

🔍 Gli articoli di questa sezione sono sottoposti a referaggio doppiamente cieco (double blind peer review process) e seguono gli standard in uso per le pubblicazioni scientifiche a livello internazionale ed accettati dalle principali banche dati citazionali

# Prospettiva e Valore della matrice Cheratinica nella valutazione dell'utilizzo di Nuove Sostanze Psicoattive nella popolazione che afferisce ai Ser.D.

Concettina Varango\*, Francesca Musarella\*, Mara Cella\*, Antonella Varango\*

## SUMMARY

■ *The world of drugs is changing.*

*The “cannibal” drug (synthetic cathinones), the “zombie” drug (Krokodil), the “madness” drug (Yaba), the “crisis” drug (Sisa), are just some of the new drugs that are making their entry into the world of drugs.*

*While on the one hand the prevalence of cocaine, heroin and amphetamines worldwide has decreased slightly in recent years, on the other hand we are witnessing an “epidemic” spread of new and more powerful psychoactive substances, with the most disparate chemical structure, synthesized at home or in clandestine laboratories, placed on the market, especially online, and advertised as harmless and capable of inducing extremely pleasant effects.*

*The effects are often intense, not always pleasant, in some devastating cases.*

*Better known as NPS (Novel Psychoactive Substances), they represent an emerging problem at an international level, a constantly evolving phenomenon in which new molecules are continuously placed on the market not only to satisfy new requests from consumers but above all to evade the controls that begin to be established in the various countries by updating the relevant legislation.*

*Lacking analytical reference standards (non-existent or not easily available), the intoxications caused by NPS are extremely difficult to recognize, and even more to treat.*

*This article arises from the need to inform a wider public about the danger represented by these substances, to make NPS known to sector operators (laboratory staff, emergency/emergency staff, health workers, researchers, etc.) in order to facilitate the analysis of unknown samples and to disseminate scientific data that are beginning to emerge from clinical and preclinical studies on their toxic and pharmacological effects. ■*

**Keywords:** *Keratin matrix, Novel psychoactive substances.*

**Parole chiave:** *Matrice cheratinica, Nuove sostanze psicoattive.*

## Introduzione

Il mondo delle droghe sta cambiando.

La droga “cannibale” (catinoni sintetici), la droga “zombie” (Krokodil), la droga “della pazzia” (Yaba), la droga “della crisi” (Sisa), sono solo alcune delle nuove droghe che stanno facendo il loro ingresso nel mondo degli stupefacenti.

Se da una parte negli ultimi anni la prevalenza di cocaina, eroina e anfetamine a livello mondiale è in leggero calo, dall'altra si sta assistendo ad una diffusione “epidemica” di nuove e più potenti sostanze psicoattive, con struttura chimica tra le più disparate, sintetizzate a casa o in laboratori clandestini, immesse sul mercato, soprattutto online, e reclamiz-

zate come innocue e in grado di indurre effetti estremamente piacevoli.

Gli effetti sono spesso intensissimi, non sempre piacevoli, in alcuni casi devastanti.

Grazie ai recenti sviluppi nella sintesi a basso costo di prodotti chimici organici, allo scambio di informazioni attraverso social network e forum dedicati (drugs forum) e alle opportunità di marketing attraverso la rete, oggi cannabinoidi e catinoni sintetici, fenetilamine, piperazine, sostanze ketamino- e PCP-simili, triptamine, fentanili, nuovi oppioidi, analoghi azepanici, droghe da stupro (date-rape drugs) sono disponibili su numerosi siti online; queste e molte altre sostanze, non sempre regolamentate, sono quindi legali e facilmente acquistabili anche da minorenni. L'EMCDDA, l'ente preposto al controllo europeo delle nuove sostanze in circolazione, in gergo le chiama NPS (Novel Psy-

\* U.S.C. Dipendenze dell'ASST di Lodi.

choactive substances), un acronimo per indicare tutte le sostanze di abuso, sia in forma pura che in preparazioni, che sfuggono ai controlli delle Nazioni Unite sui narcotici e sulle sostanze psicotrope e che possono pertanto causare conseguenze devastanti per la salute.

Di queste, sono numerose le sostanze che inducono seri disturbi psichiatrici ma anche danni cardiaci, renali e respiratori, spesso e volentieri aggravati dal contemporaneo uso di alcol e altre droghe.

In casi estremi delirio paranoide, allucinazioni, coma, intossicazioni potenzialmente fatali, ma anche aggressività, ipertensione e disturbi cardiovascolari.

L'osservatorio europeo delle droghe ritiene che siano circa 88 milioni (il 25 per cento) i cittadini europei che almeno una volta nella vita hanno fatto uso di sostanze illecite.

Esse rappresentano un problema emergente a livello internazionale, un fenomeno in costante evoluzione in cui nuove molecole vengono continuamente inserite nel mercato non solo per soddisfare nuove richieste da parte dei consumatori ma soprattutto per eludere i controlli che cominciano ad essere istituiti nei vari Paesi attraverso l'aggiornamento della normativa in materia. Mancando standard analitici di riferimento (inesistenti o non facilmente reperibili), le intossicazioni causate dalle NPS risultano estremamente difficili da riconoscere, e ancora di più da trattare. Insieme all'International Narcotics Control Board, che dedica grande attenzione a questa nuova minaccia per la salute pubblica, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce per le droghe dal 2009 esegue un monitoraggio costante della comparsa di NPS in Europa grazie alle segnalazioni provenienti dai suoi centri collaborativi (centri antiveleni, laboratori, tossicologie forensi, Forze dell'Ordine, pronto soccorso), rilevando ad oggi circa 730 nuove sostanze circolanti anche difficilmente rintracciabili nei liquidi biologici con i comuni test tossicologici.

Questo articolo nasce dall'esigenza di informare un più ampio pubblico sul pericolo rappresentato da queste sostanze, far conoscere le NPS agli operatori del settore (personale di laboratorio, personale delle unità di emergenza/urgenza, operatori sanitari, ricercatori, ecc.) al fine di agevolare l'analisi di campioni sconosciuti e divulgare i dati scientifici che cominciano ad emergere da studi clinici e preclinici sui loro effetti tossici e farmacologici.

Ci è sembrato però non solo opportuno ma anche doveroso richiamare l'attenzione su questo mondo sommerso, che sempre più assumere i contorni della punta di un iceberg, e che non a caso trova la sua massima espressione nel "deep web" – quella parte del web che si trova in Internet ma non viene indicizzata dai motori di ricerca.

Si tratta di un fenomeno in costante evoluzione negli ultimi anni che vede aumentare le nuove molecole immesse sul mercato, perché se da una parte cresce la richiesta dei consumatori, dall'altra è più facile così eludere i controlli dei vari Paesi costretti ad aggiornare la normativa in materia.

Impossibile fare studi su sostanze in continua modificazione e di conseguenza è difficile riconoscere le intossicazioni causate dalle NPS e di conseguenza trattarle.

Gli effetti sulla salute fisica e mentale sono estremamente variabili, data la vastità e la diversità delle molecole incluse in questa definizione.

Da un punto di vista farmacologico le NPS sono estremamente eterogenee e le differenze di struttura chimica tra le singole sostanze rendono la predizione degli effetti desiderati e avversi dei rischi per la salute e degli eventuali interventi terapeutici estremamente complessa.

Dal 2009 sono comparsi nel gruppo delle N.P.S., i nuovi oppioidi sintetici, molecole estremamente potenti che comportano una seria minaccia per la salute pubblica.

Si tratta di prodotti dalla notevole potenza (il fentanyl, per esempio, capostipite di questa famiglia, ha un'azione circa 100 volte maggiore rispetto a quella della morfina) che vengono utilizzati sia per sé sia come adulteranti di partite di sostanze classiche, soprattutto eroina, causando scie di decessi per overdose.

## Il traffico illecito

Il traffico di droghe d'abuso e sostanze illecite continua a essere un grave problema sociale; rappresenta inoltre un mercato in continua evoluzione, tra vendite online (nel deep web ma non solo) e nuovi prodotti di sintesi che comprendono un vasto numero di sostanze psicoattive.

Le rotte dei traffici illegali seguono percorsi anche di migliaia di chilometri, toccando Stati diversi prima di raggiungere la destinazione prefissata.

L'UNODC, l'agenzia delle Nazioni Unite per il controllo della droga e la prevenzione del crimine, pubblica ogni anno il World Drug Report, una analisi dettagliata sui traffici e sugli effetti che hanno a livello globale.

Nel 2018 si è registrato un maggior utilizzo e interesse da parte dei giovanissimi (15-24 anni) e degli over 50, con una maggior predisposizione per le sostanze tranquillanti da parte delle donne e di cannabis da parte degli uomini.

## Nuove droghe: lo scenario europeo

Trattandosi però di traffici illegali e dunque clandestini, non è sempre facile capire quanto siano estesi.

I sequestri da parte delle forze dell'ordine ne rappresentano un importante indicatore.

Dai dati raccolti dallo European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, l'agenzia UE di monitoraggio sul consumo e la diffusione delle droghe d'abuso, la cannabis rappresenta, da sola, il 70 per cento dei sequestri effettuati in Europa, in particolare in forma di hashish, ossia la resina della pianta: nel 2016, riporta la Relazione europea sulla droga 2018, sono state sequestrate ben 424 tonnellate di hashish, tre volte i sequestri di cannabis in foglie (la marijuana).

Questo dato è in parte spiegato dal fatto che la resina è per lo più importata dal Marocco, su lunghe distanze e attraverso i confini nazionali, dunque è più facile che venga individuata e sequestrata.

Sempre valutando i sequestri da parte delle forze dell'ordine, qualche buona notizia riguarda l'eroina, l'oppiaceo più diffuso sul mercato degli stupefacenti europeo: tra il 2002 e il 2014, si legge nel report, la quantità di eroina sequestrata in UE è dimezzata, stabilizzandosi nel 2016 a 4,3 tonnellate sequestrate.

Gli altri oppiacei e oppioidi (come la morfina o il metadone) rappresentano solo una piccola parte dei sequestri, sebbene si sia registrato un aumento per quanto riguarda due oppioidi sintetici: il tramadolo, che costituisce il principio attivo di alcuni farmaci antidolorifici, e i derivati del fentanyl, usato in clinica per le anestesie e per il trattamento del dolore.

Questi ultimi destano particolari preoccupazioni perché, come riporta il profilo della sostanza sul sito dello European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, il fentanyl è almeno

80 volte più potente della morfina e il suo uso è già stato associato a diverse morti sia in Europa che negli Stati Uniti.

Sulle droghe stimolanti, invece, i mercati si dividono.

Nei paesi occidentali e meridionali (tra cui Italia, Francia, Spagna e Portogallo) la droga d'abuso più sequestrata è la cocaina, quasi 80 tonnellate nel 2016 (un lieve aumento rispetto al 2015). E di una purezza in continuo aumento dal 2010; in effetti, si legge nel report, quella analizzata nel 2016 è al più alto livello di purezza registrato nell'ultimo decennio.

L'Europa settentrionale e orientale sembra preferire invece amfetamine, metamfetamine e MDMA.

Le prime due sembrano essere prodotte direttamente in Europa per l'uso interno.

Una larga fetta di traffico riguarda poi le nuove sostanze psicoattive, un mercato in perenne fermento.

Solo nel 2017 sono state individuate in Europa 51 nuove sostanze e, se il numero sembra alto, c'è da considerare che ne sono state scoperte un centinaio all'anno nel 2014 e nel 2015.

Non si sa con certezza da cosa dipenda questo calo, ma potrebbero aver contribuito i provvedimenti adottati per vietare i nuovi prodotti e alle misure di controllo attuate in Cina, da cui provengono queste sostanze.

Tra queste si trova un po' di tutto: cannabinoidi sintetici e catinoni sintetici, che da soli rappresentano l'80 per cento dei sequestri di nuove sostanze del 2016, benzodiazepine e oppiacei, sempre sintetici.

In Italia, le sostanze stupefacenti (vegetali e sintetiche) sono elencati nelle tabelle del DPR 309/90 e vengono ritenute tali se agendo a livello del sistema nervoso centrale ne alterano le normali attività provocando ad esempio euforia, alterazione o sonnolenza.

## Metaboliti e marker specifici

L'identificazione delle sostanze d'abuso nei campioni biologici avviene con indagini di laboratorio che possono avere due ambiti di applicazione differenti: clinico-diagnostico e/o medico-legale.

In base al tipo di sostanza ricercata e alla finalità richiesta, si utilizzano campioni biologici differenti.

Il sangue, ad esempio, è la matrice d'elezione per valutare il consumo attuale di una determinata sostanza, mentre per controlli nel lungo periodo, nell'ordine dei mesi, si ricorre all'esame della matrice cheratinica (cioè il capello).

Nell'urina, invece, è possibile ritrovare i metaboliti che confermano l'utilizzo di una sostanza negli ultimi giorni, fino a un massimo di due o tre settimane, a seconda della molecola.

Una persona che viene accompagnata al pronto soccorso, sia da un privato che dalle forze dell'ordine, perché sotto effetto di una sostanza psicotropa, per prima cosa viene visitata dal medico, che effettuerà una diagnosi sulla base dell'aspetto fisico-comportamentale del soggetto, valutando ad esempio la presenza di stati di euforia, alterazione e sonnolenza, difficoltà a rimanere in equilibrio, presenza di pupille dilatate, tremori, vomito e coma. Si esegue quindi un esame del sangue per cercare i marker specifici di sostanze come cannabinoidi, cocaina, oppiacei, amfetamine e droghe sintetiche.

Questo tipo di analisi, definito di screening, non ha valore medico legale ma fornisce informazioni utili agli operatori sanitari in modo che possano adottare un adeguato trattamento terapeutico, specialmente se c'è rischio di overdose.

Se lo screening risulta positivo, comunque, gli esami proseguono.

«Dopo aver adottato misure che garantiscano l'autenticità del campione biologico prelevato, vengono effettuate le indagini di laboratorio sulle varie matrici, sangue, capelli e urina, utilizzando una particolare metodologia, la cromatografia accoppiata alla spettrofotometria di massa, l'unica che dà la garanzia di ottenere, in un periodo di tempo compreso tra i due giorni e la settimana, risultati attendibili ai fini di legge».

Risultare positivi alle sostanze d'abuso con questi esami ha importanti risvolti medico legali, soprattutto in caso di incidenti stradali come previsto dall'articolo 186 e 187 del codice della strada.

Tutti gli accertamenti medico legali seguono una procedura che prende il nome di "catena di custodia" che consente attraverso opportuna modulistica, firme e buste chiuse sigillate, di determinare senza errori che i campioni prelevati, le indagini effettuate, il referto prodotto, siano relativi a quella specifica persona.

## La matrice cheratinica

La Tossicologia forense studia le sostanze, prevalentemente chimiche, che sviluppano azione tossica sull'organismo, applicando metodi specifici di indagine sulla loro natura.

È una branca della medicina legale che, in tempi più recenti, ha acquisito una importanza rilevante.

Proprio per la complessità delle metodiche e delle procedure analitiche, questa tipologia di analisi è di competenze di pochi centri specializzati.

La diagnostica tossicologica infatti per una serie di fattori, anche di natura legislativa, assume sempre più un carattere preventivo oltre che clinico/medico-legale.

I capelli sono la matrice biologica su cui maggiormente si è focalizzato l'interesse della ricerca internazionale in tema di analisi di sostanze stupefacenti.

Il motivo che ha portato ad utilizzare matrici non convenzionali nelle analisi tossicologiche risiede soprattutto nella possibilità di incrementare la finestra di tempo in cui la sostanza d'abuso è rilevabile.

Infatti, se la sostanza d'abuso è rilevabile per alcune ore nel sangue, la stessa lo è per alcuni giorni nell'urina e per alcuni mesi o anni nei capelli; nella parte prossimale del capello, quella cioè vicina alla cute, è possibile rilevare una esposizione temporaneamente vicina al prelievo, mentre spostandosi nella parte distale, alla punta, si determina una esposizione passata. Ricordando inoltre che la velocità di crescita del capello varia da 0,8 a 1,2 cm al mese, con una media intorno ad 1 cm/mese, l'analisi dei segmenti della lunghezza di 1 cm potrebbe fornire, in teoria, l'esposizione avvenuta in ogni singolo mese.

La possibilità di una correlazione tra l'analisi segmentale del capello e l'esposizione mensile può essere problematico a causa di diversi fattori come ad esempio la crescita non sempre costante del capello.

Infatti, ogni bulbo pilifero (e quindi anche del capello) possiede un proprio ciclo di crescita distribuito nel seguente modo: uno stadio di crescita detto *anagen* (l'unico stadio in cui avverrebbe l'incorporazione delle droghe), della durata variabile da 2 a 7 anni, uno stadio intermedio detto *catagen* (2 settimane circa) e uno stadio di riposo detto *telogen* di 3-4 mesi.

Questa crescita irregolare comporta dei limiti teorici nella valutazione del significato della presenza di una droga in un certo punto della intera lunghezza di un capello.

Possiamo quindi concludere che la matrice cheratinica permette con chiarezza l'individuazione della esposizione media negli

ultimi mesi, mentre il rilievo dell'esposizione mensile risulta di più difficile interpretazione.

Tali difficoltà aumentano quando il campione è costituito da peli pubici ed ascellari, che non hanno un ritmo di crescita costante come i capelli; in tal caso una positività alle sostanze stupefacenti, in considerazione del già esposto ciclo del pelo, si ritiene possa essere attribuito ad un periodo compreso nell'anno antecedente al prelievo.

Ricordiamo infine che i markers dell'abuso di droga nella matrice cheratinica possono essere diversi da quelli presenti nelle urine: nel caso della cocaina, nelle urine è presente quasi esclusivamente la benzoilecgonina, mentre nei capelli è la cocaina la sostanza più abbondante (rapporto cocaina - BEG 10:1), lo stesso per la 6-monoacetilmorfina, marker principale dell'assunzione di eroina che si reperta nei capelli, mentre nelle urine è presente il suo metabolita morfina.

Oggi, grazie ai numerosi progressi in campo scientifico, è possibile eseguire indagini tossicologiche su differenti matrici biologiche come sangue, saliva, sudore, urine e capelli che ci permettono di capire se un soggetto ha assunto droghe, quando le ha assunte e per quanto tempo.

L'esame di elezione è sicuramente l'*analisi del capello e dei peli*. È infatti noto ormai da tempo che le sostanze stupefacenti e i loro metaboliti si incorporano nella matrice cheratinica durante il processo metabolico e ivi permangono per lunghi periodi di tempo.

È infatti vero che conoscendo la crescita del capello, che è in media 1 cm al mese e prelevando segmenti noti, si può risalire al periodo di assunzione.

Tale accertamento oltre che essere tra i più affidabili, in quanto si avvale delle più avanzate tecnologie diagnostiche, elimina la possibilità di adulterazione del campione, e permette un prelievo non invasivo nel pieno rispetto della privacy dell'individuo.

L'analisi trova oggi largo impiego per accertamenti medico-legali quali commissione medica per patenti, casi di adozione o per l'acquisizione del porto d'armi, ma sempre più frequentemente arrivano, presso il nostro centro, genitori che vogliono accertare lo stato dei propri figli; infatti il periodo più complicato per i ragazzi è sicuramente l'adolescenza; in questa fascia di età fattori quali noia, curiosità, spirito di emulazione, o il voler apparire più grandi, portano sempre più spesso i nostri figli a contatto con la droga.

## **L'Importanza della ricerca su matrice cheratinica delle NPS**

Le Nuove Sostanze Psicoattive (NPS, *New Psychoactive Substances*) sono un eterogeneo ed esteso gruppo di molecole di natura sintetica, caratterizzate da proprietà farmaco-tossicologiche particolarmente pericolose per la salute dei consumatori.

La diffusione delle NPS è un fenomeno che sta assumendo dimensioni sempre più imponenti sia su scala mondiale che nazionale (in Italia sono già stati identificati circa 70 casi di intossicazione acuta correlati all'assunzione di NPS, con conseguente accesso dei soggetti nei reparti di pronto soccorso).

Dal 2009 il Sistema Nazionale di Allerta Precoce per le droghe esegue un monitoraggio costante per controllare la comparsa e la diffusione sul territorio italiano delle NPS e, ad oggi, sono state identificate circa 360 nuove sostanze psicoattive, tra le quali si ricordano i cannabinoidi sintetici ed i catinoni, le fenetilammine, le piperazine, le triptamine, ecc.

Tali nuove sostanze rappresentano, per i laboratori di Tossicologia Forense, una rinnovata sfida scientifica, poiché le analisi da espletare non possono più essere circoscritte solo alle categorie chimico-farmacologiche di interesse predefinito, ma devono essere in grado di indagare un numero elevato di sostanze in costante e rapido aumento.

Le difficoltà di caratterizzazione analitica delle NPS risiedono non solo nella mancanza di standard analitici di riferimento (inesistenti o non facilmente reperibili), ma anche nella scarsa disponibilità di letteratura specialistica e di metodi di riferimento e, non da ultimo, nella limitata diffusione di metodologie ad oggi disponibili idonee a questo scopo.

È ormai noto come negli ultimi anni si stia assistendo all'introduzione sempre più massiccia sul mercato di una nuova gamma di prodotti che mimano gli effetti delle droghe d'abuso tradizionali.

La grandissima maggioranza di queste nuove sostanze psicoattive (NSP) sono riconducibili a due classi principali: i cannabinoidi sintetici e i catinoni sintetici.

Entrambe annoverano svariati composti che, attraverso piccole modifiche della struttura chimica e della procedura di sintesi, rendono complessi i controlli di laboratorio e ritardano la loro stessa inclusione fra le sostanze di consumo illecito.

I cannabinoidi sintetici, talvolta venduti su internet o negli smart shops come incensi o profumatori ambientali, rappresentano le NSP più diffuse a livello mondiale, al punto che sono stati già riportati numerosi casi di intossicazione, anche sul territorio italiano. Analogamente, i catinoni sintetici vengono distribuiti sul mercato on-line e spesso camuffati come sali da bagno o fertilizzanti, ma sono in realtà assunti dall'utilizzatore, per lo più per via nasale, in virtù dell'elevata azione stimolante.

Anche per i catinoni sintetici gli effetti collaterali a livello neurologico e cardiovascolare possono essere estremamente critici.

La difficoltà di riconoscimento analitico delle NSP nei campioni biologici limita drammaticamente la possibilità di comprendere la reale diffusione di questi composti sul territorio, così come la relazione tra utilizzo di NSP e incidenti stradali o sul lavoro.

Tale difficoltà è dovuta alla molteplicità delle loro strutture chimiche, alla scarsa disponibilità degli standard puri di riferimento, in particolare dei metaboliti; alla scarsa disponibilità e rapida obsolescenza di kit immuno-chimici con cui eseguire screening ad ampio spettro, alla rapida biotrasformazione di gran parte delle NSP, per cui spesso i loro metaboliti da ricercare nelle urine non sono noti.

Di conseguenza, almeno per i cannabinoidi sintetici, la possibilità di effettuare analisi di screening appare limitata, sia mediante tecniche immunochimiche sia mediante LC-MS/MS. Diversamente, la ricerca delle NSP in altre matrici biologiche, quali sangue o capello, appare meno problematica, in quanto vi si possono ricercare le sostanze assunte anziché i loro metaboliti.

In questi casi, la strategia analitica è altresì facilitata dalla più ampia disponibilità di standard analitici, nonché dalla possibilità di aggiornare i metodi analitici inserendo le nuove sostanze progressivamente introdotte sul mercato.

Gli ambiti di intervento nei quali appare più urgente che i laboratori di tossicologia forense applichino un'adeguata strategia analitica per la determinazione delle NSP, sono essenzialmente tre.

Nei controlli svolti nel contesto dell'incidentalità stradale, l'assenza di dispositivi di screening "on-site" rende impraticabile la possibilità di accertamento da parte delle Forze dell'Ordine; è pertanto necessario che i campioni biologici vengano inviati ai laboratori di analisi tossicologica che sono attrezzati a ricercare

anche le NSP (quantomeno quelle già segnalate e più diffuse sul territorio nazionale), e che non si limitano alla ricerca delle sole sostanze stupefacenti tradizionali e dell'etanolemia.

Il secondo ambito di interesse è quello lavorativo, dove il D.L. 81 del 9/4/2008 ha reso obbligatori i controlli periodici mirati al riconoscimento dell'uso di sostanze stupefacenti sui lavoratori che eseguano mansioni che comportano rischi nei confronti di soggetti terzi. Benché le sostanze da ricercare sulla matrice urinaria, secondo specificazione di legge, siano quelle tradizionali, emerge progressivamente il riconoscimento della possibilità che i soggetti assuntori dismettano l'uso delle sostanze notoriamente ricercate, per passare al consumo delle NSP, al fine di non risultare positivi ai controlli.

Il terzo campo in cui i laboratori di tossicologia forense sono chiamati a cimentarsi è quello degli esami eseguiti su soggetti che vogliono ottenere il rinnovo o il reintegro della patente di guida, di competenza specifica delle Commissioni Mediche Locali.

In questi casi, anche se spesso gli esami su urina sono ancora parte del protocollo accertativo, l'attenzione è focalizzata sulla matrice cheratinica.

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

L'analisi della matrice cheratinica consente invece la determinazione dei cannabinoidi sintetici, non biotrasformati, conseguente ad un consumo reiterato nel tempo.

Altro metodo quindi sviluppato e validato è basato sulla UHPLC-MS/MS per la ricerca di cannabinoidi sintetici.

## Conclusioni

A livello mondiale si sta assistendo ad una diffusione "epidemic" di nuove e più potenti sostanze psicoattive, con struttura chimica tra le più disparate, sintetizzate a casa o in laboratori clandestini, immesse sul mercato, soprattutto online, e reclamizzate come innocue e in grado di indurre effetti estremamente piacevoli.

Gli effetti sono spesso intensissimi, non sempre piacevoli, in alcuni casi devastanti.

Grazie ai recenti sviluppi nella sintesi a basso costo di prodotti chimici organici, allo scambio di informazioni attraverso social network e forum dedicati (drugs forum) e alle opportunità di marketing attraverso la rete, oggi cannabinoidi e catinoni sintetici, fenetilamine, piperazine, sostanze ketamino- e PCP-simili, triptamine, fentanili, nuovi oppioidi, analoghi azepanici, droghe da stupro (date-rape drugs) sono disponibili su numerosi siti online; queste e molte altre sostanze, non sempre regolamentate, sono quindi legali e facilmente acquistabili anche da minorenni. Meglio note come NPS (Novel Psychoactive Substances), esse rappresentano un problema emergente a livello internazionale, un fenomeno in costante evoluzione in cui nuove molecole vengono continuamente inserite nel mercato non solo per soddisfare nuove richieste da parte dei consumatori ma soprattutto per eludere i controlli che cominciano ad essere istituiti nei vari Paesi attraverso l'aggiornamento della normativa in materia.

Mancando standard analitici di riferimento (inesistenti o non facilmente reperibili), le intossicazioni causate dalle NPS risultano estremamente difficili da riconoscere, e ancora di più da trattare. Insieme all'International Narcotics Control Board, che dedica grande attenzione a questa nuova minaccia per la salute pubbli-

ca, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce per le droghe dal 2009 esegue un monitoraggio costante della comparsa di NPS in Europa.

Le difficoltà nello sviluppare adeguati protocolli di screening per le nuove sostanze psicoattive (NSP) limitano l'efficacia di molti dei controlli che ricoprono un ruolo fondamentale nell'attività di tutela della sicurezza pubblica, primi fra tutti quelli svolti nel contrasto dell'incidentalità stradale e sui lavoratori che svolgono mansioni a rischio per i soggetti terzi.

Ne deriva una scarsa comprensione della reale diffusione delle NSP sul territorio, ma anche una carente identificazione di soggetti che dismettano l'uso delle sostanze stupefacenti notoriamente ricercate, per passare al consumo di questi nuovi prodotti illeciti.

Il riconoscimento analitico delle NSP.

Nei campioni biologici rappresenta quindi, per i laboratori di tossicologia forense, 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 vadano gestite in maniera differente, anche in ragione della tipologia di campione disponibile.

Nel caso dei catinoni sintetici, si affacciano all'attenzione del tossicologo forense una varietà di situazioni che richiedono una considerazione attenta e approfondita.

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 immuno-metrici 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.

Nello scenario cambiato delle sostanze non ci si può non interrogare che esista una percentuale significativa di soggetti 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.

Appare quindi urgente che i laboratori si dotino di metodiche aggiornate che includano le NSP, in modo da rendere più efficaci gli ambiti principali di intervento della tossicologia forense.

Diventerà sempre più importante il ricorso all'esame su matrice cheratinica nei Ser.D. perché il razionale ed il vantaggio rispetto all'esame urinario consiste nel: sottoporre la persona assistita ad un esame diagnostico la cui invasività di procedura è pressoché assente; l'operatore ha la sicurezza dell'appartenenza del campione biologico; la possibilità di alterare il campione sembra essere molto difficile, nonostante la letteratura segnali negli ultimi anni la presenza sul mercato on line di shampoo in grado di adulterarlo.

L'alta specificità del test è in grado di determinare una maggior affidabilità diagnostica con conseguente miglioramento della specificità di trattamento; diminuisce la possibilità di esporsi a rischio biologico per l'operatore; modalità di conservazione più semplice e diminuzione dei carichi di lavoro.

## Bibliografia

- 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.
- Cooper G.A., Kronstrand R., Kintz P. (2012). Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic Sci Int*, May 10, 218(1-3): 20-4. Epub 2011 Nov 15. PubMed PMID: 22088946.
- 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): 415-9.
- EMCDDA (2015). Europol Joint Report on a new psychoactive substance: 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone ( $\alpha$ -PVP). *EMCDDA*, September.
- Friguls B., Joya X., Garcia-Serra J., Gómez-Culebras M., Pichini S., Martínez S., Vall O., Garcia-Algar O. (2012). Assessment of exposure to drugs of abuse during pregnancy by hair analysis in a Mediterranean island. *Addiction*, Aug, 107(8): 1471-9. doi: 10.1111/j.1360-0443.2012.03828.x. Epub 2012 May 8. PubMed PMID: 22296208.
- 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 matrici cheratiniche. *Mission*, 28: 19-22.
- Linea VMA-T Comedical (2010). *Linea di prodotti per l'analisi delle droghe d'abuso nei capelli con tecniche immunometriche di screening*. Brochure VMA-T Comedical s.a.s.
- Lotti A., Gottardi M. (a cura di) (2015). *La matrice cheratinica. Perché è conveniente nei Ser.D*. Milano: Ce.R.Co 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.
- Joya X., Friguls B., Ortigosa S., Papaseit E., Martínez S.E., Manich A., Garcia-Algar O., Pacifici R., Vall O., Pichini S. (2012). Determination of maternal-fetal biomarkers of prenatal exposure to ethanol: a review. *J Pharm Biomed Anal*, Oct, 69: 209-22. Epub 2012 Jan 16. PubMed PMID: 22300909.
- Joya X., Papaseit E., Civit E., Pellegrini M., Vall O., Garcia-Algar O., Scaravelli G., Pichini S. (2009). Unsuspected exposure to cocaine in preschool children from a Mediterranean city detected by hair analysis. *Ther Drug Monit*, Jun, 31(3): 391-5. PubMed PMID: 19333147.
- Kintz P. (2007). Bioanalytical procedures for detection of chemical agents in hair in the case of drug-facilitated crimes. *Anal Bioanal Chem*, Aug, 388(7): 1467-74. Epub 2007 Mar 6. Review. PubMed PMID: 17340077.
- Kintz P. (2010). Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption 2009. *Forensic Sci Int*, Mar 20, 196(1-3): 2. Epub 2010 Jan 8. PubMed PMID: 20060250.
- Kintz P. (1998). Hair testing and doping control in sport. *Toxicol Lett*, Dec 28, 102-103: 109-13. Review. PubMed PMID: 10022241.
- Kintz P., Villain M., Cirimele V. (2006). Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit*, Jun, 28(3): 442-6. Review. PubMed PMID: 16778731.
- Kintz P. (2004). Value of hair analysis in postmortem toxicology. *Forensic Sci Int*, Jun 10, 142(2-3): 127-34. Review. PubMed PMID: 15172076.
- Kintz P., Villain M., Cirimele V. (2006). Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit*, Jun, 28(3): 442-6.
- Llaquet H., Pichini S., Joya X., Papaseit E., Vall O., Klein J., Garcia-Algar O. (2010). Biological matrices for the evaluation of exposure to environmental tobacco smoke during prenatal life and childhood. *Anal Bioanal Chem*, Jan, 396(1): 379-99. Epub 2009 May 24. Review. PubMed PMID: 19466395.
- Morini L., Varango C., Filippi C., Rusca C., Danesino P., Cheli F., Fusini M., Iannello G., Groppi A. (2011). Chronic excessive alcohol consumption diagnosis: comparison between traditional biomarkers and ethyl glucuronide in hair, a study on a real population. *Ther Drug Monit*, Oct, 33(5): 654-7. PubMed PMID: 21912328.
- Morini L., Politi L., Acito S., Groppi A., Poletti A. (2009). Comparison of ethyl glucuronide in hair with carbohydrate-deficient transferrin in serum as markers of chronic high levels of alcohol consumption. *Forensic Sci Int*, July 188(1-3): 140-3. Epub 2009 May 1. PubMed PMID: 19410394.
- Morini L., Politi L., Poletti A. (2009). Ethyl glucuronide in hair. A sensitive and specific marker of chronic heavy drinking. *Addiction*, Jun, 104(6): 915-20. Epub 2009 Apr 9. PubMed PMID: 19392911.
- Pichini S., De Luca R., Pellegrini M., Marchei E., Rotolo M.C., Spoletini R., D'Aloja P., Pacifici R., Mortali C., Scaravelli G. (2012). Hair and urine testing to assess drugs of abuse consumption in couples undergoing assisted reproductive technology (ART). *Forensic Sci Int*, May 10, 218(1-3): 57-61. Epub 2011 Oct 20. PubMed PMID: 22018744.
- Pichini S., Poudevida S., Pujadas M., Menoyo E., Pacifici R., Farré M., de la Torre R. (2006). Assessment of chronic exposure to MDMA in a group of consumers by segmental hair analysis. *Ther Drug Monit*, Feb, 28(1): 106-9. PubMed PMID: 16418703.
- Pichini S., Ventura M., Pujadas M., Ventura R., Pellegrini M., Zuccaro P., Pacifici R., de la Torre R. (2004). HAIRVEQ: an external quality control scheme for drugs of abuse analysis in hair. *Forensic Sci Int*, Oct 29, 145(2-3): 109-15. PubMed PMID: 15451081.
- Pichini S., Zuccaro P., Pellegrini M., Lopez A., Pacifici R. (2000). Analysis of drugs and abuse substances in the keratinic matrix. *Ann Ist Super Sanita*, 36(1): 17-27. Review. Italian. PubMed PMID: 11070605.
- 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.
- Politi L., Morini L., Leone F., Poletti A. (2006). Ethyl glucuronide in hair: Is it a reliable marker of chronic high levels of alcohol consumption? *Addiction*, Oct, 101(10): 1408-12. PubMed PMID: 16968341.
- Polla M., Stramesi C., Pichini S., Palmi I., Vignali C., Dall'Olio G. (2009). Hair testing is superior to urine to disclose cocaine consumption in driver's licence regranting. *Forensic Sci Int*, Aug 10, 189(1-3): e41-3. Epub 2009 May 15. PubMed PMID: 19446971.
- Pragst F., Auwaerter V., Sporkert F., Spiegel K. (2001). Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci Int*, Sep 15, 121(1-2): 76-88.
- Pragst F. (2006). Balikovama. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta*, 370: 17-49.
- Pujadas M., Pichini S., Poudevida S., Menoyo E., Zuccaro P., Farré M., de la Torre R. (2003). Development and validation of a gas chromatography-mass spectrometry assay for hair analysis of amphetamine, methamphetamine and methylenedioxy derivatives. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, Dec 25, 798(2): 249-55. PubMed PMID: 14643504.
- Relazione Europea sulla droga. Tendenze e sviluppi. L'osservatorio europeo delle droghe, 2018.
- Report off International Narcotics Control Board on the Availability of Internationally Controlled Drugs: Ensuring Adequate Access for Medical and Scientific Purposes, 2011.
- Society of Hair Testing, Cooper G., Moeller M., Kronstrand R. (2008). Current status of accreditation for drug testing in hair. *Forensic Sci Int*, Mar 21, 176(1): 9-12. Epub 2007 Nov 19. PubMed PMID: 18024039.
- Umani Ronchi F. (2006). Analisi tossicologica dei capelli: stato dell'arte e considerazioni operative. *Biochimica clinica*, 30(2): 148-154.