



## **Procedure per gli accertamenti 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 la salute di terzi ai sensi dell'intesa Stato Regioni Prov 99/CU del 30/10/07**

Il datore di lavoro comunica l'elenco dei lavoratori al medico competente

- Accertamento pre-mansione (ma non pre-assuntivo)
- Accertamento periodico (almeno annuale)
- Accertamento per ragionevole dubbio
- Accertamento dopo incidente professionale
- Accertamento di follow-up almeno mensile (dopo positività e prima reintegro)
- Accertamento al rientro al lavoro nella mansione dopo sospensione

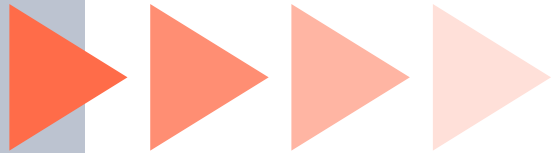


## Test tossicologico di screening primo livello

---

Il test viene eseguito dal medico competente, o dagli operatori delle strutture pubbliche, o da strutture laboratoristiche private accreditate (punto 2.2.3 punto 2.2.3.)

La matrice biologica è l'urina, il test immunochimico deve essere ritenuto positivo al superamento del cut-off

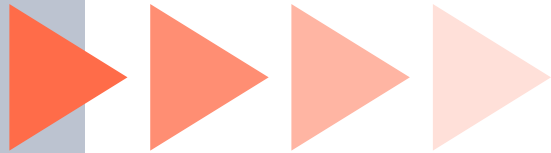


## **Analisi di conferma**

---

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

Gli esami saranno effettuati nei casi di positività ai test di screening a una o più sostanze.

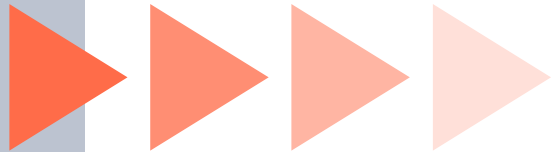


## Procedure accertative di secondo livello da parte del sert

➤ Opzione a: 1 esame su urine da analizzare con metodica immunistochimica 1 esame su matricpilifera con metodica di estrazione e successiva analisi strumentale GC/MS o LC/MS

➤ Opzione b: 3 esami su urine da analizzare con metodica immunochimica contestualmente a determinazine di creatinina urinaria.

I costi sono a carico del datore di lavoro e quelli delle controanalisi a carico del lavoratore che le richiede

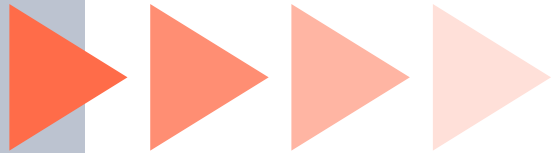


## **Protocollo operativo per accertamento di abuso/dipendenza da sostanze stupefacenti e/o assenza Abuso/dipendenza da alcol per l'ottenimento convalida di porto d'armi DL 28/04/98 art. 3**

---

“l'accertamento dei requisiti psicofisici è effettuato dagli uffici medico legali o dai distretti sanitari delle unità sanitarie locali o dalle strutture sanitarie militari e della polizia di Stato... il medico certificatore o il collegio medico prescriverà tutti gli ulteriori accertamenti che riterrà necessari, da effettuarsi presso le strutture sanitarie pubbliche.”

“ il totale onere degli accertamenti è a carico del richiedente...” art.4



## **Protocollo operativo per accertamento di abuso/dipendenza da sostanze stupefacenti e/o assenza Abuso/dipendenza da alcol per l'ottenimento convalida di porto d'armi DL 28/04/98**

Il programma di accertamenti di consulenza che si devono svolgere al Ser.T. prevede una durata di 4 settimane durante le quali il richiedente effettuerà 4 controlli urinari di screening tossicologico di primo livello a cadenza di norma ogni 4-5 gg, una prima visita dove il medico specialista raccoglierà l'anemnesi e eseguirà esame obiettivo volto all'accertamento di segni di intossicazione abituale di sost. Stupefacenti, sintomi fisici e psichici di intossicazione in atto o di astinenza in atto. Lo stesso medico provvederà a prenotare al CUP gli esami da svolgere al laboratorio analisi e a riceverne l'esito per fare certificazione al medico certificatore o al collegio medico