

Il dialogo con il laboratorista tossicologo sulla valutazione e gestione dei casi borderline

Varango Concettina*, Cerutti Lorenzo**, Gavina Manuela***

SUMMARY

■ *In recent years, addiction specialists have been increasingly urged to try their hand at a world characterized by increasingly varied and different substances which represent a challenge for the clinic and for the formulation of a careful diagnosis.*

In recent years, the intake of new psychoactive substances such as synthetic cannabinoids, cathinones, MDPV (methylenedioxypropylvalerone) has become widespread, which can be associated with a dangerous sexual practice known as chemsex, especially present in cities with a high population density.

At the Ser. The collaboration between the SMEL Clinical Chemical Analysis and Microbiology Laboratory of the Lodi Hospital and the Ser.D. has continued for more than two years, having implemented the protocol for the search for substances of abuse both on urinary toxicological tests and on the matrix keratin in the monitoring of drug addiction ■

Keywords: *Keratin Matrix, Hospitable laboratory, Monitoring.*

Parole chiave: *Matrice cheratinica, Laboratorio ospedaliero, Monitoraggio.*

Introduzione

Gli specialisti delle Dipendenze, in questi ultimi anni, sono sempre più sollecitati a cimentarsi in un mondo connotato da sostanze sempre più variegata e differenti che rappresentano un guanto di sfida per la clinica e per la formulazione di una diagnosi attenta.

Negli ultimi anni si è diffusa l'assunzione di nuove sostanze psicoattive come cannabinoidi sintetici, catinoni, MDPV (metilenediospirovalerone) che può associarsi ad una pericolosa pratica sessuale conosciuta come *chemsex*, presente soprattutto in città ad alta densità demografica. Nasce nel 2012 nel Regno Unito ma, poco a poco, è andata estendendosi al resto dei paesi europei. Altre sostanze che si stanno diffondendo sono gli oppiacei sintetici ed il tramadolo.

L'attività clinica che investe i servizi per le Dipendenze ha sempre più necessità di attingere ad un percorso valutativo di integrazione socio-sanitaria tra strutture ospedaliere e servizi territoriali.

Riveste sempre più importanza la collaborazione con il proprio laboratorio per la formulazione di una diagnosi attenta.

Il contesto in cui opera il Ser.D. dell'ASST di Lodi

Presso il Servizio Dipendenze da tre anni circa, si stanno rivolgendo pazienti che sono dediti all'assunzione di oppiacei sintetici, tramadolo e nuove sostanze psicoattive e al *chemsex*.

* Direttore U.S.C. Servizio Dipendenze, ASST di Lodi.

** Direttore U.S.C. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia dell'AA-ASST di Lodi.

*** Dirigente biologa U.S.C. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia dell'AA-ASST di Lodi.

A livello Europeo e negli USA si è registrato un aumento della disponibilità di prodotti venduti come composti psicoattivi non inclusi nelle tabelle delle sostanze sottoposte a controllo.

Negli ultimi anni sono stati riportati numerosi casi di intossicazione acuta e alcuni decessi attribuiti all'uso di queste sostanze. L'identificazione di queste sostanze è particolarmente difficile a causa dell'estrema varietà e novità dei principi attivi, nonché della loro breve permanenza sul mercato e delle scarse informazioni disponibili in letteratura.

È quasi quotidiana la notifica da parte del sistema di allerta rapido della presenza in Europa ma anche in Italia di casi di intossicazioni acute conseguenti all'assunzione di nuove sostanze psicoattive (NPS).

Presso il Ser.D. di Lodi si assiste ad una presa in carico di soggetti assuntori di cannabinoidi sintetici, catinoni, oppiacei sintetici oltre che di MDPV e tramadolo.

La difficoltà del riconoscimento analitico delle NPS nei campioni biologici ed una non attenta valutazione anamnestica dell'assunzione di sostanze, limita la comprensione della reale diffusione di questi composti sul nostro territorio.

Da circa due anni sono giunti presso il Ser.D. di Lodi anche pazienti che sono dediti al *chemsex*.

Da un'analisi della narrazione dei pazienti si evince che, questo nuovo modo di sperimentare il sesso avviene per mano del consumo di droghe.

L'obiettivo principale è conseguire un maggiore piacere sessuale e, a tale scopo, le persone fanno uso di stupefacenti.

L'estasi, gli effetti collaterali di una sostanza, la disinibizione o la perdita del controllo favoriscono l'aumento della libido.

In questo modo, l'atto sessuale può amplificarsi o ci si spinge provando pratiche sessuali nuove che, altrimenti, non si realizzerrebbero.

Ma all'origine del fenomeno del "Chemsex" (letteralmente sesso sotto l'effetto di sostanze) c'è sicuramente la tendenza di giovani e non, soprattutto omosessuali, di prolungare il piacere sessuale grazie a un mix di droghe sintetiche che può causare danni enormi al sistema cognitivo.

La maggior parte delle volte questi danni sono irreversibili.

Non pare essere proprio una moda, piuttosto una di quelle autolesionistiche convinzioni che sta cominciando a spopolare in Italia e si sta espandendo un po' lungo tutto lo stivale.

Riassumendo le principali caratteristiche del fenomeno "Chem Sex" sono: il genere di partecipanti maschi omosessuali ma anche bisessuali di età dai 25 ai 30 anni, mix di droghe entactogene e disinibenti quali mefedrone, GHB/GHL, metamfetamina insieme alcune volte alla cocaina e sildenafil (viagra), MDPV (metilenediossiprovalerone), utilizzo di app geolocalizzate specializzate in incontri fra uomini e che servono anche per procurarsi le droghe (le più note Grindr e Bareback), sessioni di lunga durata dai 2/3 ai 5/6 giorni.

Il fenomeno si sta estendendo anche nella popolazione eterosessuale. Diversi pazienti presi in carico presso il Ser.D. di Lodi assumono MDPV.

Il Ruolo del Laboratorio Ospedaliero

Da più due anni continua la collaborazione tra lo SMEL Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia dell'Ospedale di Lodi e il Ser.D., che ha messo a regime il protocollo per la ricerca di sostanze d'abuso sia sui tossicologici urinari che sulla matrice cheratinica nel monitoraggio delle tossicodipendenze.

Dopo aver eseguiti dei test pilota con il metodo VMA-T Comedical per lo screening di quelle più diffuse quali oppiacei, cannabinoidi, amfetamine, metadone, ecstasy, buprenorfina, benzodiazepine e ci si è attrezzati per l'ampliamento alle nuove sostanze psicoattive.

Metodo

L'obiettivo del Ser.D. è quello di assicurare la salute psico-fisica dei pazienti facilitando anche il reinserimento nella società e nel mondo del lavoro.

Vi operano in sinergia medici, infermieri, psicologi, educatori professionali e assistenti sociali sotto la direzione e la responsabilità di un Dirigente Medico, nel rispetto della privacy e del segreto professionale.

Affinché ogni paziente abbia una terapia mirata, l'eventuale consumo recente di sostanze d'abuso viene monitorato su campioni di matrice urinaria raccolti con cadenza regolare e inviati al Laboratorio Analisi dove sono processati.

Il protocollo operativo per la raccolta della matrice per l'esecuzione degli esami tossicologici a valenza medico-legale prevede l'allestimento della Catena di Custodia, procedura atta a garantire la corretta modalità di confezionamento e ad assicurare la non manomissione degli stessi.

Come da linee guida, i campioni vengono sottoposti ad una prima analisi di screening che nel laboratorio viene eseguita con metodica immunoenzimatica (EMIT).

Per i campioni risultati positivi all'analisi in screening viene poi effettuata una seconda analisi di conferma basata su diversi principi analitici che possa fornire un risultato con sensibilità e specificità superiori.

La spettrometria di massa accoppiata alla cromatografia (LC-MS/MS) è la metodica per eccellenza.

In letteratura ormai è noto che alcune molecole sfuggono al dosaggio in screening con metodiche immunoenzimatiche ed è

pertanto necessario eseguire le analisi in LC-MS/MS per identificare la presenza dell'analita di interesse.

Nel saggio immunoenzimatico, infatti, l'eccesso di farmaco può limitare il cross-linking dei complessi antigene-anticorpo, determinando la formazione di immunocomplessi troppo piccoli per essere rilevati dalla strumentazione, con conseguente sotto-stima dell'analita: il fenomeno è conosciuto come effetto prozona. Ci siamo imbattuti proprio nell'effetto prozona in un paziente che aveva assunto elevate quantità di Tramadolo, un oppiaceo sintetico utilizzato come analgesico.

Il medico del Ser.D. aveva richiesto espressamente di dosare la molecola perché il paziente aveva dichiarato di aver ingerito un'ingente quantità di farmaco.

Tuttavia, all'analisi di screening il paziente era risultato negativo agli oppiacei.

Abbiamo deciso di eseguire comunque l'analisi di conferma in LC-MS/MS che ha rilevato la presenza di grandi quantità di farmaco nelle urine.

È stato necessario applicare delle diluizioni seriali del campione urinario iniziale per poter dimostrare la positività del campione agli oppiacei anche nel saggio immunoenzimatico, così da ottenere dei dati congruenti tra l'analisi di screening e l'analisi di conferma.

In particolare, nel *campione n. 1* l'andamento della concentrazione di oppiacei rilevata era crescente in funzione delle diluizioni seriali: nel campione intero la concentrazione era al di sotto del cut-off (300 ng/mL), mentre nelle diluizioni 1:200 e 1:500 la concentrazione aumentava fino a raggiungere i 4000 ng/mL (valore superiore al cut-off).

Il *campione n. 2*, raccolto a una settimana di distanza dal *campione n. 1*, presentava concentrazioni di farmaco al di sotto del cut-off.

Non è stata rilevata la sostanza né nel campione intero, né nelle diluizioni 1:10 e 1:50, mentre nella diluizione 1:100 è stata registrata una concentrazione di 253 ng/mL di oppiacei, quantità comunque inferiore al cut-off.

L'analisi di conferma in LC-MS/MS ha rilevato la presenza del Tramadolo sia nei *campioni n. 1* e *n. 2* indiluiti, sia nei campioni diluiti.

I tempi di ritenzione e i valori di ion ratio forniti dal software strumentale risultavano pressoché costanti per il campione intero, le diluizioni e l'internal standard.

Le concentrazioni di farmaco ottenute nell'analisi in LC-MS/MS del *campione n. 1* si trovavano al di sopra del valore di cut-off di 300 ng/mL: 40190 ng/mL per il campione intero, 4067 ng/mL per il diluito 1:50, 2734 ng/mL per il diluito 1:100.

I valori di ion ratio erano compresi tra 0.8577 e 0.9890.

Le concentrazioni di farmaco ottenute dall'analisi di conferma del *campione n. 2* erano: 58 ng/mL per il campione intero, 5 ng/mL per il diluito 1:50, 1,89 ng/mL per il diluito 1:100. I valori di ion ratio erano compresi tra 0.8956 e 0.9177.

Poiché l'effetto prozona è stato osservato anche in altri campioni raccolti durante il monitoraggio dello stesso paziente, il laboratorio ha deciso di eseguire direttamente l'analisi in LC-MS/MS qualora il Ser.D. richiedesse specificamente la ricerca del farmaco Tramadolo, indipendentemente dal risultato del saggio immunoenzimatico per gli oppiacei.

Lo stesso percorso è stato seguito da altre molecole come l'ossicodone e l'MDPV, che negli ultimi due anni, sono andati ad arricchire il pannello di analiti testati nelle sedute analitiche in spettrometria di massa su matrice urinaria dei campioni medico legali. Oggi vengono acquisite 66 molecole delle 108 disponibili nel pannello del kit.

Questa stretta collaborazione con i medici del Ser.D. fatta di confronti ci permette di monitorare i pazienti in modo sempre più efficace.

Qualora il paziente risultasse positivo ad una sostanza non richiesta in prima battuta, il laboratorista interviene immediatamente con una segnalazione al Responsabile del servizio e alla refertazione ufficiale della sostanza rilevata.

Le analisi di screening per la ricerca di droghe d'abuso riescono ad identificare le sostanze di "vecchia generazione", ma risultano inadeguate per molte delle NSP e dei farmaci assunti in modi "non convenzionali", che così sfuggono alla maggior parte dei controlli tossicologici.

La problematica deve essere affrontata e richiede una rivalutazione nella gestione dell'analisi tossicologica e nel monitoraggio delle tossicodipendenze.

Conclusioni

Gli operatori dei Ser.D. sono sempre più chiamati a fare una diagnosi che non è solo di dipendenza ma, di uso occasionale o di abuso, così come ci indica il nuovo DSM-V.

Diventa sempre più prevalente convalidare protocolli che permettano di confermare il consumo di droghe, e di identificare e quantificare sostanze stupefacenti in varie matrici biologiche. Il riconoscimento analitico delle NSP nei campioni biologici rappresenta quindi, per i laboratori di tossicologia, una problematica di difficile soluzione ma anche una necessità urgente.

A seconda del contesto di applicazione, è evidente che le strategie di analisi che comprendano le NSP e molecole non vadano gestite in maniera differente, anche in ragione della tipologia di campione disponibile.

Nel caso dei catinoni sintetici, si è sperimentalmente verificato come si affaccino all'attenzione del tossicologo una varietà di situazioni che richiedono una considerazione attenta e approfondita ed una proficua collaborazione con il laboratorio ospedaliero. Oltre ai preventivabili casi di falsa negatività in sede di screening, una possibilità di riconoscimento dei catinoni è offerta dalla reattività crociata di molti kit immunometrici per la classe delle amfetamine.

Pertanto, appare necessario l'utilizzo di metodi di conferma che comprendano anche le sostanze di tipo catinonico, in modo che sia possibile identificare con certezza tutti gli stimolanti, sia di vecchia sia di nuova generazione.

Al tempo stesso, anche per i catinonici, è importante verificare anamnesticamente che talune positività non siano ascrivibili al metabolismo di farmaci lecitamente assunti.

Nel caso dei cannabinoidi sintetici, data l'ampia varietà di prodotti e il loro rapido metabolismo, nella maggior parte dei casi incognito, è possibile focalizzarsi sulla ricerca delle sostanze originariamente assunte, a patto che si sviluppino procedure analitiche da applicare su matrici diverse dall'urina, quali sangue o capello, e si traggano ulteriori informazioni su ampie popolazioni di soggetti.

Negli ultimi due anni, si è sempre più evidenziato come una percentuale significativa di soggetti (soprattutto se di sesso maschile, di età inferiore ai 30 anni e se consumatori di prodotti derivati dalla Cannabis) che si sottopongono agli esami per il rilascio o il rinnovo della patente di guida, abbia avuto esperienze di uso saltuario o ripetuto di queste nuove sostanze, talora di una varietà di cannabinoidi sintetici.

La collaborazione in un'ottica di integrazione tra Ser.D. e Laboratorio Ospedaliero continua a lavorare per avvalersi dei vantaggi della matrice cheratinica rispetto all'analisi urinaria quali: l'utente si sottopone ad un esame diagnostico la cui invasività di procedura è pressoché assente, l'alta specificità del test è in grado di determinare una maggiore affidabilità diagnostica con conseguente miglioramento della specificità di trattamento, di-

minuisce la possibilità di esporsi a rischio biologico per l'operatore, modalità di conservazione più semplice e la diminuzione dei carichi di lavoro.

Poiché l'analisi di 1 cm di matrice cheratinica ci da informazioni sull'eventuale assunzione di sostanze d'abuso nell'ultimo mese, il monitoraggio dei pazienti si riduce ad una raccolta mensile e/o bimensile, per la matrice cheratinica, invece delle quattro mensili (1 a settimana) previste per la matrice urinaria.

Questo permette al laboratorio di ridurre il numero di test per ogni singolo paziente e, conseguentemente, di ridurre il numero di sedute analitiche che si potrebbero concentrare in solo due o tre "corse" mensili (della durata di circa sei ore ciascuna) con la gestione ottimale fino a quaranta campioni a seduta.

Si ridurrebbero così, anche i tempi di valutazione e refertazione dei campioni, in conseguenza al numero inferiore di test effettuati.

Inoltre, con questo tipo di analisi, il laboratorio può fornire al proprio Ser.D. uno strumento d'analisi più efficace nel monitoraggio dei pazienti.

L'alta specificità del test è in grado di determinare una maggior affidabilità diagnostica con conseguente miglioramento della specificità di trattamento.

In ragione della finestra analitica descritta precedentemente, i prelievi per la ricerca di sostanze nei pazienti in cura presso il Ser.D. potrebbero essere notevolmente ridotti nel numero e, con essi, i costi relativi.

Questa opportunità, inoltre, favorisce la possibilità che gli specialisti dei Ser.D. possano affinare la modalità di fare diagnosi potendo contare, su metodiche tossicologiche che permettono di evidenziare la presenza di sostanze diverse attraverso la possibilità di poter far ricorso non solo al tossicologico urinario ma anche a quello cheratinico.

Riferimenti bibliografici

- Baumgartner A.M., Jones P.F., Baumgartner W.A., Black C.T. (1979). Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories. *J Nucl Med.*, 20: 748-52.
- Dufaux B., Agius R., Nadulski T., Kahl H.G. (2012). Comparison of urine and hair testing for drugs of abuse in the control of abstinence in driver's license re-granting. *Drug Test Anal.*, Jun, 4(6): 415-19.
- Kintz P., Villain M., Cirimele V. (2006). Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit.*, Jun, 28(3): 442-46.
- Leonardi C., Assi C., Bandini C. et al. (2008). Studio multicentrico nazionale per la valutazione della potenza analitica di un metodo di dosaggio delle sostanze d'abuso in matrice cheratinica. *Mission*, 28: 19-22.
- Linea VMA-T Comedical, Linea di prodotti per l'analisi delle droghe d'abuso nei capelli con tecniche immunometriche di screening. Brochure VMA-T 2010 Comedical s.a.s.
- Linee Guida per la Determinazione di Sostanze Stupefacenti e Psicotrope su Campioni Biologici con Finalità Tossicologico-Forensi e Medico-Legali, Rev. n. 6 del 8 giugno 2022 a cura del Consiglio Direttivo dell'Associazione Scientifica Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (GTFI).
- Lotti A., Gottardi M. (a cura di) (2015). *La matrice cheratinica. Perché è conveniente nei Ser.D.* Milano: CeRCo Edizioni.
- Luginbühl M., Bekaert B., Suesse S. et al. (2019). Detox Shampoos for EtG and FAEE in Hair – Results from in vitro Experiments. *Drug Test Anal.*, Jan 18. doi: 10.1002/dta.2570.
- Pichini S., Pacifici R. (a cura di) (2013). *Linee guida per la determinazione delle sostanze d'abuso nella matrice pilifera.* Istituto Superiore di Sanità Roma.
- Pragst F., Balikova (2006). State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta.*, 370: 17-49.
- Servizio Dipendenze ASST Lodi, sito web, <https://dipendenzelodi.it/> sito.