

# INDICE

1.	ANALISI DELLA MATRICE CHERATINICA: VALUTAZIONE DELLA COMPLIANCE NEI PAZIENTI EX- TOSSICODIPENDENTI	
1.1	LE SOSTANZE STUPEFACENTI.....	Pag. 3
1.1.1	ANFETAMINE.....	Pag. 5
1.1.2	COCAINA.....	Pag. 6
1.1.3	CANNABINOIDI.....	Pag. 7
1.1.4	OPPIACEI.....	Pag. 9
1.2	LE INDAGINI TOSSICOLOGICHE-FORENSI.....	Pag. 11
1.3	DETERMINAZIONE DELLE SOSTANZE D'ABUSO IN MATRICI BIOLOGICHE.....	Pag. 13
1.3.1	URINA.....	Pag. 13
1.3.2	SANGUE.....	Pag. 15
1.3.3	SALIVA E SUDORE.....	Pag. 15
1.3.4	CAPELLO.....	Pag. 15
1.4	DROGHE E LAVORO.....	Pag. 20
1.5	DIAGNOSI DI TOSSICODIPENDENZA.....	Pag. 23
1.5.1	INDICATORI CLINICI.....	Pag. 25
1.5.2	ABUSO/TOSSICODIPENDENZA E COMORBILITA' PSICHIATRICA.....	Pag. 27
1.6	TECNICHE ANALITICHE PER LA DETERMINAZIONE DI XENOBIOTICI NELLA MATRICE CHERATINICA.....	Pag. 29
1.6.1	MODALITA' DI RACCOLTA DEL CAMPIONE.....	Pag. 29
1.6.2	LAVAGGIO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE.....	Pag. 29
1.6.3	DIGESTIONE DELLA MATRICE CHERATINICA E ESTRAZIONE DEGLI ANALITI.....	Pag. 30

1.6.4	STANDARD INTERNO E CURVE DI CALIBRAZIONE.....	Pag. 31
1.6.5	METODI CROMATOGRAFICI.....	Pag. 32
1.7	I SUPPORTI FARMACOLOGICI NELLA TOSSICODIPENDENZA...Pag.	37
1.7.1	METADONE.....	Pag. 37
1.7.2	BUPRENORFINA.....	Pag. 45
1.8	L'INSUCCESSO TERAPEUTICO.....	Pag. 47
1.8.1	VALUTAZIONE DELLA COMPLIANCE.....	Pag. 48
2.	DISCUSSIONE.....	Pag. 60
3.	BIBLIOGRAFIA.....	Pag. 62

# RIASSUNTO

Negli ultimi anni l'analisi della matrice cheratinica viene utilizzata routinariamente come strumento per determinare l'uso pregresso di farmaci, sostanze d'abuso e più in generale di xenobiotici in tossicologia clinica, tossicologia forense e medicina sociale. In particolare la ricerca di farmaci e sostanze stupefacenti nei capelli può essere richiesta in caso di: morti correlate all'uso di farmaci e/o sostanze d'abuso, monitoraggio terapeutico, valutazione della inidoneità alla guida, responsabilità criminale, affidamento della custodia di minori, esposizione prenatale a farmaci e sostanze d'abuso.

In questa tesi si vuole sottolineare il ruolo dell'analisi del capello nel valutare il grado di affidabilità dei pazienti ex tossicodipendenti nei confronti delle terapie farmacologiche proposte e nel controllo di eventuali recidive nell'utilizzo di sostanze illecite.

Presso il Laboratorio di Tossicologia dell'Ospedale di Como sono state analizzate le matrici cheratiniche di 20 pazienti provenienti dai Ser.T della provincia; la metodologia analitica utilizzata per la determinazione di farmaci e sostanze d'abuso è l'HPLC associata alla Spettrometria di Massa a triplo quadrupolo. Tale analisi è di aiuto al clinico sia esso psichiatra, medico del Ser.T o medico del lavoro, che ha la possibilità di confrontare con un dato analitico ciò che valuta clinicamente in maniera soggettiva. La finalità del dato ottenuto è molteplice: evidenziare la scarsa affidabilità della matrice urinaria per il monitoraggio dei pazienti in trattamento con metadone, spesso "abili adulteratori", avere un dato analitico che evidenzia la non adesione alla terapia e l'instaurazione di un miglior rapporto tra Ser.T e laboratorio.

# **1. ANALISI DELLA MATRICE CHERATINICA: VALUTAZIONE DELLA COMPLIANCE NEL PAZIENTE EX-TOSSICODIPENDENTE**

## ***1.1 LE SOSTANZE STUPEFACENTI***

La tossicologia forense è la branca della tossicologia analitica che si occupa del riconoscimento di agenti che possono causare un'intossicazione e della loro determinazione quantitativa con particolare riguardo per le sostanze stupefacenti.

Nella legislazione vigente non è contenuta un'espressa definizione di "sostanza stupefacente"; soltanto gli articoli 13 e 14 del DPR 309/90 indicano i criteri fondamentali attraverso cui il Ministero della Sanità congiuntamente al Ministro di Grazia e Giustizia, sentito l'Istituto Superiore di Sanità e il Consiglio Superiore di Sanità, devono provvedere a formare le sei tabelle contenenti la relativa elencazione.

Gli artt. 13 e 14 del DPR 309/90 stabiliscono che le sostanze devono essere ripartite in sei tabelle ed ogni sostanza, al fine di essere iscritta in una tabella, deve essere identificata ed avere differenti caratteristiche rispetto alle altre. Tali tabelle sono sottoposte a continuo aggiornamento ed aperte all'inserimento di nuove sostanze assunte a scopo voluttuario, provenienti sia dalla ricerca farmacologica ufficiale, sia dal mondo tecnologico clandestino.

Nelle tabelle I e III sono ricomprese le droghe pesanti, quelle che producono effetti sul sistema nervoso centrale e che determinano una dipendenza fisica e/o psichica nell'assuntore (es. l'oppio e i suoi derivati, le foglie di coca ed i suoi alcaloidi, le anfetamine ad azione eccitante sul sistema nervoso, il tetraidrocannabinolo, i barbiturici ad alto effetto ipnotico e sedativo). Le tabelle II e IV comprendono le così dette "droghe leggere", caratterizzate dalla generabilità di dipendenza fisica e/o psichica minore rispetto a quella derivante dalle sostanze elencate nella I<sup>a</sup> e III<sup>a</sup> tabella. Nelle tabelle V e VI sono infine elencati alcuni prodotti usati per fini terapeutici, in quanto contenendo alcune sostanze comprese nelle tabelle precedenti, possono creare pericolo d'abuso e conseguente assuefazione; tra questi ricordiamo gli ansiolitici, gli antidepressivi e gli psicostimolanti (*Zizzoli U. and Pissacroia M., 2002*).

Nella terminologia comune per *droga* si intende una sostanza psicoattiva i cui effetti farmacologici sul sistema nervoso centrale sono in grado di modificare lo stato psicofisico di chi la assume. Quando si parla di consumo di droga, solitamente ci si riferisce all'abuso, cioè ad un uso voluttuario, sistematico e non terapeutico delle sostanze psicoattive, che porta ad alterazioni del comportamento o a disagio clinicamente significativo e al manifestarsi, entro un periodo di 12 mesi, di almeno una delle condizioni seguenti:

- uso ricorrente della sostanza risultante in una incapacità di adempiere ai principali compiti connessi con il ruolo sul lavoro, a scuola o a casa;
- uso della sostanza in situazioni fisicamente rischiose (es. alla guida dell'auto o durante mansioni a rischio);
- ricorrenti problemi legali correlati all'uso della sostanza;
- persistenti o ricorrenti problemi sociali o interpersonali causati o esacerbati dagli effetti della sostanza (DSM IV).

Con il termine di tossicodipendenza si intende invece l'incapacità di mantenere uno stato accettabile di benessere fisico e mentale senza il ricorso alla droga (*Silvestrini B., 2002*). E' necessario precisare che il termine si riferisce all'uso compulsivo di una sostanza e indica nel suo insieme la completa sindrome da dipendenza psicofisica come definita nel DSM IV.

L'OMS definisce la dipendenza psichica come "un sentimento di bisogno assoluto e la tendenza psicologica che richiede una somministrazione periodica o continuativa della droga per produrre l'effetto desiderato o per evitare disagio".

La dipendenza fisica, invece, è caratterizzata dal fatto che l'interruzione della periodica assunzione di una sostanza stupefacente, oltre al disagio psicologico, provoca la cosiddetta "crisi di astinenza", cioè una serie di disturbi fisici dovuti ad un alterato stato fisiologico collegato ad una acquisita esigenza biochimica dell'organismo. Questa frequente e reiterata assunzione può anche indurre tolleranza, che consiste nella necessità di aumentare la dose, o posologia, per ottenere lo stesso effetto conosciuto in precedenza, a causa dell'attivazione delle vie metaboliche.

Bisogna comunque ricordare che la dipendenza fisica e la tolleranza, che rientrano tra i criteri diagnostici del DSM IV, non sono fenomeni esclusivi della tossicodipendenza; infatti anche l'uso corretto di farmaci per la terapia del dolore, per l'ansia o per l'ipertensione può indurre tolleranza e dipendenza fisica, che costituiscono meccanismi di normale adattamento fisiologico all'uso ripetuto di una sostanza; essa può essere una sostanza di uso farmacologico, appartenente a diverse categorie, oppure una sostanza d'abuso (*O'Brien CP., 1997*).

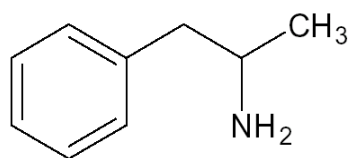
### 1.1.1 Anfetamine

Le amfetamine sono sostanze di origine sintetica ad azione stimolante sul S.N.C. che agiscono sulla regolazione del sonno, dell'umore, dell'appetito e appartengono al gruppo delle ammine simpaticomimetiche (Baccini C., 1990).

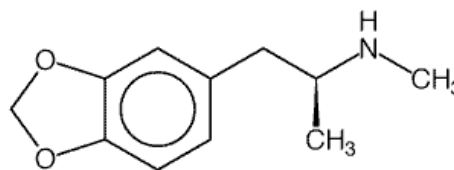
L'amfetamina può essere assunta per via intranasale, per via endovenosa o per via orale.

La metamfetamina è assunta per via orale, ma anche fumata utilizzando le pipe e assunta per endovena; la somministrazione per fumo ed endovena provoca una rapida dipendenza psicologica.

Gli analoghi metilendiossi dell'amfetamina includono la 3,4-metilendiossi-amfetamina (MDA), la 3,4-metilendiossimetilamfetamina (MDMA) e la 3,4-metilendiossi-etilamfetamina (MDEA). (Bertol E. et al., 2000).



Amfetamina



MDMA  
(Metilendiossimetilamfetamina)

Attualmente si ritiene che l'attività dell'amfetamina e delle sostanze amfetamino-simili si realizzi attraverso molteplici azioni:

- inibizione delle monoamminossidasi (MAO)
- azione diretta sul rilascio di noradrenalina e dopamina dalle terminazioni nervose
- blocco del reuptake delle catecolamine dal vallo sinaptico
- azione diretta sui recettori adrenergici e dopaminergici

Gli effetti possono essere divisi in:

- Effetti psichici: aumento delle energie, diminuzione della percezione di fatica, aumento dello stato di vigilanza e dell'autostima, loquacità, irritabilità, agitazione, perdita dell'appetito, manie persecutorie, deliri persecutori. L'uso cronico può determinare un deterioramento mentale.
- Effetti fisici: tremori, agitazione motoria, midriasi, insonnia, tachicardia con palpitazioni, ipertensione, iperpiressia.

Nell'uomo l'assorbimento delle amfetamine somministrate per via orale è rapido, il picco plasmatico si raggiunge in circa 2 ore e l'emivita è intorno alle 6-7 ore.

La maggior parte delle amfetamine viene escreta per via renale in forma parzialmente immodificata insieme a metaboliti idrossilati o deaminati.

La più importante via di metabolizzazione è la N-dealchilazione, una reazione ossidativa, catalizzata dal sistema del citocromo P-450, che porta alla formazione di MDA quale principale metabolita dell'MDMA e dell'MDEA.

L'escrezione urinaria dipende fortemente dal pH: aumenta nelle urine acide (circa il 70% delle amfetamine vengono escrete nelle prime 24 ore e circa il 90% durante i primi 4 giorni) e diminuisce nelle urine basiche (il 45% nelle prime 24 ore e il 70% entro 5 giorni dall'assunzione) (*Goodman & Gilman., 2000*).

### **1.1.2 Cocaina**

La cocaina è una sostanza alcaloide estratta dalle foglie di *Erythroxylon coca*, una pianta originaria delle Ande.

La cocaina può essere assunta in tre modi: per via nasale (in forma di sale cloridrato), per via endovena oppure per via inalatoria fumata sotto forma di base libera ("crack"), che si ottiene per alcalinizzazione del sale ed estrazione con solventi non polari.

La cocaina si lega ai trasportatori della ricaptazione della dopamina nel sistema nervoso centrale, inibendo il reuptake sia della dopamina sia dell'adrenalina. Uno dei sistemi neurali più interessato dall'azione della cocaina trova origine in una regione molto profonda del cervello chiamata "area ventrale del tegmento"(AVT), i cui neuroni si estendono al "Nucleus accumbens", una delle aree chiave del piacere nel cervello.

Gli effetti a breve termine si manifestano con eccitazione, forte stimolazione sessuale, potenziamento delle capacità mentali, diminuzione del senso di fatica, dilatazione delle pupille, vasocostrizione, aumento della temperatura corporea e del ritmo cardiaco, nonché la riduzione della percezione del rischio che può originare comportamenti pericolosi per il consumatore stesso e per la salute di terzi.

La cocaina è assorbita rapidamente da tutti i siti di applicazione comprese le mucose, il tratto gastrointestinale e i polmoni. E' inattivata sia nel plasma sia nel fegato e solo piccole quantità sono escrete immodificate.

Per via orale la cocaina cloridrato è assorbita lentamente e in misura incompleta (circa il 25%), inoltre il farmaco raggiunge l'encefalo molto lentamente, venendo quindi meno la sensazione di "rush" che si ha per altre vie di somministrazione. Inalata sottoforma di polvere,

la cocaina cloridrato attraversa scarsamente le mucose: solo il 20-30% del farmaco è assorbito ed i livelli plasmatici raggiungono il massimo entro 30-60 minuti.

Quando la cocaina base libera è vaporizzata e fumata, l'assorbimento è rapido e pressoché completo; gli effetti sono immediati e questi persistono per 5-10 minuti. Soltanto il 6-32% circa della quantità iniziale raggiunge il plasma, il resto va incontro a pirolisi prima dell'inalazione.

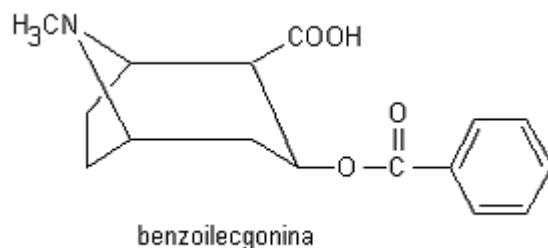
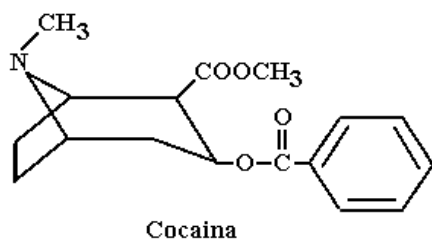
Con l'iniezione endovenosa la cocaina salta tutte queste barriere e il farmaco entra subito in circolo, con un conseguente effetto immediato.

La cocaina ha un'emivita biologica di 30-90 minuti ed è quasi completamente metabolizzata dalle colinesterasi presenti sia nel plasma che nel fegato (*Faccio M. and Serpelloni G.*).

Il metabolita principale è il composto inattivo benzoilecgonina (BE), che può essere ritrovato nell'urina per circa 3 giorni e molto a lungo (15-22 giorni) nei consumatori cronici. Altro metabolita inattivo è l'ecgoninametilestere (EME) e solo una piccola quantità di cocaina è metabolizzata ad un intermedio attivo, la norcocaina.

La rivelazione di benzoilecgonina nell'urina, comunque costituisce la base per l'accertamento dell'utilizzo di cocaina.

L'uso di cocaina inoltre, associato al consumo di alcool porta alla formazione del cocaetilene, un metabolita attivo, che è eliminato più lentamente della cocaina e ciò determina problemi di accumulo ed una maggiore tossicità. (*Quaglio G. et al., 2004.*)



### ***1.1.3 Cannabinoidi***

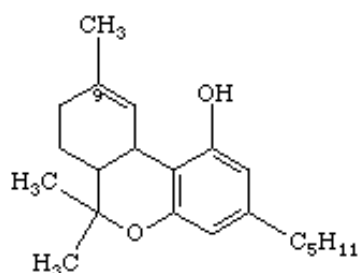
Nella cannabis sono stati individuati oltre 60 tipi di cannabinoidi, di cui i più rappresentativi sono: il cannabigerolo (CBG), il cannabicromene (CBC), il cannabidiolo (CBD), il  $\Delta$ 9-tetraidrocannabinolo (THC),  $\Delta$ 8-THC, ed il cannabinolo (CBN).

Il  $\Delta$ 9-THC è in larga parte responsabile degli effetti farmacologici e delle proprietà psicoattive della cannabis. (*Baccini C., 1990.*)



L'azione dei cannabinoidi è mediata dal legame con specifici recettori (CB) appartenenti al sistema cannabinergico, sistema legato alla presenza di endocannabinoidi (anandamide, 2-arachidonoilglicerolo, 2-arachidonil-gliceril-etero, virodamina, N-arachidonoildopamina), ai quali è stato attribuito fisiologicamente un ruolo di regolazione inibitoria dell'eccitabilità neuronale.

Il consumo dei cannabinoidi provoca un'alterazione delle funzioni percettive e psicomotorie associate a tachicardia, aumento dell'appetito, broncodilatazione, secchezza delle fauci, riso spontaneo, rossore agli occhi; tali effetti, influenzati dalle condizioni psicologiche di base del consumatore e dalle dosi assunte, possono sfociare in gravi disturbi della sfera comportamentale che comprendono depressione, depersonalizzazione, sintomi schizofrenici. (F. Grotenhermen, 2006).



Δ9-tetraidrocannabinolo (THC)

La via di assunzione privilegiata della Cannabis nei paesi occidentali è il “fumo”, mentre in alcuni paesi orientali la somministrazione avviene prevalentemente per via orale, sottoforma di decotti o infusi.

L'assunzione per os comporta una riduzione dell'assorbimento di circa 1/3 a causa della degradazione da parte della flora batterica intestinale; tuttavia i sintomi clinici insorgono più tardi e possono protrarsi per oltre 10 ore.

Dopo 10 minuti dall'assunzione per via inalatoria si raggiunge il picco plasmatico, a cui segue la rapida manifestazione degli effetti.

Nel sangue il Δ9-THC, a causa della sua lipofilia, si lega alle lipoproteine plasmatiche (M e N lipoproteine) e si accumula nei tessuti lipidici permanendo nell'organismo anche per diverse settimane.

Il metabolismo del THC avviene soprattutto nel fegato ad opera delle idrossilasi microsomiali e i principali metaboliti ossidrilici sono: l'11-(OH)- Δ9-THC (molto più attivo del Δ9-THC), l'8-M-(OH)- Δ 9-THC, l'8-N-(OH)- Δ 9-THC. Altri metaboliti sono l'8-cheto- Δ 9-THC, il 9-10-epossido- Δ 9-THC e l'acido 11-nor-THC-9-carbossilico (THC-COOH); quest'ultimo

rappresenta il principale metabolita e la sua presenza nell'urina è essenziale per l'accertamento dell'abuso dei cannabinoidi.

Il picco massimo escretorio si raggiunge tra le 2 e le 6 ore; alcuni dati sperimentali indicano che non esiste una correlazione tra i livelli urinari dei metaboliti e gli effetti psicoattivi, per cui la quantità di THC e metaboliti in urina è indice solo di assunzione recente di cannabinoidi e non di uno stato di tossicodipendenza. (*Baccini C., 1990*).

#### ***1.1.4 Oppiacei***

Gli oppiacei rappresentano un gruppo di sostanze alcaloidi contenute nell'oppio, un essudato (lattice) secco di colore bruno che si estrae dalle capsule verdi del *Papaver Somniferum*.

Le sostanze alcaloidi contenute nell'oppio fino ad oggi conosciute sono più di 25 e possono essere distinte in due categorie strutturali:

1. alcaloidi benzilisoquinolinici: come papaverina, narceina, noscapina; queste non hanno nessun tipo di attività stupefacente, ma possono avere attività farmacologica, come quella spasmolitica della papaverina.
2. alcaloidi fenantrenici: morfina (che costituisce circa il 10% dell'oppio), codeina, tebaina ecc. (*Baccini C., 1990*).

Attualmente si conoscono tre famiglie di oppioidi endogeni: le endorfine, le encefaline, le dinorfine; queste hanno fisiologicamente un ruolo chiave nell'aumento della soglia del dolore (ruolo che spiega l'effetto analgesico degli oppiacei) e nella regolazione dell'umore.

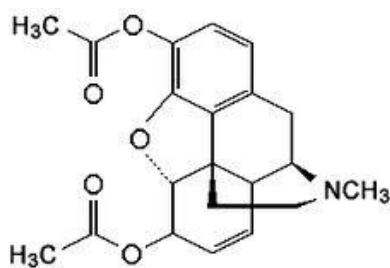
Sono stati identificati tre tipi di recettori degli oppioidi:  $\mu$ ,  $\rho$  e  $\kappa$ , i quali presentano una concentrazione diversa in base alla localizzazione anatomica (principalmente midollo spinale, tronco cerebrale, locus coeruleus, diencefalo, telencefalo).

Le proprietà stupefacenti degli oppioidi appaiono legate soprattutto alla rispettiva capacità di agonismo col recettore  $\mu$  che, frenando a livello della AVT l'inibizione esercitata da neuroni gabaergici sui neuroni dopaminergici, determina un cospicuo aumento, dose dipendente, della concentrazione extraneuronale di dopamina a livello del circuito mesolimbico di reward. (*Baccini C., 1990*). L'aumento di dopamina in queste aree del cervello è mediata dall'attivazione dei recettori  $\mu$  e  $\rho$  ed è responsabile dell'effetto euforizzante della morfina e dell'eroina, mentre i recettori  $\kappa$  supportano l'analgesia e provocano disforia oltre che alterazioni delle secrezioni ormonali.

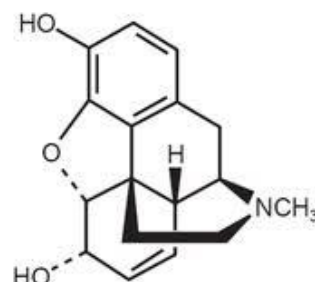
L'euforia (flash) indotta da oppiacei ha una durata variabile da 45 secondi a parecchi minuti; subentra quindi una fase di rilassamento e benessere intenso avente una durata di circa 1 ora. (*Mariotti O., 2004*).

L'eroina si ottiene per esterificazione con anidride acetica dei gruppi polari idrossilici in posizione C3 e C6. (Bertol E. et al., 2000). L'introduzione di gruppi acetilici aumenta il grado di lipofilia della molecola, facilitando l'attraversamento della barriera ematoencefalica; di conseguenza, a parità di dose assunta, la concentrazione di sostanza attiva risulta maggiore, rendendo l'uso di eroina a scopo voluttuario preferibile rispetto a quello della morfina stessa. Una volta in circolo l'eroina viene metabolizzata, principalmente a livello epatico, in 6-monoacetilmorfina (6-MAM) per idrolisi del legame estereo in posizione 3, e poi a morfina per idrolisi di un ulteriore legame estereo in posizione 6. Morfina e 6-MAM sono i principi attivi responsabili dell'azione farmacologica dell'eroina stessa e risultano essere i principali metaboliti ritrovati nei liquidi biologici. In realtà, l'escrezione urinaria avviene per il 90% come morfinaglicuronato e solo nei primi minuti è possibile rilevare nel sangue il primo prodotto di idrolisi, cioè la 6-MAM. (Goodman & Gilman, 2000).

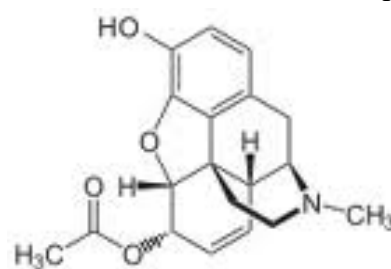
Un'ulteriore conferma dell'abuso di eroina può essere fornita dalla presenza di codeina. Quest'ultima infatti, è estratta dall'oppio come impurezza assieme alla morfina e, una volta assorbita, è metabolizzata ed escreta parzialmente nelle urine come sostanza immodificata. (Bertol E. et al. 2000).



Eroina



Morfina



6-MAM

## ***1.2 LE INDAGINI TOSSICOLOGICHE-FORENSI***

Le analisi tossicologiche di sostanze stupefacenti orientate a varie finalità diagnostiche, possono avvalersi dell'esame di diversi campioni biologici (sangue, urina, capelli, saliva, sudore) che permettono di esprimere diagnosi con valenza medico-legale.

La scelta della matrice da utilizzare è strettamente legata al tipo di informazione che si vuole ottenere e, di conseguenza, allo scopo legale di questa informazione. In linea di massima si usa il sangue per determinare una esposizione a droghe in atto, l'urina per determinare un uso anche saltuario, mentre la matrice cheratinica è la matrice di elezione nel caso si voglia determinare un uso abituale o una tossicodipendenza.

Le indagini tossicologico-forensi vengono applicate a svariate leggi:

- *Esecuzione della pena detentiva inflitta a persona tossicodipendente*

Fin dalla sua emanazione, all'art 95, il DPR 309/90 ha previsto la necessità che la pena detentiva, nei confronti di persona condannata per reati commessi in relazione al proprio stato di tossicodipendenza, debba essere scontata in istituti idonei per lo svolgimento di programmi terapeutici e socio-riabilitativi.

I detenuti e gli internati hanno diritto, al pari dei cittadini in stato di libertà, all'erogazione delle prestazioni di prevenzione, diagnosi, cura e riabilitazione, efficaci ed appropriate, sulla base degli obiettivi generali e speciali di salute e dei livelli essenziali e uniformi di assistenza individuati nel piano sanitario nazionale, nei piani sanitari regionali e in quelli locali.

E' noto che il carcere, per molti aspetti, è causa di rischi aggiuntivi per la salute fisica e psichica dei tossicodipendenti detenuti, che costituiscono circa il 30% della popolazione carceraria. I programmi da sviluppare devono garantire la salute del tossicodipendente detenuto e assicurare, contemporaneamente, la tutela complessiva della salute all'interno delle strutture carcerarie, in un'ottica che concili le strategie più tipicamente terapeutiche con quelle di prevenzione e di riduzione del danno.

- *Idoneità alla guida*

E' vietato guidare in condizioni di alterazione fisica e psichica correlata con l'uso di sostanze stupefacenti o psicotrope. Chiunque guida in stato di alterazione psico-fisica dopo aver assunto sostanze stupefacenti o psicotrope secondo l'art 187 del Dl.vo 30.4.1992 n.285 e

successive modificazioni è punito, in base alla gravità del reato con la sospensione o la revoca della patente di guida. Al comma 2 del suddetto Dl.vo si prescrive che gli organi di Polizia Stradale possono sottoporre i conducenti ad accertamenti qualitativi non invasivi o a prove, anche attraverso apparecchi portatili. In caso di esito positivo, tuttavia, è necessario effettuare esami volti ad accertare la presenza di sostanze stupefacenti o psicotrope, secondo uno specifico protocollo.

- *Idoneità al servizio militare*

Per quanto previsto dall'art. 91 del D.P.R. 14 febbraio 1964 n. 237 e dal D.P.R. del 20 maggio 1964 n. 496 non sono ammessi ad eseguire il servizio militare le persone dedite all'uso di sostanze stupefacenti.

- *Affidamento di minori*

La legge n. 54/2006 regola l'affidamento dei figli minori in caso di separazione o divorzio dei coniugi, stabilendo, quale regola generale, l'affidamento congiunto dei minori in capo ad entrambi i genitori. Tuttavia all'art. 155 bis c.c., si prevede espressamente che il giudice possa disporre "l'affidamento dei figli ad uno solo dei genitori qualora ritenga con provvedimento motivato che l'affidamento all'altro sia contrario all'interesse del minore".

- *Imputabilità di reato*

L'art. 85 del Codice Penale recita: "Nessuno può essere punito per un fatto previsto dalla legge come reato se al momento in cui lo ha commesso non era imputabile; è imputabile colui che ha la capacità di intendere e volere". Nel nostro ordinamento la colpevolezza significa colpevolezza per un fatto, lesivo di un bene penalmente protetto, mentre per il soggetto agente occorre che sia certo che sia imputabile, ovvero che possa essere dichiarato penalmente responsabile. Le alterazioni patologiche, dovute all'azione di sostanze stupefacenti escludono o diminuiscono l'imputabilità.

- *Sicurezza sul lavoro*

Nel 1899 compaiono, nel nostro paese, i primi esempi legislativi di tutela della sicurezza sul lavoro. Il Regio Decreto n. 231 del 18 Giugno 1899 prevedeva la non ammissibilità a lavori in cave e miniere per soggetti affetti da vertigini, sordità ed alcolismo, al fine di salvaguardare i lavoratori ed i compagni di lavoro verso un più elevato rischio infortunistico.

Successivamente, nel 1990 è stato emanato il D.P.R. n.3099, che all'art.125 prevede l'espletamento di accertamenti in negativo, cioè di "assenza" di tossicodipendenza nei confronti di appartenenti alle categorie dei lavoratori (in assunzione o dipendenti, ovvero in corso di visita preventiva o periodica) destinati a mansioni che comportano rischi per la salute

e incolumità altrui. Tuttavia solo a partire dal 2007, con il Provvedimento della Conferenza Unificata n. 99 del 2007, vengono definite in Allegato 1 le mansioni ritenute a rischio per l'incolumità di terzi. La suddetta normativa è finalizzata a garantire la tutela della sicurezza, incolumità e salute di terzi rispetto a danni che potrebbero derivare dall'esercizio improprio di particolari attività lavorative, quando ed in quanto effettuate da lavoratori in stato di tossicodipendenza.

### ***1.3 DETERMINAZIONE DELLE SOSTANZE D'ABUSO IN MATRICI BIOLOGICHE***

I meccanismi e le cinetiche di assorbimento, distribuzione ed eliminazione determinano le modalità con cui il campionamento deve essere effettuato o, in altri termini, consentono di stabilire quale matrice biologica analizzare ed il periodo di raccolta o di prelievo del campione.

Le tecniche analitiche che consentono di diagnosticare un eventuale uso di sostanze d'abuso da parte di un individuo si basano non solo sul dosaggio della sostanza stupefacente ma anche dei suoi metaboliti. Infatti, la presenza della sostanza d'abuso in un campione incognito potrebbe essere correlata ad eventuali contaminazioni esterne e dar luogo, quindi, a falsi positivi, mentre la determinazione dei metaboliti nelle matrici biologiche conferma l'assunzione effettiva della droga stessa.

Le analisi tossicologiche orientate a varie finalità diagnostiche, possono avvalersi dell'esame di diversi campioni biologici (sangue, urina, capelli, saliva, sudore) che permettono da soli od in combinazione tra loro di esprimere diagnosi con valenza medico-legale.

#### ***1.3.1 Urina***

L'urina è considerata la matrice biologica di prima scelta nell'analisi delle sostanze d'abuso (Zuccaro P. *et al.*) in quanto consente un prelievo non invasivo, la possibilità di campionare grandi volumi e la possibilità di determinare le sostanze e i loro metaboliti anche a distanza di giorni dall'assunzione. Le analisi su questa matrice però possono solo dare un'indicazione

della presenza o dell'assenza della sostanza d'abuso ad un definito valore soglia, ma non danno alcuna indicazione sulla quantità di sostanza assunta o sul momento dell'assunzione.

Inoltre esiste il rischio di adulterazione con l'aggiunta di sostanze che possono variare il volume di urina o le sue caratteristiche chimico-fisiche. Per questo si rende necessaria la raccolta a vista e la valutazione di alcuni parametri chimico-fisici come il pH, la temperatura e la densità; inoltre è importante determinare anche il valore urinario della creatinina, che in base al SAMSHA deve avere un valore non inferiore ai 20 mg/dl.

I metodi di adulterazione del campione urinario da parte dei pazienti di solito avvengono sostituendo all'urina altri liquidi quali tè o soluzioni saline (un test sulla creatininuria può svelare la vera identità del liquido) oppure con urina di un donatore sicuramente negativo. Altri metodi di adulterazione riguardano l'assunzione di diuretici o grandi quantità di acqua al fine di ridurre la concentrazione delle sostanze da ricercare che potranno scendere al di sotto dei valori soglia e generare un risultato negativo, l'aggiunta di metadone o buprenorfina per dimostrare di seguire un processo di disintossicazione, l'aggiunta di adulteranti facilmente reperibili in casa quali candeggina, acqua ossigenata, sale da cucina o succo di limone, o acquisibili anche attraverso Internet, capaci di interferire nelle reazioni analitiche o alterare i metaboliti urinari delle sostanze d'abuso.

Nonostante le adulterazioni che si possono imprimere a questa matrice, l'urina risulta essere il campione più analizzato in laboratorio. L'urina infatti è la matrice di scelta per lo screening e l'identificazione di sostanze sconosciute perché è disponibile in maniera non invasiva, in quantità abbondante e contiene concentrazioni di droghe relativamente elevate.

L'accertamento tossicologico-analitico di sostanze stupefacenti, effettuato su matrice urinaria, prevede preliminarmente un test di screening e in caso di positività, un test di conferma basato su principi chimico-fisici diversi.

I test di screening sono test che permettono di analizzare in tempi brevi numerosi campioni (solitamente urinari) in maniera economica, efficace e standardizzata. Permettono di escludere, senza un ulteriore approfondimento diagnostico, i campioni negativi, identificando quelli che non contengono sostanze della classe in esame o quelli in cui la relativa concentrazione è al di sotto di un valore soglia definito cut-off.

I test di screening si basano su metodiche immunochimiche, dotate di elevata sensibilità, velocità d'analisi e non necessitano di pretrattamento del campione. La notevole sensibilità di quest'analisi esclude o riduce notevolmente l'evenienza di falsi negativi, ma non quella di falsi positivi. Il grande limite, infatti, dei metodi immunochimici è quella di basarsi su

reazioni antigene-anticorpo che presentano una specificità di gruppo non assoluta, per cui possono originarsi delle cross-reaction con altre sostanze o farmaci eventualmente assunti.

Un campione risultato positivo nel test iniziale immunologico, se non verificato con un test di conferma cromatografico, può essere contestato e non ha valore medico-legale.

I test di conferma devono essere specifici per il singolo analita, per ovviare alla non specificità della maggior parte dei test immunologici che sono per classi di sostanze, inoltre devono avere sensibilità uguale o maggiore al valore soglia stabilito nei test di screening.

La cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS o HPLC/MS), grazie alle sue caratteristiche di elevata sensibilità e specificità, è la tecnica di elezione per le analisi di conferma di test immunochimici in urina. La cromatografia infatti è una tecnica separativa ad alto potere risolutivo che consente la separazione di sostanze presenti in miscele complesse permettendo di identificare in modo certo l'analita e di effettuare analisi quantitative.

### ***1.3.2 Sangue***

La presenza di sostanze d'abuso e i loro metaboliti è rilevabile nel sangue ad elevate concentrazioni solo se il prelievo è stato eseguito poche ore dopo l'assunzione.

Il prelievo di questa matrice è invasivo e si ottengono volumi ridotti, ma ha il vantaggio che il sangue, al contrario dell'urina, non può essere soggetto a modificazione e/o adulterazioni.

L'analisi su tale matrice ha lo scopo unico di correlare lo stato di alterazione del paziente con la sostanza rilevata; quindi tale indagine ha senso solo nella dimostrazione di un uso della sostanza in un ambito temporale di poche ore, quindi non è utile né al Ser.T né al medico del lavoro che devono valutare nel tempo la tossicodipendenza.

### ***1.3.3 Saliva e Sudore***

Oltre ai fluidi biologici che vengono normalmente usati nella determinazione di sostanze d'abuso, cioè l'urina ed in alcuni rari casi il sangue, da diversi anni si è posta l'attenzione sulla possibilità di analisi di matrici biologiche non convenzionali quali saliva, sudore e capelli.

Per quanto riguarda la saliva e il sudore questi mostrano una buona praticabilità del prelievo e una facilità di raccolta, ma ci sono due principali fattori che limitano l'uso di queste due matrici, ovvero la quantità che si può raccogliere, che è inferiore a quella delle urine e le concentrazioni nelle urine che sono più elevate rispetto a saliva e sudore perché le sostanze sono concentrate dai reni. Il volume del campione da analizzare risulta di una certa importanza in ambito forense perché è necessario poter conservare una parte di campione per eventualmente ripetere il test in caso di risultato positivo.

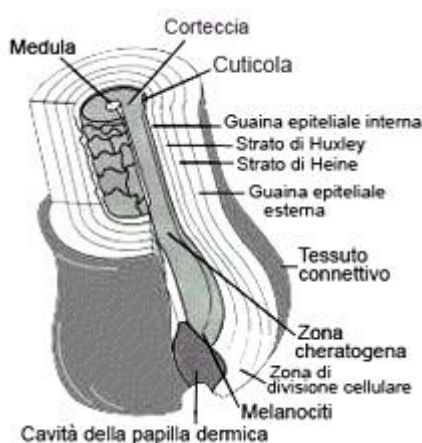


### 1.3.4 Capello

La matrice cheratinica è senza dubbio la matrice biologica su cui negli ultimi anni si è focalizzato l'interesse della ricerca internazionale. Il motivo che ha portato ad utilizzare le matrici non convenzionali nelle analisi farmaco-tossicologiche risiede soprattutto nella possibilità di incrementare la finestra di tempo in cui la sostanza d'abuso è rilevabile in tale matrice. Infatti, se questa finestra di tempo è solo di ore nel caso del sangue, diventa di alcuni giorni nel caso dell'urina e di mesi nel caso dei capelli. Nella parte prossimale del capello, quella vicina alla cute, è possibile rilevare un'esposizione di pochi giorni precedenti al prelievo, mentre spostandosi nella parte distale si determina un'esposizione passata.

Il capello è composto da una percentuale di proteina che va dal 65 al 95%, lipidi 1-9% e pigmento composto da melanina ed elementi presenti in tracce di polisaccaridi e acqua. Il capello umano contiene solo due tipologie di cellule: quelle della cuticola e quelle della corteccia. Nella porzione centrale della corteccia può essere condensata la cellula a formare la medulla, che può essere una struttura continua o intramezzata da bolle d'aria.

Il melanociti, localizzati all'apice della papilla dermica del bulbo pilifero, sintetizzano melanina in organelli chiamati melanosomi che a loro volta trasferiscono il pigmento alle cellule in fase di crescita dal follicolo del bulbo pilifero. Il grado di crescita dallo scalpo-cuoio capelluto è approssimativamente di 0.35 mm al giorno in entrambi i sessi (*Pecoraro V. and Astore I.P.L., 1990*), ma può variare molto. Pötsch rileva una variazione compresa tra 0.07 e 0.78 mm/giorno, con 82% della popolazione esaminata tra 0.32 e 0.46 mm/giorno (*Pötsch L., 1996*).



**Figura:** Struttura del capello

Ricordando inoltre che la velocità di crescita del capello varia da 0,8 a 1,3 cm al mese, con una media intorno al 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 problematica a causa di diversi fattori come ad esempio la crescita non sempre costante del capello. Infatti, ogni bulbo pilifero (e quindi il capello) possiede un proprio ciclo di crescita: uno stadio di crescita detto "anagenico" (l'unico stadio in cui avverrebbe l'incorporazione delle droghe), uno stadio intermedio detto "catagenico" e uno stadio di riposo detto "telogenico".

Poiché ogni singolo capello può trovarsi in una fase di crescita differente, la crescita media risulta irregolare e ciò comporta dei limiti teorici nella valutazione del significato della presenza di una droga in un certo punto dell'intera lunghezza di un capello.

Per chiarire meglio questo punto possiamo fare un esempio. Se preleviamo 7 cm di capelli a due assuntori, uno che ha ripreso a drogarsi da tre mesi dopo una sospensione di 4 mesi e un altro che non si droga più da un mese, vediamo come nel primo caso in teoria avremo i 3 cm prossimali alla radice positivi e gli altri 4 negativi, nel secondo caso esiste la possibilità che il primo cm prossimale risulti negativo, mentre gli altri positivi. Per distinguere le due situazioni è dunque necessaria un'analisi segmentale, la quale necessita però di grandi quantità di capelli, poiché l'analisi dei 7 cm in toto, risultando positiva in entrambi i casi, non permette alcuna differenziazione. 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.

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.

Le droghe ed i metalli possono legarsi ai gruppi funzionali dei vari componenti del capello mediante deboli interazioni elettrostatiche, legami idrofobici e ionici.

Sono stati proposti diversi modelli teorici per spiegare l'incorporazione di xenobiotici nella matrice cheratinica, sebbene quale sia il vero meccanismo non sia stato ancora provato (*Kidwell D.A. and Blank D.L., 1995*).

Un primo modello ipotizza che farmaci e sostanze d'abuso siano incorporati all'interno di regioni del capello direttamente a contatto con i capillari sanguigni a livello del bulbo pilifero durante l'istogenesi del capello. Quando poi il capello cresce, queste regioni diventerebbero inaccessibili all'ambiente esterno.

Un modello alternativo, che trova maggior consenso, si basa sulla teoria di una minima incorporazione di xenobiotici dal circolo sanguigno a regioni del bulbo pilifero durante la formazione del capello. La maggior fonte di incorporazione proverrebbe dal contatto con xenobiotici contenuti nel sudore, ghiandole sebacee e dalla escrezione transdermica via strato corneo sia durante il processo di formazione del capello sia dopo che il capello è spuntato. Secondo questo ultimo modello non esisterebbero “regioni” inaccessibili all’ambiente esterno. Di fatto, è stato dimostrato che capelli immersi in soluzioni acquose contenenti cocaina, morfina o codeina, una volta analizzati per il contenuto di queste sostanze risultano “positivi” sebbene sottoposti ai normali processi di lavaggio eseguiti prima dell’analisi vera e propria. A conferma di ciò, il ruolo del sudore risulterebbe essere quello di un veicolo acquoso di xenobiotici.

Sebbene i due principali modelli teorici sopra esposti siano entrambi sufficienti per spiegare l’incorporazione di xenobiotici nei capelli, altri aspetti quali ad esempio: la presenza nel capello di un elevato rapporto farmaco parente/metabolica, di sostanze ad emivita molto breve e chimicamente labili, la differente concentrazione di alcuni xenobiotici in capelli di diverso colore o di individui di razze differenti rimangono da chiarire.

Un approccio biochimico che tiene conto delle varie proprietà chimico-fisiche dei capelli sembrerebbe fornire una spiegazione esaustiva alle variabili riscontrate nella matrice cheratinica (*Potsch L. et al., 1997*). Il concetto biochimico si basa su: principi di trasporto biologico attraverso membrane, principi di biotrasformazione, affinità di xenobiotici per la melanina. L’assorbimento di farmaci e sostanze d’abuso avverrebbe nel follicolo pilifero in crescita attraverso la membrana cellulare delle cellule della matrice, localizzate attorno alla papilla vascolarizzata del follicolo, e la membrana cellulare dei melanociti, situati all’apice della papilla.

E’ noto che il trasporto attraverso le membrane dipende dalla grandezza e dalla forma di una molecola, dal suo legame con le proteine plasmatiche che ne limita la diffusione, dal suo coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua che ne indica la lipofilicità e dal suo pKa, che per un dato pH ne determina la percentuale di forma non ionizzata che diffonde attraverso la membrana. Il punto isoelettrico delle fibre cheratinizzate del capello è circa 6. Ciò indica la natura acida del capello e spiega l’incorporazione preferenziale delle sostanze di natura basica, favorita inoltre anche dal pH acido (range: 4,5-6,7) del sudore. Inoltre, i principi di trasporto attraverso le membrane spiegherebbero la maggiore concentrazione di farmaco (o sostanza d’abuso) parente rispetto al metabolita (o metaboliti) più idrofili. A conferma di ciò, alcuni autori (*Nakahara Y. And Kikura R., 1994*) hanno individuato uno scarso accumulo di

metaboliti della cocaina (benzoilecgonina ed ecgonina metilestere) nella matrice cheratinica di animali trattati con i metaboliti stessi.

Durante la cheratinizzazione, una volta che le cellule della matrice lasciano la regione del bulbo, sembrerebbe esclusa la diffusione delle sostanze inglobate verso la circolazione sistemica da cui provenivano, principalmente per un processo di deidratazione. Questo processo porterebbe ad una concentrazione di xenobiotici all'interno della cellula che, a causa di un alterato gradiente di concentrazione, comincerebbero a migrare verso l'esterno. L'ipotesi più verosimile è che alla fine del processo gli xenobiotici si concentrerebbero sulla membrana cellulare o negli spazi intercellulari. Un'altra possibilità è che gli xenobiotici una volta all'interno della cellula vengano catturati dai prodotti di differenziazione cellulare, quali proteine del filamento di cheratina o granuli di melanina. In questo ultimo caso, le sostanze si accumulerebbero sulla loro superficie poiché i polimeri della melanina tendono ad agire come "assorbenti biologici".

I granuli di melanina sono prodotti all'interno dei melanociti, una popolazione cellulare altamente specializzata del follicolo, con un pH intracellulare nel range 3-5, il quale favorisce l'accumulo di sostanze di natura basica. Molti autori hanno dimostrato con studi in vivo ed in vitro l'affinità della melanina per vari farmaci e sostanze d'abuso (*Kidwell D.A. and Blank D.L., 1995; Joseph R.E. and Cone E.J., 1996; Henderson G.L. et al. 1996*). Sono state ipotizzate due possibili modalità di legame tra xenobiotici e la melanina. Le sostanze con affinità per la melanina potrebbero legarsi alla melanoproteina durante la melanogenesi creando un gradiente di concentrazione e quindi un flusso all'interno dei melanociti piuttosto che verso le cellule della matrice, o potrebbero accumularsi sulla superficie dei granuli a causa della formazione di un complesso farmaco-melanina. Questa teoria sarebbe confermata da molti studi nei quali si dimostra che la concentrazione di sostanze quali ad esempio aloperidolo, ofloxacina, cocaina, metadone è maggiore nei capelli con pigmentazione rispetto a quelli senza pigmentazione (*De Zeeuw R.A. et al. 1995*).

I dati presenti in letteratura mostrano che esistono alcuni fattori capaci di influire sull'incorporazione degli xenobiotici nelle matrici cheratiniche e conseguentemente sulle concentrazioni delle sostanze stupefacenti eventualmente osservabili nelle matrici stesse, che possono complicare l'interpretazione dei risultati analitici. Fondamentalmente tali fattori sono imputabili alla razza [la melanina mostra una notevole capacità di fissare molecole di nostro interesse], alla contaminazione esterna [solo parzialmente ovviabile con accurato lavaggio] e ad eventuali trattamenti cosmetici (*Kidwell D.A. and Blank D.L., 1995; Jurado C. et al. 1997*).

## ***1.4 DROGHE E LAVORO***

In ragione del nuovo bacino di utenza indotto dalla normativa riguardante il controllo di alcuni lavoratori con mansioni a rischio e della conseguente discreta presenza di casi analizzati provenienti dai medici del lavoro, è utile soffermarsi sul tema “droghe e lavoro”.

Il fenomeno dell’uso di droghe nei luoghi di lavoro risulta essere un problema spesso sottovalutato e sottostimato. Di fatto la maggior parte dei soggetti dediti al consumo di sostanze d’abuso sono soggetti in età lavorativa, pertanto è importante verificare quali siano le problematiche lavorative che in qualche modo sono connesse all’assunzione di tali sostanze.

E’ necessario a tale proposito distinguere la condizione di tossicodipendenza dall’assunzione di sostanze d’abuso a scopo “ricreativo”.

Per quanto riguarda la condizione di tossicodipendenza secondo un’indagine condotta dal settembre 1998 al marzo 2001 dal Dipartimento di Epidemiologia della Asl di Reggio-Emilia su 12 mila pazienti in cura con terapie sostitutive presso 200 Ser.T di 13 regioni, il 32% è occupato stabilmente, il 32% occasionalmente, mentre solo il 35% risulta disoccupato<sup>1</sup>. Secondo un’indagine svolta nel 2000 e riferita ad un campione di 158 utenti dei Ser.T di Venezia e Mestre, il 62% dei soggetti che svolge un’attività lavorativa è operaio generico, il 21% è operaio specializzato, il 9% è commerciante, e l’8% è impiegato (*Patanè et al., 2002*). Nella dipendenza da eroina la realtà più frequentemente osservata è quella di una compromissione della qualità della prestazione lavorativa ed è caratterizzata da una notevole difficoltà non tanto nel reperimento del lavoro, quanto piuttosto nel mantenimento dell’attività lavorativa stessa. Tale difficoltà è collegata agli effetti dell’eroina (o del metadone per i soggetti in trattamento con sostanze sostitutive) a livello del sistema nervoso centrale e periferico e a livello del sistema muscolare, con conseguente deficit dell’attenzione, della memoria e rallentamento psicomotorio. A ciò si sommano gli effetti sul piano mentale, con difficoltà/incapacità di costruire relazioni e riduzione della tolleranza alle frustrazioni.

Per quanto riguarda il consumo di altre sostanze psicoattive, da uno studio americano emerge che il 70-77% dei consumatori è stabilmente occupato in attività lavorative; il 6.9% di tutta la popolazione lavorativa riferisce un consumo di droghe (*McGuire G.T. and Ruhm J.C., 1993; Lambert S.D., 2002*). Negli Stati Uniti, una serie di studi sono stati effettuati allo scopo di valutare il consumo di sostanze illecite in alcune categorie professionali, in particolare tra gli

---

<sup>1</sup> <http://digilander.libero.it/psicologiadellavoro/sostanze.html>

operatori sanitari; emerge che il tasso di consumo di cocaina e marijuana tra il personale infermieristico è simile a quello della popolazione generale, con tuttavia differenze significative in relazione al reparto di appartenenza; è emerso in particolare un maggiore consumo di marijuana o cocaina tra il personale medico e infermieristico dei reparti di terapia intensiva e di emergenza, mentre la pediatria e la medicina della comunità sono i reparti in cui, sulla base dei dati anamnestici, sono stati registrati i livelli più bassi di consumo di sostanze psicoattive tra gli operatori sanitari (*Trinkoff A.M. et al., 1997*).

Il problema principale che ci si trova ad affrontare in merito al consumo di sostanze psicoattive, è che si tratta nella maggior parte dei casi di droghe usate a scopo “ricreativo” e la cui assunzione spesso è limitata al fine settimana. E’ pertanto lecito chiedersi quali possono essere le conseguenze sull’attività lavorativa legate all’assunzione di droghe al di fuori dei giorni lavorativi.

I principali aspetti discussi in letteratura sono sostanzialmente i seguenti:

1) riduzione della performance lavorativa, riconducibile a condizione di stanchezza diffusa, apatia, sonnolenza, diminuzione della concentrazione e irritabilità. Molti studi hanno confermato la riduzione della capacità di giudizio e della performance in soggetti che hanno fumato cannabis rispetto a soggetti trattati con placebo (es. riduzione performance osservata in piloti di volo mediante test di simulazione). Una singola sigaretta di marijuana può causare una significativa perdita di abilità evidenziabile per più di 10 ore (riduzione della capacità di seguire una traccia, riduzione dei tempi di reazione, alterazione dei test di attenzione e memoria). Studi di performance effettuati in un gruppo di addetti alla manutenzione di veicoli a motori e di conducenti automobilistici ha evidenziato un’alterazione della performance in soggetti con consumo recente di marijuana paragonabile a quella indotta dall’assunzione di alcol (*Cohen S., 1984*).

2) aumento del rischio di infortuni nelle attività lavorative pericolose e che richiedono attenzione (es. guida di veicoli). L’uso di droghe può essere collocato tra i fattori soggettivi (umani) causa di infortuni sul lavoro, perché riducono l’integrità psicofisica con conseguente alterazione dei tempi di reazione e riduzione della percezione del pericolo in ambito lavorativo. In particolare per quanto riguarda l’”ecstasy”, oltre al notevole affaticamento fisico derivante dall’iperattività durante l’utilizzo, sono possibili flash psicotici anche a mesi di distanza dall’ultima assunzione. Alcuni studi hanno evidenziato che non solo gli eroinomani sono maggiormente esposti agli infortuni, ma anche soggetti dediti all’uso di cannabinoidi e cocaina, con un rischio relativo di infortuni doppio negli utilizzatori di cannabinoidi e cocaina rispetto al gruppo di controllo (*Ryan J. et al., 1992*).

Secondo stime americane il 4% dei soggetti che hanno avuto un infortunio sul lavoro (di gravità variabile), è risultato positivo alla marijuana (ACLU, 1999). Uno studio sulla mortalità per infortuni sul lavoro ha evidenziato positività per la cannabis nel 8,5% dei soggetti testati (Alleyne B.C. et al. 1991); l'autore tuttavia sottolinea la difficoltà di attribuire l'evento infortunistico ad una eventuale alterazione della funzione mentale indotta dalla cannabis, dato che la cannabis permane per parecchi giorni soprattutto nelle urine.

Secondo alcune stime americane i lavoratori che assumono droghe hanno una probabilità 3.6 volte più elevata di essere coinvolti in infortuni sul lavoro.

Uno studio di Pollack effettuato allo scopo di determinare se il consumo di sostanze d'abuso, particolarmente elevato tra i lavoratori edili, è correlato ad un aumentato rischio di infortunio sul lavoro, ha evidenziato rischio maggiore nei soggetti con diagnosi di abuso di sostanze psicoattive (alcol e/o stupefacenti) rispetto ai controlli, in particolare nei lavoratori di età compresa tra i 25 e i 34 anni aventi un rischio relativo di 1.93; lo studio tuttavia, come altri presenti in letteratura, riunisce nella medesima casistica soggetti con abuso di stupefacenti e soggetti con abuso di alcol che rappresentano il gruppo di gran lunga più numeroso (oltre l'85% dei soggetti dediti al consumo di sostanze d'abuso) (Pollack E.S. et al., 1998).

Quello infortunistico è il principale aspetto che deve essere considerato per esprimere correttamente il giudizio di idoneità alla mansione specifica.

3) assenteismo. E' il principale indice di performance lavorativa per il quale esiste una consistente differenza tra consumatori e non consumatori di sostanze psicoattive. Secondo statistiche americane i lavoratori che assumono droghe hanno 2.5 volte più assenze dei non consumatori. L'assenteismo può essere in parte ricondotto agli effetti che l'uso di sostanze d'abuso determina sul piano fisico-clinico; ad es. in soggetti forti fumatori di marijuana si osserva un'aumentata frequenza di episodi di bronchite acuta.

Relativamente alle problematiche sopra riportate, i dati presenti in letteratura sono piuttosto contrastanti. Infatti se da un lato gli effetti acuti legati all'assunzione di droghe sono conosciuti, e allarmanti sono i dati che derivano dalle statistiche sugli incidenti stradali, spesso verosimilmente riconducibili agli effetti delle sostanze psicoattive sul conducente, pochi e contrastanti rimangono gli studi che affrontano in maniera rigorosa le problematiche lavorative in termini di infortuni, assenteismo e riduzione della performance, in particolare là dove l'assunzione è limitata ai giorni non lavorativi.

Una commissione della *National Academy of Sciences* nel '94 sulla base delle evidenze empiriche concluse che i dati a disposizione non forniscono una chiara evidenza relativamente

agli effetti negativi che l'assunzione delle droghe fuori dall'attività lavorativa avrebbe sulla sicurezza e sulla performance. Infatti mentre la riduzione della performance attribuibile all'alcol emerge chiaramente da studi di laboratorio, il decremento attribuibile alla marijuana è dimostrabile nel 50% dei casi; molti studi basati sull'impiego di test cognitivi, non hanno evidenziato significative differenze nella performance tra consumatori occasionali e non consumatori di marijuana.

Inoltre la positività ai cannabinoidi, riscontrata in molti soggetti che hanno avuto un infortunio sul lavoro, dimostra un pregresso consumo, non il nesso di causalità tra evento infortunistico e assunzione di marijuana, in quanto nella maggior parte dei casi tale assunzione avviene al di fuori dell'attività lavorativa; l'"effetto residuo", quando presente, sarebbe paragonabile agli effetti conseguenti alla deprivazione di sonno, cosa che comunque pone qualche interrogativo in termini di sicurezza sul lavoro e di performance (*Mariotti O., 2003*).

## ***1.5 DIAGNOSI DI TOSSICODIPENDENZA***

L'iter procedurale per gli accertamenti di assenza d'uso di sostanze stupefacenti in lavoratori con mansioni a rischio, si compone di due macrofasi: un primo livello di accertamenti da parte del medico competente ed un secondo livello di approfondimento diagnostico-accertativo a carico delle strutture sanitarie competenti.

Le procedure accertative di primo livello, da parte del medico competente, riguardano i lavoratori che svolgono le mansioni descritte in tabella e devono essere eseguite: pre-affidamento della mansione, periodicamente (con frequenza annuale), per ragionevole dubbio, dopo un incidente, prima del rientro nella mansione a rischio dopo esito positivo per assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope.

Nel corso degli accertamenti di primo livello deve essere effettuata una visita medica, orientata all'identificazione di segni e sintomi suggestivi di assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope. Contestualmente a tale visita, il medico competente dovrà effettuare un test tossicologico-analitico di screening o effettuare la raccolta di un campione di urina, che sarà inviato presso idonee strutture laboratoristiche autorizzate, per l'esecuzione del test stesso.



---

Attività per le quali è richiesto un certificato di abilitazione per l'espletamento dei seguenti lavori pericolosi:

---

- a) impiego di gas tossici
  - b) fabbricazione e uso di fuochi di artificio e posizionamento e brillamento mine
  - c) direzione tecnica e conduzione di impianti nucleari
- 

Mansioni inerenti le attività di trasporto:

---

- a) conducenti di veicoli stradali per i quali e' richiesto il possesso della patente di guida categoria C, D, E, e quelli per i quali e' richiesto il certificato di abilitazione professionale per la guida di taxi o di veicoli in servizio di noleggio con conducente, ovvero il certificato di formazione professionale per guida di veicoli che trasportano merci pericolose su strada
  - b) personale addetto direttamente alla circolazione dei treni e alla sicurezza dell'esercizio ferroviario che espliciti attività di condotta, verifica materiale rotabile, manovra apparati di sicurezza, formazione treni, accompagnamento treni, gestione della circolazione, manutenzione infrastruttura e coordinamento e vigilanza di una o più attività di sicurezza
  - c) personale ferroviario navigante sulle navi del gestore dell'infrastruttura ferroviaria con esclusione del personale di camera e di mensa
  - d) personale navigante delle acque interne con qualifica di conduttore per le imbarcazioni da diporto adibite a noleggio
  - e) personale addetto alla circolazione e a sicurezza delle ferrovie in concessione e in gestione governativa, metropolitane, tranvie e impianti assimilati, filovie, autolinee e impianti funicolari, aerei e terrestri
  - f) conducenti, conduttori, manovratori e addetti agli scambi di altri veicoli con binario, rotaie o di apparecchi di sollevamento, esclusi i manovratori di carri ponte con pulsantiera a terra e di monorotaie
  - g) personale marittimo di prima categoria delle sezioni di coperta e macchina, limitatamente allo Stato maggiore e sottufficiali componenti l'equipaggio di navi mercantili e passeggeri, nonché il personale marittimo e tecnico delle piattaforme in mare, dei pontoni galleggianti, adibito ad attività off-shore e delle navi posatubi
  - h) controllori di volo ed esperti di assistenza al volo
  - i) personale certificato dal registro aeronautico italiano
  - l) collaudatori di mezzi di navigazione marittima, terrestre ed aerea
  - m) addetti ai pannelli di controllo del movimento nel settore dei trasporti
  - n) addetti alla guida di macchine di movimentazione terra e merci.
- 

Funzioni operative proprie degli addetti e dei responsabili della produzione, del confezionamento, della detenzione, del trasporto e della vendita di esplosivi

---

**Tabella:** Mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute dei terzi

In caso di positività ai test di screening bisogna effettuare sullo stesso campione urinario un'ulteriore analisi con tecniche che abbiano maggiore specificità e sensibilità. Tale analisi di conferma deve essere eseguita mediante cromatografia accoppiata a spettrometria di massa con valori di soglia prescritti dalla legge ed è finalizzata a confermare la presenza degli analiti trovati nei test di screening.

Le procedure operative, oltre ad indicare il tipo di analisi da eseguire su ogni campione, danno indicazione, anche, dei modi in cui il prelievo deve essere effettuato, del trasporto dei campioni alle strutture competenti, della conservazione e distruzione dei campioni, nonché di tutta la documentazione necessaria.

La validità dei risultati di laboratorio, in caso di indagini con validità medico-legale, non dipende solo dall'adeguatezza del processo analitico ma anche dalla prova dell'integrità del campione, dal momento in cui è stato raccolto fino a quando l'analisi è completata ed il campione distrutto.

La Catena di Custodia è l'insieme delle procedure documentate da adottare in tutte le fasi di lavorazione previste nell'analisi dei campioni nonché di tutta la documentazione che accompagna il campione e che riporta notizie sul prelievo, trasporto e conservazione.

L'obiettivo della catena di custodia è ricostruire l'iter del prelevato fin dalla raccolta, seguendo le date, gli orari e le firme del personale che lo ha preso in carico di volta in volta.

### ***1.5.1 Indicatori clinici***

Il percorso terapeutico di recupero del paziente tossicodipendente non si avvale del solo supporto farmacologico, ma si articola anche tramite un sostegno psicologico con figure professionali dedicate quali psichiatri, psicologi ed educatori; è durante i colloqui, che si inquadra il profilo clinico-tossicologico del paziente, il grado di coinvolgimento nell'uso di sostanze e più in generale aspetti di tipo psicologico (con riferimento particolare alla valenza motivazionale) e sociale.

Le aree da esplorare durante il colloquio riguardano la tipologia di sostanze assunte, la situazione clinica generale, eventuali patologie concomitanti e/o correlate inclusi i disturbi psicopatologici pregressi o in atto, la presenza di attività lavorativa, l'ambito socio-familiare, le problematiche legali.

La diagnosi di dipendenza non può prescindere inoltre dal riscontro laboratoristico, rivolto a stabilire principalmente la presenza dei cataboliti di sostanze psicoattive su matrice urinaria e/o la presenza di principi attivi e loro metaboliti nella matrice cheratinica.

L'esame obiettivo è volto ad evidenziare i segni di un uso acuto o cronico della sostanza.

In particolare il dato qualitativo e quantitativo fornito dall'esame cheratinico è di supporto al dato anamnestico nel fornire un dato retrospettivo, infatti l'anamnesi ha la finalità di delineare un ritratto della personalità del soggetto. La scolarità, la condizione familiare, il rapporto con il lavoro, i disturbi del comportamento e la comorbilità psichiatrica sono elementi da indagare. Per quanto riguarda l'esame obiettivo, gli indicatori clinici sono più facilmente evidenziabili nelle dipendenze da eroina conclamata, soprattutto negli assuntori per via e.v.. Negli assuntori per via endonasale o in coloro che da poco si sono avvicinati al consumo di eroina, la diagnosi è più difficile. Spesso il consumatore sottostima la quantità utilizzata, tende a negarne l'uso o presenta atteggiamenti manipolatori. Alcuni segni indiretti possono orientare verso una diagnosi di abuso/dipendenza da eroina:

- decadimento delle condizioni generali e ipotonia delle masse muscolari (tossicodipendente irrecuperabile)
- esiti cicatriziali di ascessi o di flebopatie nelle sedi di inoculo
- traumatismi, lividi, cicatrici da ustioni da sigaretta
- scadute condizioni del cavo orale con carie diffuse
- pallore cutaneo e delle mucose
- linfadenopatie distrettuali (ascellare) o diffuse di tipo reattivo aspecifico
- patologie di tipo ostruttivo a carico dell'apparato respiratorio
- epatomegalia, splenomegalia, epatiti
- febbre persistente da sospetta endocardite
- stato della pupilla: sempre scarsamente reattiva alla fotostimolazione, miotica (indicatore di uso recente di oppiacei), midriatica (indicatore di fase di astinenza) (*Briatico-Vangosa G. et al., 1998*). Il diametro pupillare è un valido indicatore di assunzione recente di oppioidi anche negli assuntori cronici, in quanto la costrizione pupillare è un effetto che non va in tolleranza; a seguito dell'assunzione di oppioidi. il diametro pupillare, normalmente intorno a 2-3 mm, si riduce a 1-2 mm. Da tenere presente che alcuni farmaci usati ad esempio nel trattamento del glaucoma possono indurre miosi marcata che persiste anche in condizioni di scarsa illuminazione (*Seymour R.B. and Smith D.E., 1990*).

Va tuttavia precisato che il quadro clinico sopra descritto tipico dell'“eroinomane” va scomparendo per lasciare spazio al tossicodipendente di bell'aspetto, “alla moda” con una obiettività sempre più vicina a quella della popolazione generale, senza i caratteristici segni, tipico del consumatore di cocaina. Inoltre sono cambiate le sostanze e i tossicodipendenti spesso sono dei poliassuntori; la via di assunzione preferenziale è diventata quella orale o

endonasale; infine, come riportato in precedenza, molti consumatori ricorrono all'assunzione di sostanze d'abuso solo durante il week-end quindi sono meno facilmente identificabili rispetto al tossicodipendente irrecuperabile.

Per quanto riguarda l'assunzione di cocaina gli indicatori clinici che possono suggerire un consumo di questa sostanza comprendono la comparsa di aritmie cardiache, ipertensione/crisi ipertensive, IMA, ictus, riniti, sinusiti, ulcerazioni nasali, perforazione del setto, perdita di gusto e olfatto, iperprolattinemia, bronchite cronica (nei fumatori di crack); a carico del SNC si possono osservare ipervigilanza, insonnia, cefalea, convulsioni, ipertono muscolare, tremori, disturbi mentali (instabilità dell'umore, episodi maniaco/depressivi, ideazione persecutoria, deliri e allucinazioni) e decadimento delle capacità intellettive; a carico dell'apparato gastrointestinale: anoressia, nausea, malnutrizione, stipsi, diarrea e gastriti.

Nel paziente psichiatrico invece, lo psichiatra è in grado di sospettare l'utilizzo di sostanze d'abuso nel paziente già affetto da disturbo dell'affettività quando subentra un'aumentata irritabilità, una depressione dell'umore ed in presenza di reazioni umorali maniacali; tali sintomi sono molto spesso alimentati dall'uso di sostanze in genere e dall'esposizione ripetute all'uso di sostanze ed al *craving*.

L'utilizzo di cocaina, cannabinoidi ed alcuni derivati amfetaminici (MDMA, MDEA) (Baccini C., 1990), come altre sostanze ad azione dopaminergica, possono decisamente peggiorare l'equilibrio psichico del paziente con scompenso psicotico con disturbo del pensiero e del senso della percezione, in quanto compaiono segni quali: intuizioni deliranti, costrutti deliranti persecutori, allucinazioni e voci allucinatorie.

Di fatto, vi sono diverse evidenze che tali sostanze abbiano provocato in via diretta una reazione psicotica o slatentizzano una condizione originaria pre-psicotica o psicosi latente.

### ***1.5.2 Abuso/tossicodipendenza e comorbilità psichiatrica***

Il 53% dei tossicodipendenti presenta disturbi mentali soprattutto di tipo depressivo, schizofrenico, fobico, ossessivo e maniacale. Può risultare difficoltoso da parte del clinico stabilire se i disturbi precedono o seguono l'assunzione di una sostanza e soprattutto se tali patologie sono amplificate dall'uso di sostanze stupefacenti (Girardi P. et al., 2000).

Nel primo caso (i disturbi mentali causano l'assunzione di sostanze) possono fungere da fattore predisponente. Secondo alcuni studiosi infatti l'abuso di sostanze stupefacenti può considerarsi come una sorta di automedicazione per il controllo dei sintomi psichiatrici disturbanti. Alcuni studi hanno evidenziato la depressione come il fattore predittivo più evidente dell'uso di droghe pesanti (Manna V., 2001).

Nel secondo caso i disturbi mentali sono la conseguenza dell'azione devastante che molte droghe hanno sull'organismo, come nel caso della psicosi indotte da amfetamine o da cocaina (*Silvestrini B., 2002*). In particolare una sostanza può indurre una sindrome psicopatologica ex novo, può evidenziare un disturbo psicopatologico latente oppure causare la ricaduta in un preesistente disturbo mentale. Per chi ha una storia d'abuso di sostanze il rischio di presentare disturbi mentali, è di circa quattro volte superiore a quello della popolazione generale.

E' quindi evidente che se la presenza di un disturbo mentale può essere un fattore di rischio per la tossicodipendenza è altrettanto ovvio che l'abuso di sostanze psicotrope può alterare l'equilibrio psichico, inducendo quadri francamente patologici. L'uso di sostanze potrebbe essere considerata una forma di automedicazione, in una sottopopolazione di soggetti già portatori di disturbi mentali più o meno evidenti prima dell'uso di sostanze; al contrario in soggetti con una specifica vulnerabilità psico-biologica l'uso di determinate sostanze potrebbe slatentizzare disturbi psicopatologici compensati e non evidenti prima dell'uso di sostanze.

Di fatto si osserva una forte relazione tra disturbi mentali ed uso voluttuario di sostanze psicotrope e inoltre si osservano associazioni preferenziali tra l'uso di certe sostanze e la presenza di specifici quadri psicopatologici:

- Disturbi psicotici: frequentemente associati all'abuso di derivati anfetaminici, di allucinogeni e di cocaina. Dal punto di vista strettamente sintomatologico le psicosi tossiche possono non distinguersi dai quadri psicotici primitivi. Gli allucinogeni possono indurre effetti psicotici acuti, psicosi protratte e disturbi percettivi post-allucinogeni (distorsioni della percezione sensoriale con "flash back", che insorgono in oltre la metà dei soggetti esposti e che possono persistere, a distanza di anni dall'ultima assunzione della sostanza). Circa il 50% dei soggetti presenta manifestazioni psicotiche alla prima assunzione. Circa lo 0.5% dei soggetti trattati sperimentalmente con LSD presentava manifestazioni psicotiche protratte (*Manna V., 2001*).
- Disturbi dell'Umore: frequentemente associati all'uso di oppioidi e di cocaina.

Sul piano prognostico la presenza di un quadro di comorbilità psichiatrica, associato alla dipendenza da sostanze, depone di solito in senso negativo. E' possibile pertanto affermare che esistono 2 tipi diversi di tossicomania, quella semplice e quella complicata, contraddistinta da disturbi mentali che o spingono all'assunzione della droga o ne costituiscono la conseguenza (*Silvestrini B., 2002*).

In conclusione il medico del Ser.T o l'educatore nel sospetto di una condizione di dipendenza o nel caso evidenzi la presenza di disturbi psichici può avvalersi della collaborazione e del

parere di altre competenze specialistiche quale ad esempio quella dello psichiatra, di estrema utilità per un inquadramento diagnostico corretto che è il presupposto per l'inserimento responsabile del soggetto affetto da tossicodipendenza nella comunità lavorativa. Gli esami tossicologici (dosaggio degli oppioidi e dei metaboliti urinari) costituiscono l'elemento di prova, che però la legislazione subordina al consenso da parte del soggetto esaminato.

## ***1.6 TECNICHE ANALITICHE PER LA DETERMINAZIONE DI XENOBIOTICI NELLA MATRICE CHERATINICA***

### ***1.6.1 Modalità di raccolta del campione***

La procedura di raccolta dei capelli deve essere standardizzata: il prelievo va eseguito in sede nucale. La raccolta (almeno 200 mg di capelli paragonabili ad una ciocca di capelli del diametro di una matita) deve essere effettuata in un ambiente non contaminato e da personale istruito; il taglio deve essere eseguito con forbici pulite con una piccola quantità di alcool o acetone e poi asciugate. Indossare dei guanti monouso; isolare con le dita il ciuffo di capello, con forbici, meglio se a punta ricurva, tagliare a filo della cute senza recare fastidio al paziente. Il ciuffo tagliato deve essere fissato dalla porzione della radice ad un foglio di carta e fissato con del nastro adesivo di carta. Firmare sul nastro adesivo e riportare i dati anagrafici in stampatello o tramite etichetta paziente. Conservare il campione in una busta chiusa sigillata controfirmata sui bordi.

In caso di valenza medico-legale tagliare sempre due campioni e sigillarli in due buste differenti.

Indicare sul modulo scheda paziente le terapie farmacologiche eventualmente eseguite e indicare se possibile l'ultimo utilizzo della o delle sostanze d'abuso. Riportare nel rispetto della privacy anno di età, sesso e motivazione dell'esame.

### ***1.6.2 Lavaggio e preparazione del campione***

E' necessario operare un lavaggio dei capelli per eliminare i grassi ed i contaminanti ambientali di diversa natura che potrebbero creare interferenze a livello analitico ed infine escludere una contaminazione esterna da parte degli analiti in esame. D'altra parte, i solventi

utilizzati nel lavaggio devono essere tali da poter eliminare per quanto più possibile le sostanze esogene senza di fatto estrarre le sostanze contenute all'interno del capello. In questo senso è importante anche il tempo di contatto tra liquido di lavaggio e superficie da lavare.

Al termine del lavaggio, il campione viene asciugato a temperatura ambiente con carta bibula, dopo di che i capelli devono essere triturati con forbici ben pulite in modo da ottenere segmenti di circa 0,1-0,3 cm di lunghezza o meglio possono essere triturati tramite mulino a palle.

Nel caso si voglia eseguire un esame segmentale dei capelli, sarà necessario innanzitutto poter disporre di una quantità iniziale maggiore di campione al fine di avere per ogni segmento una quantità di almeno 20 mg. A tale scopo, la ciocca di capelli in esame andrà distribuita su carta bibula fissando le due estremità con pinze di metallo e quindi si procederà al taglio dei vari segmenti a partire dalla punta fino alla estremità vicina all'attaccatura al cuoio capelluto. Tali segmenti, riconoscibili con un numero progressivo che verrà attribuito a ciascuno di essi, andranno poi ulteriormente triturati e trattati con un solvente opportuno al fine di estrarre dall'interno della matrice gli analiti di interesse.

### ***1.6.3 Digestione della matrice cheratinica e estrazione degli analiti***

Lo scopo delle procedure di digestione è quello di estrarre in maniera selettiva e quantitativa gli analiti di interesse dall'interno della matrice cheratinica, senza modificare chimicamente gli analiti stessi (*Chiarotti M., 1993*). La completa dissoluzione del capello assicura il rilascio quantitativo degli analiti contenuti all'interno, ma le severe condizioni chimiche spesso utilizzate possono sia distruggere analiti di interesse sia estrarre sostanze aspecifiche interferenti al momento dell'analisi. Per questo esistono una serie di procedure applicabili a più analiti e alcune specifiche per le varie classi di sostanze che si possono distinguere in quattro tipi principali:

- digestione enzimatica: consiste nella digestione del capello a caldo (37-45°C) per periodi di tempo che vanno da tre ore a tutta la notte in soluzioni tampone specifiche contenenti enzimi.
- Digestione basica: consiste nella digestione del capello a temperatura ambiente o a caldo (fino a 100°C) per periodi di tempo che vanno da un'ora a tutta la notte con soluzioni di idrossido di sodio a diversa molarità. Viene utilizzata nella ricerca di cannabinoidi, benzodiazepine e nicotina.

- Digestione acida: consiste nella digestione del capello a temperatura ambiente o a caldo (fino a 100°C) per periodi di tempo che vanno da un'ora a tutta la notte con soluzioni di acido cloridrico a diversa molarità. E' sconsigliata per la ricerca di oppiacei.
- Digestione in alcol metilico: consiste nella digestione del capello a temperatura ambiente o a caldo (fino a 56°C) per periodi di tempo che vanno da alcune ore a tutta la notte. Non assicura la completa dissoluzione della matrice cheratinica ed ha un potere estrattivo ridotto, ma i processi di idrolisi sono assenti e non necessita di una estrazione successiva.

Ad esclusione del trattamento con alcol metilico, i processi di digestione richiedono una successiva estrazione degli analiti di interesse per eliminare la presenza di interferenti. I processi estrattivi principalmente utilizzati sono: l'estrazione con solventi o miscele di solventi non miscibili con la fase acquosa utilizzata nella digestione (estrazione liquido-liquido) e l'estrazione della fase acquosa sopra menzionata per ripartizione tra una fase solida inserita in una cartuccia e un solvente di eluizione non miscibile con la fase solida (estrazione in fase solida SPE).

#### ***1.6.4 Standard interno e curve di calibrazione***

L'utilizzo di una molecola quale standard interno rende i risultati di analisi, condotte in più stadi (campionamento, conservazione del campione, estrazione degli analiti e rilevazione), indipendenti da eventuali errori di diluizione, da variazioni del volume di campione introdotto nello strumento di analisi, dal recupero di estrazione o da eventuali perdite di campione durante le varie fasi analitiche.

L'indipendenza da tutti questi fattori deriva dal fatto che la quantificazione si basa su misure relative e cioè sulla misura del rapporto tra l'area dell'analita e quella dello standard interno.

Sostanze deuterate, con caratteristiche chimico-fisiche identiche a quelle degli analiti di interesse rappresentano gli standard interni ideali in quanto vengono estratti, purificati e rivelati in modo del tutto analogo alle molecole in esame, garantendo così un'estrema riproducibilità analitica.

Le rette di calibrazione vengono costruite analizzando campioni contenenti quantità note e variabili di analita e quantità note e costanti di standard interno.

I risultati si riportano in diagramma: sull'asse delle ascisse si pone la concentrazione dell'analita, sull'asse delle ordinate il rapporto tra le aree dei picchi cromatografici relativi all'analita ed allo standard interno.



Qualora la risposta strumentale risulti lineare nel range di concentrazioni preso in esame, l'interpolazione dei dati comporta la formulazione dell'equazione di una retta di taratura, con un coefficiente di correlazione prossimo all'unità.

La concentrazione degli analiti nei campioni reali viene calcolata inserendo il valore del rapporto tra le aree dei picchi cromatografici dell'analita e dello standard interno (valore misurato mediante l'analisi) nell'equazione della curva di calibrazione: la concentrazione dell'analita nel campione incognito è data dal valore della x.

### ***1.6.5 Metodi cromatografici***

Le analisi di conferma devono essere specifiche per i singoli analiti, avere una sensibilità uguale o maggiore al valore soglia stabilito nei test preliminari e fornire un dato quantitativo. Nel caso della matrice cheratinica, poiché non esistono veri e propri test di screening, non si può parlare di vere e proprie "analisi di conferma". Ciò nonostante, la Society of Hair Testing raccomanda l'utilizzo di metodiche di analisi quali gas cromatografia o HPLC accoppiata alla spettrometria di massa. L'esigenza di un rivelatore assoluto, lo spettrometro di massa, è dovuta sia alla complessità della matrice cheratinica e quindi della possibile presenza di interferenti analitici, sia al fatto che nella maggior parte dei casi i risultati delle analisi assumono valore medico-legale.

**HPLC/MS.** La cromatografia in fase liquida ad alte prestazioni (HPLC) è una tecnica di separazione ad elevata efficienza e selettività che consente di caratterizzare differenti molecole in base a specifiche caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e steriche. Il nome HPLC si riferisce alla possibilità di realizzare alte pressioni in testa alla colonna cromatografica, permettendo pertanto di utilizzare colonne impaccate con fasi stazionarie costituite da particelle di piccole dimensioni.

Per questa tipologia di analisi viene utilizzata una cromatografia liquida in fase inversa: la fase stazionaria è apolare mentre la fase mobile è polare. La colonna cromatografia contiene materiale cromatografico impaccato, costituito da una lunga catena alifatica (C8 octyl – (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH<sub>3</sub>) legata a un supporto inerte (microsfere di silice o materiale polimerico).

La fase mobile è invece costituita da miscele di soluzione tampone acquosa e solventi organici quali metanolo o acetonitrile. Per preservare la colonna cromatografica è posta a monte una precolonna con analoghe caratteristiche della colonna "madre" ma con lunghezza molto inferiore, che ha il compito di "filtrare" il composto prima che raggiunga la colonna cromatografica e proteggerla da sbalzi di flusso.

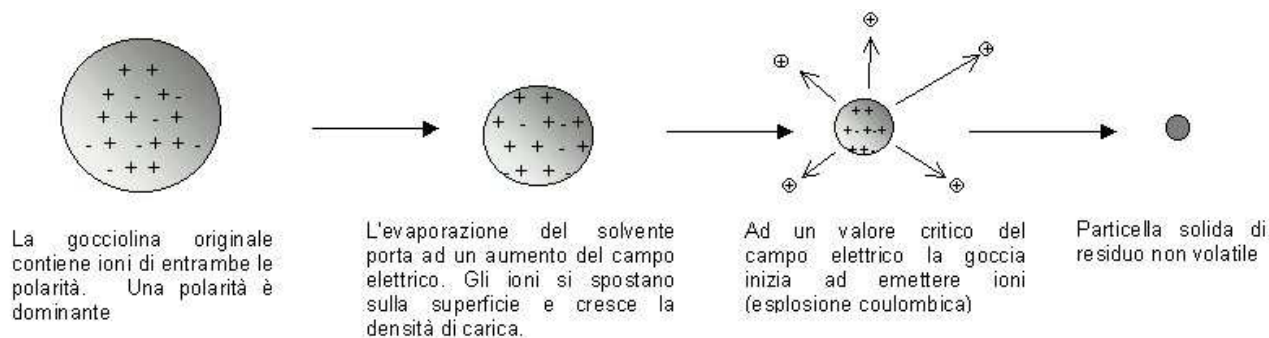
Una tipologia di eluizione è quella a gradiente, in cui due o più solventi di differenti polarità vengono mescolati in proporzioni prestabilite, e che ha la caratteristica di aumentare l'efficienza della separazione diminuendo il tempo di corsa.

L'abbinamento della cromatografia liquida con la spettrometria di massa rappresenta una fusione ideale tra separazione e rilevamento, in quanto uno spettrometro di massa è in grado di identificare le specie che vengono eluite da una colonna cromatografica.

La spettrometria di massa si basa sulla ionizzazione e successiva frammentazione delle molecole, e sulla separazione degli ioni generati mediante opportuni analizzatori. Ciascuna sostanza si ionizza e si frammenta secondo regole ben precise, che dipendono dalla struttura della molecola stessa e pertanto, mostra uno spettro di massa caratteristico, definito "impronta digitale", in quanto, in base ai valori di  $m/z$  e alle intensità relative dei frammenti ionici che derivano dal processo di ionizzazione elettronica, identifica univocamente una sostanza.

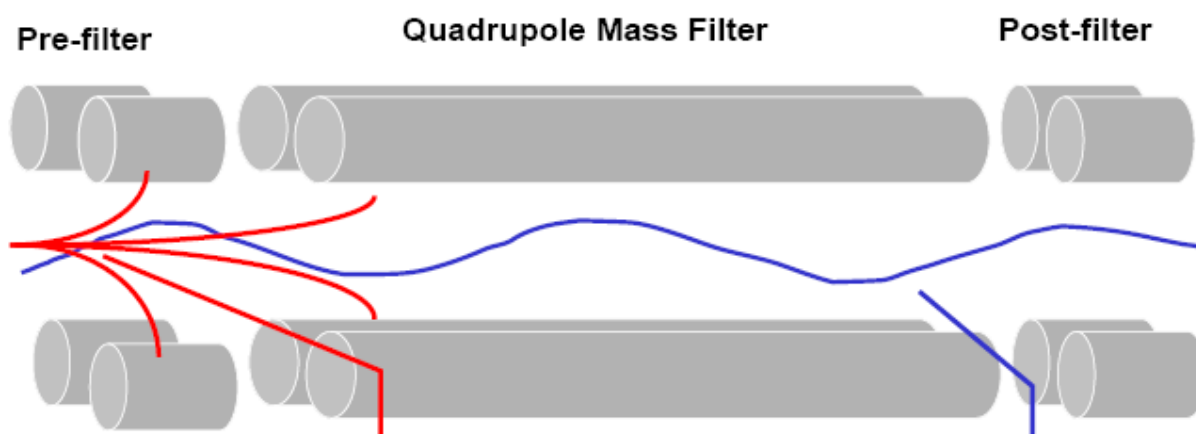
Nell'accoppiare queste due tecniche però è necessaria un'interfaccia come l'Electrospray che vaporizza e rimuove gran parte del solvente in cui è disciolto l'analita in uscita dalla colonna cromatografica.

In generale il processo di ionizzazione ESI può essere riassunto in quattro punti fondamentali: nebulizzazione, desolvatazione, evaporazione e formazione degli ioni. La soluzione di analita passa attraverso un nebulizzatore dove incontra un flusso di gas (azoto) che circonda la soluzione. La combinazione delle forze di taglio generate dal gas e dal campo elettrico presente consente alla soluzione di uscire attraverso il capillare con la formazione di goccioline. Si ottiene così uno spray fine di goccioline cariche sulla superficie per azione dei campi elettrostatici. Queste goccioline vengono sottoposte a riscaldamento mediante l'uso di un gas riscaldato (sempre azoto) che porta alla parziale evaporazione del solvente. Le dimensioni delle goccioline diminuiscono sensibilmente, mantenendo però la stessa quantità di cariche. Quando la forza di Coulomb eguaglia la tensione superficiale, le goccioline esplodono liberando gli ioni dell'analita.



A questo punto gli ioni vengono trasportati e focalizzati all'interno dello spettrometro di massa dove vengono analizzati tramite quadrupolo e poi rilevati da un detector (moltiplicatore di elettroni).

Il quadrupolo è un analizzatore formato da quattro barre, due caricate elettricamente a potenziale positivo e due a potenziale negativo. Il potenziale è la somma di una componente continua (VCC) e una alternata (VAC), oscillante a radiofrequenze dell'ordine dei 100 MHz. Gli ioni provenienti dallo ionizzatore attraversano il quadrupolo parallelamente alle barre con una traiettoria oscillante e per un dato valore dei potenziali solo gli ioni con un singolo valore del rapporto  $m/z$  raggiungono il rivelatore, tutti gli altri ioni, aventi valori maggiori o minori di  $m/z$ , vanno a collidere sulle barre. La scansione di uno spettro si ottiene facendo variare simultaneamente VCC e VAC, mantenendo costante il loro rapporto. Il tempo di scansione è di circa un secondo. Il risultato finale di quest'analisi è uno spettro di massa.



I metodi di acquisizione dei risultati che si possono scegliere nella spettrometria di massa sono diversi a seconda del tipo di analisi che si vuole effettuare (qualitativa o quantitativa) e della specificità e sensibilità che si vuole ottenere.

**METODOLOGIA SCREENING O FULL SCAN:** I dati di uno spettro di massa full scan di una sostanza derivano dall'acquisizione del segnale relativo a tutti gli ioni generati nella camera di ionizzazione dalla sostanza nel range di valori di  $m/z$  selezionato per l'analisi, e consente di effettuare indagini qualitative volte all'identificazione e all'individuazione di sostanze incognite.

Lo spettrometro di massa lavora con un solo quadrupolo. La frammentazione avviene a livello del cono. Il rivelatore legge una grande quantità di frammenti che vengono poi esaminati grazie alla *library* presente nel software. Con questo metodo si possono analizzare fino a 500 diverse sostanze. La sensibilità non è però elevata tanto che può essere necessaria un'ulteriore conferma se la Library individua la presenza di una particolare sostanza.

**METODOLOGIA MRM (Multiple-reaction monitoring):** utilizza la tecnica MS/MS lavorando con tre quadrupoli. Il primo quadrupolo serve per isolare uno ione con determinato rapporto  $m/z$ . Questo ione, attraversando la cella di collisione (un secondo quadrupolo), genera dei frammenti. Gli ioni figli formati per frammentazione passano nel terzo quadrupolo che è programmato per far passare al rivelatore solo uno ione figlio. Al rivelatore, rispetto alla metodologia "full scan", arriva una minor quantità di ioni. Questo implica una maggior sensibilità del sistema e quindi un miglior rapporto segnale/rumore. Per esempio, per la ricerca di un farmaco in uno stesso campione, il rapporto S/N nella metodologia full scan era di 209, mentre nella metodologia MRM era pari a circa 60000. Si ricorre all'MRM per analisi mirate, quando cioè so quali sostanze devo ricercare. Inoltre poiché molte molecole possono avere uguale PM, ulteriori frammentazioni possono permettere una più certa identificazione.

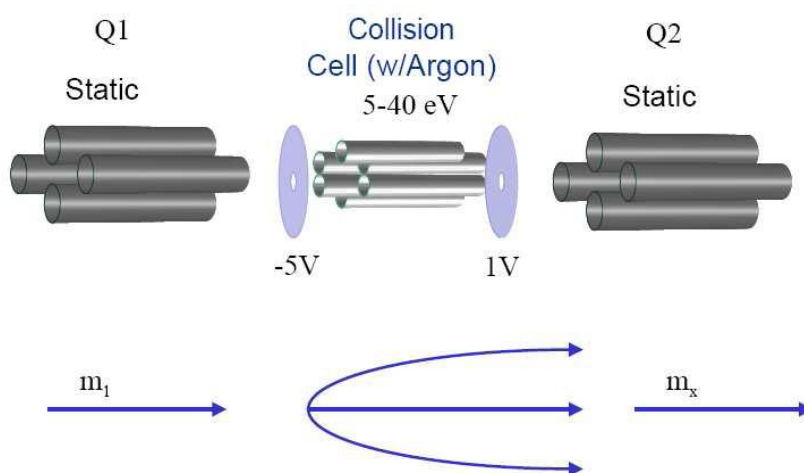


Figura: Sistema a triplo quadrupolo

Il risultato finale delle analisi va espresso in ng di xenobiotico/mg di capelli; accanto al risultato quantitativo andrà espressa la lunghezza in cm del segmento analizzato e la sua distanza dalla base del cuoio capelluto.

Il cut-off può essere definito come il limite inferiore al di sotto del quale non è possibile avere l'assoluta certezza dell'avvenuta assunzione di una sostanza stupefacente. Pertanto il valore di

cut-off permette di correlare inequivocabilmente la positività rilevata con l'effettiva assunzione.

Il valore di cut-off analitico dipende dalla tecnica, dalla strumentazione utilizzata, dal metodo analitico e dalle sue caratteristiche di accuratezza, precisione e sensibilità. L'introduzione dei valori di cut-off rende più efficace l'interpretazione dei dati analitici e consente di non incorrere in eventuali falsi positivi. Bisogna precisare, inoltre, che i valori di cut-off variano a seconda del tipo di analisi (screening o conferma) e della matrice che si vuole analizzare.

I valori di cut-off del decreto della Presidenza del Consiglio dei Ministri del 18-09-2008 sono i seguenti:

Oppiacei: 0.2 ng/mg di capello per ciascun composto in esame;

Cocaina: 0.2 ng/mg di capello (presenza di benzoilecgonina, 5% della cocaina, cut-off: 0.05 ng/mg di capello);

Derivati anfetaminici: 0.2 ng/mg di capello;

Metadone e EDDP: 0.2 ng/mg di capello

THC e metaboliti: 0,1 ng/mg di capello

Buprenorfina: 0,05 ng/mg di capello

Il meccanismo di incorporazione di farmaci e sostanze d'abuso nel capello è un processo complesso influenzato da molte variabili. L'unica proposta riguardante la correlazione tra concentrazioni trovate e consumo di oppiacei e cocaina (schematizzata di seguito) è quella secondo cui concentrazioni di 6-monoacetilmorfina inferiori a 0,5 ng/mg di capello e di cocaina inferiori a 1 ng/mg di capello escluderebbero il consumo; valori di 6-monoacetilmorfina inferiori a 2 ng/mg di capello e di cocaina inferiori a 4 ng/mg di capello indicherebbero un consumo basso; valori di 6-monoacetilmorfina tra 2 e 10 ng/mg di capello e di cocaina tra 4 e 20 ng/mg di capello indicherebbero un consumo medio e valori di 6-monoacetilmorfina superiori a 10 ng/mg di capello e di cocaina superiori a 20 ng/mg di capello indicherebbero un consumo elevato (*Zacà S., 2006*).

	<b>6-MAM</b>	<b>Cocaina</b>
<b>Non consumo</b>	<b>&lt; 0,5 ng/mg</b>	<b>&lt; 1 ng/mg</b>
<b>Consumo basso</b>	<b>&lt; 2,0 ng/mg</b>	<b>&lt; 4,0 ng/mg</b>
<b>Consumo medio</b>	<b>2,0 – 10,0 ng/mg</b>	<b>4,0 – 20,0 ng/mg</b>
<b>Consumo elevato</b>	<b>&gt; 10,0 ng/mg</b>	<b>&gt; 20,0 ng/mg</b>

Alcuni autori sostengono che una contaminazione esterna del capello non possa a priori essere esclusa (*Kidwell D.A. and Blank D.L., 1995*). In effetti, mentre per alcuni analiti (oppiacei, amfetamine, benzodiazepine, antidepressivi triciclici,antiepilettici) la presenza nella matrice cheratinica implica con una certa sicurezza il consumo, in altri casi (cocaina, cannabinoidi, nicotina) l'effetto di una contaminazione esterna può essere presente.

## ***1.7 I SUPPORTI FARMACOLOGICI NELLA TOSSICODIPENDENZA***

Vi sono numerosi farmaci in grado di aiutare il paziente tossicodipendente a non ricadere nella necessità di trovare la risposta al disagio mentale nelle sostanze d'abuso, in particolare ci si riferisce agli psicofarmaci (antidepressivi e benzodiazepine) ed a due oppioidi sintetici nel caso di dipendenza da eroina/morfina.

Tra gli psicofarmaci maggiormente utilizzati nei Ser.T e nei dipartimenti di salute mentale, troviamo gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) quali citalopram e sertralina e farmaci che interagiscono con la trasmissione serotoninergica e noradrenergica (SNRI), in particolare la venlafaxina.

Tra gli oppioidi sintetici, metadone e buprenorfina hanno un ruolo preminente nel trattamento farmacologico della tossicodipendenza da eroina; di fatto il metadone è tutt'ora la soluzione farmacologica più conosciuta ed utilizzata dai Ser.T, rispetto alla buprenorfina.

### ***1.7.1 Metadone***

L'indicazione del metadone come farmaco di elezione nel trattamento della dipendenza da oppiacei risale agli anni '60. Da allora il metadone ed il suo uso nella clinica sono stati oggetto di centinaia di studi clinici.

Il metadone o amidone (dl-6-dimetilamino-4,4-difenil-3-eptadone) è un analgesico narcotico agonista con azione selettiva sui recettori  $\mu$  (mu) che mostra delle proprietà farmacotossicologiche simili a quelle della morfina.

Diversamente dalla morfina, il metadone viene legato in grande quantità (circa l'85% del totale) dalle proteine plasmatiche in diverse proporzioni: a) albumina 40-45%; b) gamma globuline 15-20%; c) alfa e beta globuline 15-20%. Questo alto legame con le proteine plasmatiche permette di avere una "riserva di farmaco" che evita un'astinenza precoce in caso di brusca interruzione del farmaco.

Il metadone viene somministrato per via orale poiché viene assorbito facilmente nel tratto gastro-intestinale ed il picco plasmatico si raggiunge dopo circa quattro ore dall'assunzione. L'emivita plasmatica del metadone è molto lunga, circa 24 ore, mentre le massime concentrazioni cerebrali vengono raggiunte dopo 1-2 ore dalla somministrazione orale del farmaco. Il metadone viene metabolizzato principalmente nel fegato e soltanto il 10% circa della dose assunta viene ritrovata immodificata nelle urine e nelle feci.

Il metadone sopprime la sindrome da astinenza da oppioidi per 12-24 ore e come altri mu-agonisti deprime il centro respiratorio, produce ipotermia e iperglicemia lievi, svolge azione sedativa sulla tosse, inibisce la peristalsi, produce spasmo del tratto biliare.

Assunto per via orale viene assorbito a livello del tratto gastrointestinale e si ritrova nel sangue entro 30 minuti. Il picco di concentrazione plasmatica avviene dopo circa 4 ore. L'assorbimento è lineare, non modificabile dalla dose.

Il metadone presenta un'ottima biodisponibilità, attraversa sia la barriera ematoencefalica che quella placentare.

Le concentrazioni di equilibrio plasmatico si raggiungono dopo 7-14 giorni, la sua durata d'azione è di 22-48 ore, il suo effetto dipende dallo stato di tolleranza agli oppioidi di chi lo assume.

Il metadone, come la maggioranza dei farmaci ad azione analgesica-narcotica, lascia assai rapidamente il torrente circolatorio e si localizza nei parenchimi polmonari, epatici, renali e splenici. Il metadone associa all'attività analgesica gli stessi effetti collaterali negativi del capostipite degli oppioidi, la morfina: sviluppo di dipendenza fisica e tolleranza.

In sostanza i tre grossi vantaggi nell'utilizzo del metadone sono: efficace attività analgesica, prolungata durata d'azione e somministrazione per via orale.

Una volta ingerito il metadone subisce un processo catabolico attraverso la via dell'N-demetilazione che consiste nel demolire la struttura vera e propria del farmaco per ritrovare i suoi principi attivi. Con tale via, infatti, il farmaco viene trasformato prima di tutto in 2-etilidene-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina o più comunemente chiamato EDDP e successivamente in 2-etil-5-metil-3,3-difenil-1-pirrolina denominato semplicemente EMDP. Entrambi hanno la caratteristica di non essere attivi quindi l'attivazione del metadone prevede

l'interazione con altri enzimi. Esso, per diventare attivo, reagisce con l'alcol deidrogenasi diventando  $\alpha$ -Metadolo e successivamente con altrettante trasformazioni si arriva ad avere  $\alpha$ -Normetadone ed infine  $\alpha$ -Dinormetadolo. Di tutto il metadone assunto possiamo distinguere un'analisi che si può effettuare sulle urine e un'altra che si può effettuare attraverso analisi del capello.

La posologia per il metadone deve essere conforme alla storia di tossicodipendenza del paziente.

In tutto ciò la decisione di intervenire con nuove metodiche sul paziente deve essere effettuata con il consenso del paziente stesso e la principale funzione dei controlli tossicologici dovrebbe essere quella di fornire un riscontro oggettivo sul raggiungimento della remissione e un segnale del possibile passaggio ad altre sostanze.

Nonostante il metadone venga usato come composto leader nella tossicodipendenza non bisogna dimenticare controindicazioni quali cirrosi epatica, epatite cronica, insufficienza renale, insufficienza respiratoria eccetera.

Come è noto, il paziente in trattamento con metadone ha associate diverse terapie farmacologiche per patologie psichiatriche e/o infettive che riportano il problema delle interazioni farmacologiche; in particolare l'associazione con oppioidi, fenotiazinici, sedativi ipnotici, antidepressivi triciclici ed alcol produce un potenziamento degli effetti depressivi sul SNC e sul circolo; la clonidina potenzia l'analgesia e la prolunga; l'associazione con farmaci anti-HIV crea un'influenza reciproca tale da necessitare un aumento dei farmaci antiretrovirali.

Gli obiettivi del trattamento con metadone consistono nell'effetto ansiolitico, nella riduzione del craving verso oppioidi e nel blocco degli effetti da uso di oppiacei attraverso l'induzione graduale di una adeguata tolleranza agli effetti del metadone.

E' possibile classificare tre tipi di dosaggio metadonico:

1. Dosaggio anti-astinenziale

Per il trattamento della sindrome da astinenza (20-40 mg/die).

A questo dosaggio non vi è blocco dei recettori per gli oppioidi né azione preventiva verso ricadute nell'uso di oppiacei;

2. Blocking-dosage

A questo dosaggio (60-80 mg/die) il soggetto non riesce più a percepire gli effetti gratificanti dell'eroina; permane il craving verso la sostanza, per cui può ricorrere l'uso di alcol, benzodiazepine o altri farmaci psicoattivi per superare la tolleranza agli oppiacei;

3. Dosaggio anti-craving



Generalmente blocca l'appetizione compulsiva (80-120 mg/die). Al contrario della dose bloccante, questa è una dose molto soggettiva. Se, in occasione di eventi, in soggetti stabilizzati, si osserva il craving, si adegua il dosaggio ad un livello superiore per un breve periodo.

La disassuefazione con metadone a scalare è il metodo più rapido ed efficace per eliminare la sintomatologia astinenziale da eroina. Le linee guida della *Food and Drug Administration* per la disintossicazione da oppioidi ne prevedono due tipi:

a) Disintossicazione a breve termine

ha una durata non superiore a 30 giorni, e' indicata soprattutto per soggetti dipendenti da oppioidi diversi dal metadone (nella maggioranza dei casi eroina).

b) Disintossicazione a lungo termine

ha una durata non superiore ai 180 giorni, è indicata per i soggetti già in trattamento con il metadone, che intendono concludere la terapia.

La disintossicazione dovrebbe essere effettuata con una prima somministrazione di metadone ad un dosaggio sufficiente a coprire gli eventuali sintomi astinenziali, ma non tale da dare problemi di sovradosaggio. Generalmente il range varia a seconda dei casi tra i 20 e i 40 mg. Raggiunta la stabilizzazione clinica con totale remissione della sintomatologia astinenziale, si può iniziare a ridurre il dosaggio di metadone fino ad azzerarlo.

La letteratura prevede diverse modalità di divezzamento del metadone.

La più semplice sembra quella di ridurre di 5 mg/die, a giorni alterni o ogni 3 giorni e di rallentare la scala quando il soggetto raggiunge il dosaggio di 15 mg/die.

A quel punto si può continuare a dimezzare di 1 mg ogni 2 giorni o di 1 mg die fino a giungere a 0 mg. Nell'ultima fase è possibile che il soggetto necessiti di terapia sintomatica per il manifestarsi di eventuali sintomi astinenziali.

Una buona riduzione della sintomatologia astinenziale a carico del Sistema Nervoso Autonomo, si ottiene con l'utilizzo della clonidina; sintomi addominali risultano facilmente trattabili con loperamide; per i dolori muscolari si può utilizzare tiocolchicoside.

Irritabilità, irrequietezza ansia e insonnia possono essere trattati con benzodiazepine.

Trattamento di stabilizzazione con metadone.

Il trattamento di stabilizzazione con metadone prevede una dose di farmaco stabile e sufficientemente elevata per poter essere efficace, per un periodo di tempo superiore ai 6 mesi. Tale trattamento fa parte di un programma terapeutico a lungo termine e di durata non predeterminabile. In letteratura è segnalato che l'efficacia è tanto maggiore quanto più a lungo

e' stato protratto il trattamento e che una maggiore ritenzione in trattamento si associa a dosaggi più elevati.

Il trattamento di stabilizzazione con metadone deve avere tre effetti principali: a) Prevenire la comparsa della sindrome astinenziale da oppioidi per almeno 24 ore b) bloccare gli effetti gratificanti di un'eventuale uso di eroina, c) eliminare o almeno ridurre il craving per gli oppioidi.

Il conseguimento di tali effetti permette al soggetto di interrompere l'uso di eroina e di investire delle "energie" su un'ipotesi reale di cambiamento di vita, questo con il supporto di analisti, psicologi ed educatori.

La dose ottimale per la maggior parte di soggetti in trattamento con metadone a mantenimento e' quella di 80 mg /die, con un range che va da 60 a 100 mg.

Nella pratica clinica, comunque, la dose ottimale è quella che consente al paziente di non presentare craving verso l'eroina, sedativi, ansiolitici o verso l'alcol e ciò si rileva dall'anamnesi e dall'assenza di cataboliti di sostanze psicoattive nelle urine.

Le principali complicanze del trattamento di stabilizzazione con metadone sono la contemporanea assunzione di farmaci metabolizzatori rapidi di metadone e la copresenza in diagnosi di comorbilità psichiatrica. In questo caso si rende necessario aumentare il dosaggio del metadone al di sopra dei 120 mg/die.

Un aspetto da non sottovalutare e la coassunzione di alcol, di benzodiazepine, di cocaina, di cannabinoidi ed altre sostanze d'abuso, infatti i soggetti poliabusatori vanno trattati con un'attività di counselling più frequente. Tali soggetti andrebbero inizialmente stabilizzati con il metadone e successivamente sarebbe opportuno iniziare una graduale disassuefazione dalle altre sostanze d'abuso.

La conclusione del programma di trattamento di stabilizzazione con metadone, avviene attraverso un percorso estremamente lento. L'esperienza clinica insegna a non voler precorrere i tempi, perché tale scelta risulta frequentemente fallimentare.

Non bisogna "cedere" alle richieste del paziente che spesso sono strumentali o reattive a situazioni familiari, lavorative, sociali, né "forzare" eccessivamente i tempi di uscita dal programma di trattamento.

Il soggetto deve dimostrare un reale cambiamento, ben consolidato, in particolare sul piano psicologico e sociale. Questo comporta buona coscienza di malattia, un nuovo stile di vita, la nascita di interessi diversi, l'abbandono dell'ambiente, possibilmente un lavoro stabile e buone capacità di fronteggiare le situazioni "a rischio" che riporterebbero il soggetto a ricadute.

Dare la possibilità, qualora ce ne fosse la necessità, di un rientro nel trattamento senza lunghi tempi di attesa, rassicura molto e consente di curare immediatamente un'eventuale ricaduta, riducendo i rischi correlati all'uso protratto di eroina.

#### Interventi di “bassa soglia”

L'impiego del trattamento con metadone nei programmi a bassa soglia, risulta essere una modalità molto efficace nell'aggancio di soggetti che risultano poco disponibili rispetto a programmi terapeutici più strutturati.

I programmi terapeutici a bassa soglia che prevedano l'uso di un trattamento con metadone per i consumatori di eroina per via endovenosa, non hanno l'obiettivo di curare la tossicodipendenza, ma intendono avvicinare i consumatori di eroina e ridurre il consumo ed i comportamenti “a rischio”, in particolare connessi all'uso endovenoso, in un'ottica di riduzione del danno.

Gli obiettivi ricercati nel trattamento con metadone a bassa soglia sono la riduzione dei seguenti punti: mortalità (per overdose, per malattia), patologie infettive (HIV, epatiti), carcerazione e del numero dei reati connessi all'uso di sostanze stupefacenti e degli stati di emarginazione di isolamento sociale.

#### Controlli tossicologici

L'esecuzione del test di screening delle droghe d'abuso, si ritiene necessaria prima dell'impostazione di qualsiasi trattamento con metadone.

Non è dimostrata, invece, alcuna influenza positiva dei controlli tossicologici sull'esito di una qualsiasi terapia per le tossicomanie, ad eccezione dei casi in cui i dati dei controlli tossicologici siano utilizzati nell'ambito di un programma comportamentale concordato con l'interessato.

Anche la frequenza di tali controlli è spesso determinata da considerazioni extra terapeutiche.

La principale funzione dei controlli tossicologici, dovrebbe essere quella di fornire un riscontro oggettivo sul raggiungimento della remissione e un precoce segnale del possibile passaggio ad altre sostanze.

L'esecuzione di esami tossicologici settimanali in soggetti in trattamento con metadone, potrebbe essere utile per documentare l'avvenuto raggiungimento dell'astensione da eroina, ma non sembra opportuno monitorare settimanalmente persone stabilizzate.

Per costoro possono essere previsti controlli tossicologici quindicinali o mensili o anche esami su matrice cheratinica a intervalli più lunghi.

## Affidamento del metadone: normative e concetti generali

Negli ultimi 30 anni vari provvedimenti legislativi e amministrativi, statali e regionali, hanno limitato o esteso la possibilità dei medici di effettuare, sulla base dei dati scientifici e nel rispetto del codice deontologico, terapie con farmaci sostitutivi per la tossicodipendenza da oppiacei.

Il D.P.R. 171/93 abrogò, a seguito di referendum popolare i seguenti punti del TU 309/90:

*l'art. 2, punto 4), lettera e), comma 1),* che attribuiva al Ministero della Sanità la competenza di stabilire con proprio decreto “i limiti e le modalità d’impiego dei farmaci sostitutivi”;

*l'art. 72 comma 1* che vietava “l’uso personale di sostanze stupefacenti o psicotrope di cui alle tabelle previste *dall’art.14* “ e “qualunque impiego di sostanze stupefacenti o psicotrope non autorizzato secondo le norme del presente testo unico”;

*l'art. 72 comma 2* limitatamente alle parole “ di cui al *comma 1*” il cui nuovo testo è pertanto “ è consentito l’uso di preparati medicinali a base di sostanze stupefacenti o psicotrope debitamente prescritti secondo le necessità di cura in relazione alle particolari condizioni patologiche del soggetto”.

Il Ministero della Sanità emanò, in seguito a tale nuova situazione giuridica, non più un decreto, ma la circolare 20/94 contenente linee guida che suggerivano una serie di procedure (alcune delle quali successivamente superate da ulteriori norme legislative), affermando, tra l’altro, che la consegna del farmaco sarebbe stata fatta solo “ad un familiare referente” che, “attendibilmente”, garantisse sul suo uso appropriato, “stretto congiunto del paziente, scrupolosamente identificato e non sostituibile da altro familiare se non per eccezionale necessità”.

La legge 8 febbraio 2001 n.12 introdusse una serie di modifiche agli *articoli 41 e 43 della legge 309/90* allo scopo di regolamentare la prescrizione di stupefacenti fino a 30 giorni per la terapia analgesica, ma escluse l’applicabilità delle nuove norme alle terapie sostitutive per le tossicodipendenze che, quindi, restarono prescrivibili da qualsiasi medico, ma per dosaggi massimi pari a soli 8 giorni di terapia.

La legge 49/2006 modificò nuovamente il Testo Unico 309/90 definendo, *all'articolo 4 vicies ter, comma 13*, un nuovo testo *dell'articolo 43*.

In particolare, risulta modificato il *comma 2*, che consente ora la prescrizione di oppiacei fino a 30 giorni, mentre viene eliminato dal *comma 3* ogni riferimento agli 8 giorni per i tossicodipendenti.

Si prevede inoltre esplicitamente (*comma 5*) la consegna del farmaco, con riferimento alla “persona a cui sono consegnati in affidamento i medicinali”, senza più cenno, quindi, a

rapporti di parentela o ad altre limitazioni diverse da quelle già previste dall'art. 44 per minorenni o “manifestamente infermi di mente”.

La consegna del farmaco deve però avvenire contestualmente all'esibizione di una prescrizione medica o di un piano terapeutico.

Lo stesso articolo, tuttavia, prevede che il piano terapeutico sia predisposto da una “struttura sanitaria pubblica o da una struttura privata autorizzata ai sensi dell'art. 116, comma 2” (i cosiddetti “Ser.T. privati”).

Pertanto, attualmente, la terapia sostitutiva per la dipendenza da oppiacei è limitata solo dal dettato della versione in vigore della legge 309/90 che prevede, in sintesi: obbligo del registro di carico e scarico, divieto di consegna a minori e persone manifestamente inferme di mente, scopo terapeutico della prescrizione, consegna o prescrizione su ricettario ministeriale fino ad un massimo di 30 giorni di terapia.

### **L'analisi del metadone nella matrice cheratinica e ricerca di “valori di riferimento” nella matrice cheratinica.**

Moeller e coll. dall'analisi segmentale del capello su 5 soggetti in trattamento con metadone trovò una concentrazione media di 10,9 ng/mg di metadone e una concentrazione media di 1,2 ng/mg di EDDP (Moeller M.R. et al., 1993). Wilkins e coll. in due soggetti trovarono una media di 21 ng/mg per Metadone e 2,6 ng/mg di EDDP (Wilkins D.G., 1996). Goldenberg e coll. riscontrarono dall'analisi di 20 pazienti eroinomani una concentrazione di metadone superiore a 15 ng/mg per 18 di questi, mentre l'EDDP fu trovata solo in tracce e l'EMDP solo in un paziente (Goldenberg B.A. et al., 1998). Lucas e coll. dall'analisi di otto pazienti trovarono una concentrazione di metadone che andava da un minimo di 2,45 ng/ml ad un massimo di 78,10 ng/ml; per l'EDDP i valori andavano da un minimo di 0,98 ad un massimo di 7,76 ng/mg di capello (Lucas A.C. et al., 2000).

Infine da un'analisi condotta su 26 pazienti estratti da un programma di mantenimento, si trovò anche in questo caso delle grosse differenze di concentrazione, che andavano da 0,7 ng/mg a 43 ng/mg con una media di 8,2 ng/mg. Gli stessi autori dichiaravano anche che a loro modo di vedere non era possibile valutare la relazione tra la dose assunta e la concentrazione rilevata su capello (Girod C. and Staub C., 2001). Bisogna però considerare due aspetti dai dati raccolti dai diversi autori; il primo è che non si evince la certezza che dai pazienti arruolati vi fosse una corretta compliance, la seconda è che sono state usate metodiche strumentali diverse, il che non aiuta la commutabilità dei dati.

Di fatto, sembra ragionevole considerare valido una range di concentrazione compreso tra 6 e 18 ng/mg per definire se il paziente segue o meno la terapia, ma risulta fondamentale l'analisi segmentale del capello per verificare nel tempo il rispetto della posologia.

Il cut-off imposto dalla normativa vigente è: 0.2 ng/mg di capello.

### **1.7.2 Buprenorfina**

La buprenorfina (denominazione commerciale: Subutex, Temgesic, Finibron), è un potente analgesico usato per le diverse sindromi dolorose che ha avuto un grande successo nei consumi drogastici ed oggi è uno dei prodotti più richiesti dai tossicodipendenti da oppiacei (eroinomani).

La buprenorfina è un derivato semisintetico della tebaina; ha un peso molecolare di 467,33, formula bruta  $C_{29}H_{41}NO_4$ , ed è altamente lipofila.

La buprenorfina è un analgesico centrale del tipo «agonista-antagonista» ed è 25-50 volte più potente della morfina e circa 200 volte più potente della pentazocina. Rispetto alla morfina, la buprenorfina ha un effetto analgesico più duraturo, che si prolunga per 6-8 ore. La sua attività nella terapia di mantenimento è attribuibile al suo legame reversibile in modo lento con il recettore  $\mu$  che, in un periodo prolungato, limita la necessità di oppiacei per i pazienti tossicodipendenti/tossicomani (Rossi F. et al., 2005).

Il picco plasmatico del farmaco viene raggiunto dopo circa 6 minuti, quando viene somministrato per via intramuscolare e dopo circa 2 ore dopo somministrazione sublinguale; l'emivita del farmaco ( $t_{1/2}$ ) varia da 1 a 3 ore quando viene somministrato per via intramuscolare o endovenosa.

Studi in vitro, hanno dimostrato che la buprenorfina ha un alto legame con le proteine plasmatiche circa il 96% ed in modo particolare alle frazioni alfa e beta- globuliniche.

La buprenorfina viene metabolizzata mediante due processi principali: la N-dealchilazione e la formazione di glucoronati in posizione "3".

La maggior parte (circa il 70%) della buprenorfina assunta viene escreta nelle feci e solo una piccola quantità nelle urine, principalmente sotto forma dei suoi metaboliti: glucoronato di buprenorfina, glucoronato di N-dealchilbuprenorfina ed N-dealchilbuprenorfina. Alla dose di 5 mg/kg di peso corporeo, per via endovenosa, l'effetto analgesico nell'uomo compare dopo 15- 20 minuti e raggiunge il picco massimo dopo circa 60 minuti mentre, con dosi di 400 mg per via sublinguale, l'effetto inizia dopo 15-45 minuti ed è assai variabile.

Quando i tossicodipendenti da oppiacei ne assumono dosi extraterapeutiche, si osservano segni e sintomi di assuefazione e di astinenza.

Molti tossicodipendenti sfruttano la proprietà di “agonista parziale” della buprenorfina per rinforzare gli effetti dell’eroina, che viene assunta contemporaneamente.

Nei tossicodipendenti da eroina o morfina, dosi sottocutanee di buprenorfina comprese tra 0,2 e 2 mg provocano i tipici effetti dell’eroina, quali: euforia, rilassamento emotivo e miosi (che persiste per circa 3 giorni).

Nei casi di overdose da buprenorfina il naloxone non è efficace e si deve intervenire con il doxapram (analettico centrale aspecifico) oltre ai comuni interventi di rianimazione.

Come avviene per il metadone è utile confermare la presenza di nor-buprenorfina nelle urine per controllare la compliance dei tossicodipendenti in terapia, per evitare l’adulterazione.

Il cut-off urinario imposto dalle normative vigenti è di 5 ng/ml; i pazienti in terapia arrivano a superare i 40 -50 ng/ml.

In letteratura non sono presenti molti lavori che correlino la dose assunta con la concentrazione nel capello; uno studio controllato riporta come range di accettabilità una concentrazione tra 0,02 e 0,59 ng/mg per la buprenorfina e 0,02 e 0,15 ng/mg per il metabolita norbuprenorfina (*Kintz P. et al., 1994*).

Il cut-off nella matrice cheratinica imposto dalle normative vigenti è di 0,05 ng/mg.

## ***1.8 L'INSUCCESSO TERAPEUTICO***

I motivi che portano ad un insuccesso terapeutico sono diversi e possono essere suddivisi in due ragioni: la prima è legata al farmaco e comprende cause farmacocinetiche e farmacodinamiche, mentre la seconda è legata al paziente: la compliance.

Numerose ricerche sono in corso per conoscere i polimorfismi genetici che potrebbero essere predittivi di una risposta ad un dato trattamento. Studi di farmacogenetica dimostrano che la funzionalità del trasportatore della serotonina è un potenziale fattore di suscettibilità genetica nei disturbi affettivi. La possibilità di valutare tale predisposizione potrebbe essere utile nel riconoscimento di un comportamento a rischio nei soggetti che mostrano depressione, isolamento sociale, comportamento autolesionistico come il suicidio fino alla ricerca di stimoli utilizzando sostanze stupefacenti (relazione cocaina e depressione).

Le cause di mancanza di compliance legata al paziente sono diverse quali: l'incomprensione delle istruzioni della prescrizione da parte del medico, la negazione della malattia (soprattutto in pazienti psichiatrici), la descrizione nel foglietto illustrativo di effetti collaterali che fanno perdere fiducia nell'effetto terapeutico del farmaco; o ancora l'elevato costo di alcuni farmaci, insieme all'abbandono della terapia al primo miglioramento dei sintomi. Non va però dimenticata la prima vera causa di mancanza di compliance: la dimenticanza.

I primi studi riguardanti la possibilità di rilevare i farmaci nel capello furono condotti da numerose case farmaceutiche su pazienti in trattamento a lungo termine perché fornivano informazioni a lungo termine per quello che riguarda la compliance e la correlazione tra la concentrazione di farmaco nel capello e la dose assunta (*Kintz P., 2007*).

I farmaci sono principalmente legati alla melanina. Conseguentemente, i composti basici e anfoteri sono più facilmente rilevabili nel capello. Però non va dimenticato che i farmaci di natura acida hanno una concentrazione plasmatica più alta; tutto ciò implica che anche le sostanze acide possono essere rilevate nel capello.

E' doveroso però ricordare che nell'ambiente scientifico non c'è tutt'ora accordo nello stabilire la correlazione tra dose assunta e quantità di farmaco nel capello (*Cirimele V. et al., 2000; Shen M. et al., 2002*).



### ***1.8.1 Valutazione della Compliance***

L'analisi della matrice cheratinica può essere utilizzata per valutare il grado di affidabilità dei pazienti ex tossicodipendenti e/o psichiatrici nei confronti delle terapie farmacologiche proposte e nel controllo di eventuali assunzioni incongrue di sostanze d'abuso.

La peculiarità della determinazione di sostanze ad azione farmacologica nella matrice cheratinica rispetto alla matrice urinaria è quella di avere, prelevando una modesta quantità di capelli, la "storia" farmacologica del paziente; in questo modo è possibile stimare mese per mese, analizzando centimetro per centimetro, se il paziente ha rispettato la terapia farmacologica, valutare eventuali recidive nell'utilizzo di sostanze illecite o se ha assunto farmaci diversi rispetto a quelli prescritti.

Tale analisi è di aiuto al clinico sia esso psichiatra, medico del Ser.T o medico del lavoro, che ha la possibilità di confrontare con un dato analitico ciò che valuta clinicamente in maniera soggettiva.

Presso il Laboratorio di Tossicologia dell'Ospedale Sant'Anna di Como sono state analizzate le matrici cheratiniche di 20 pazienti provenienti da tre diverse aree: l'area Ser.T, l'area psichiatrica ed infine l'area che riguarda la sicurezza nei luoghi di lavoro, che comprende il controllo di alcune classi di lavoratori.

I servizi pubblici per le tossicodipendenze (Ser.T) sono coinvolti negli adempimenti posti dal DRP 309/1990 riguardante il testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza (GU n. 255 del 31 ottobre 1990).

L'indagine su matrice cheratinica è stata richiesta per i seguenti motivi:

- pazienti che risultano negativi al test su urina per sostanze d'abuso durante i controlli periodici, ma che durante il colloquio con il medico del Ser.T emergevano comportamenti o atteggiamenti che potevano far sospettare un uso seppur non sistematico della o delle sostanze o un uso non terapeutico di metadone o psicofarmaci
- sospetta adulterazione per presenza di un valore di creatinuria al disotto di 20 mg/dl, che farebbe supporre una diluizione in vivo o durante la raccolta dell'urina.
- valutazione del trattamento a scalare con metadone o buprenorfina.
- valutazione del trattamento con psicofarmaci.

I pazienti provenienti dagli ambulatori psichiatrici sono invece pazienti noti in cui si sospetta, dopo valutazione anamnestica, un utilizzo di sostanze d'abuso.

Per quanto riguarda l'ambito della sicurezza nei luoghi di lavoro, il decreto dalla Presidenza del Consiglio dei Ministri del 18-09-2008 obbliga i datori di lavoro a monitorare almeno una volta all'anno alcune classi di dipendenti nei confronti delle principali sostanze d'abuso (oppiacei, cocaina, cannabinoidi, amfetamine, barbiturici, metadone e buprenorfina) per escludere una tossicodipendenza.

La metodologia analitica utilizzata in questo studio per la determinazione di farmaci e sostanze illecite o d'abuso è la Cromatografia Liquida associata alla Spettrometria di Massa a triplo quadrupolo.

Le sostanze terapeutiche e d'abuso monitorate su cui è possibile dare un esito qualitativo e quantitativo sono le seguenti:

<b>Amfetamine e metossiamfetamine</b>	<b>Cocaina</b>	<b>Opioidi</b>	<b>Sostitutivi oppiacei</b>	<b>Cannabinoidi</b>
Amfetamina	Cocaina	6-MAM	Metadone	THC
Metamfetamina	Benzoilecgonina	Morfina	EDDP	THC-COOH
MDMA	Cocaetilene	Codeina	Buprenorfina	11-OH-THC
MDA		Diidrocodeina	Norbuprenorfina	
MDEA				
MBDB				

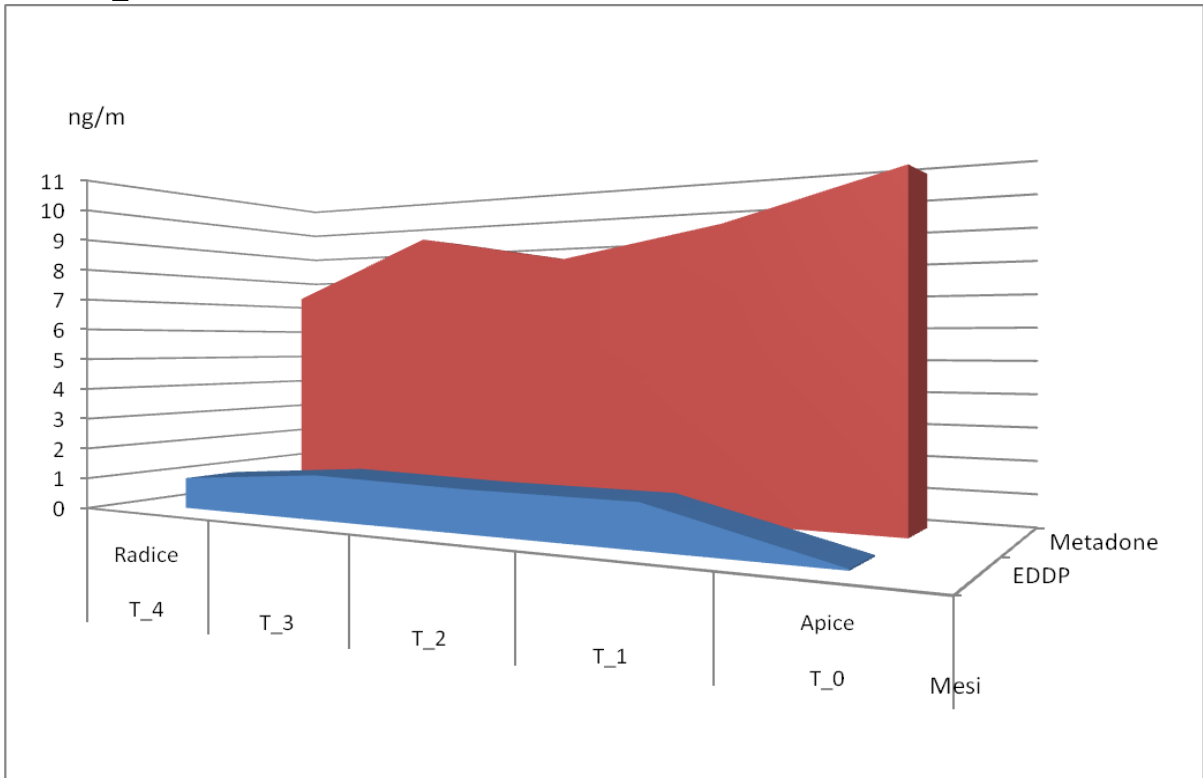
Inoltre sono state ricercate anche una serie di sostanze ad uso terapeutico, come gli psicofarmaci e gli antipsicotici, su cui è stato fornito un esito semiquantitativo.

Tra i pazienti analizzati in cura con metadone solo 2 erano considerati già complianti ed il loro arruolamento è stato proposto per cercare di identificare una correlazione tra dose di metadone assunta e concentrazione nel capello. In particolare il paziente\_9 era un paziente del Ser.T in terapia con 40 mg di metadone e il paziente\_13 era un ex eroinomane in terapia con 40 mg di metadone e psicofarmaci.

Anche se non è stato possibile analizzare un maggior numero di casi in cui era certa l'assunzione del metadone da parte del paziente, i dati ottenuti da questi due soggetti confermano quanto riportato in letteratura riguardo il range di concentrazione del metadone nel capello per definire se il paziente segue o meno la terapia.

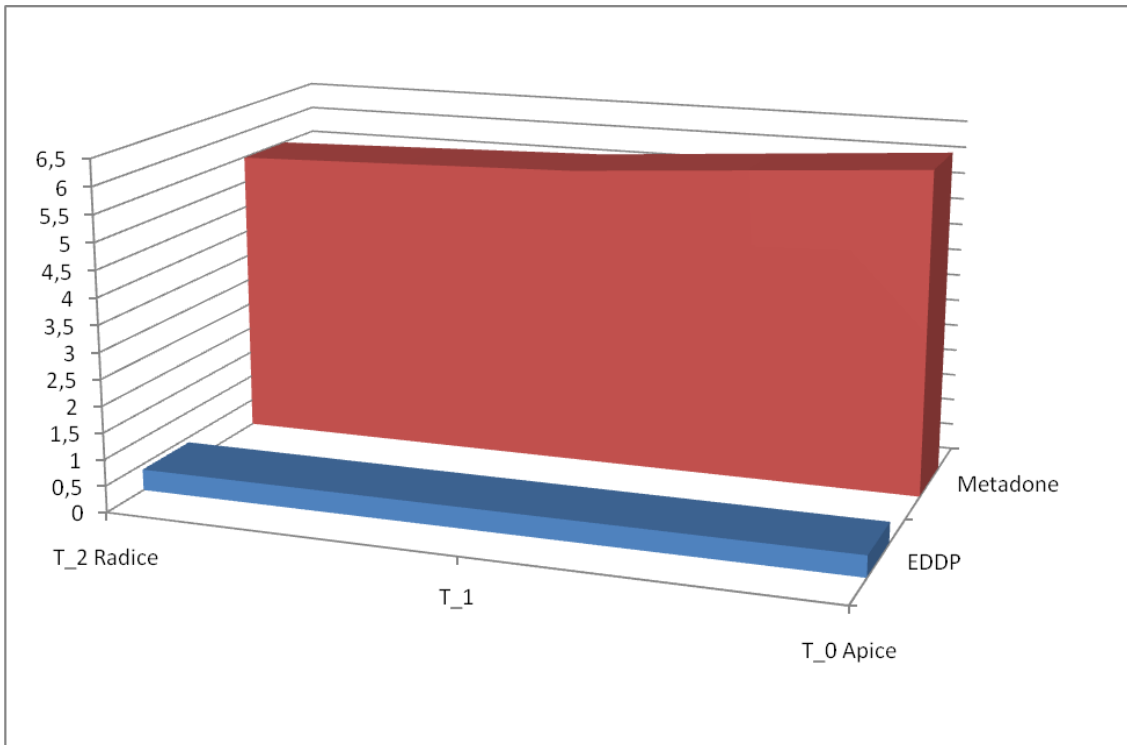
Di seguito sono riportati i grafici dei risultati dei due pazienti.

## Paziente\_9

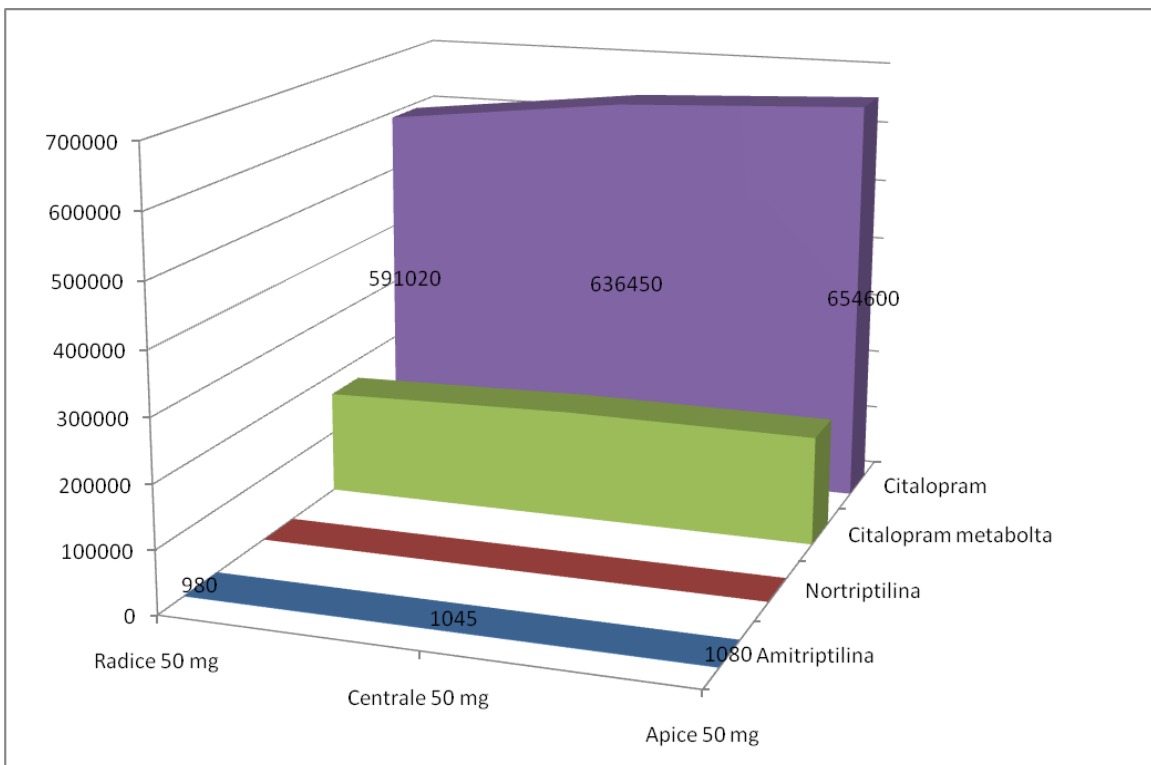


Paziente\_9: L'esame della matrice cheratinica conferma la corretta assunzione di metadone che è stato quantificato nei 5 segmenti T4, T3, T2, T1, T0 dalla radice all'apice in 7,2 ng/mg, 9,2 ng/mg, 8,3 ng/mg, 9,2 ng/mg, 10,6 ng/mg rispettivamente. Presente anche il metabolita del metadone, EDDP, in concentrazione 1,0 ng/mg, 1,4 ng/mg, 1,3 ng/mg, 1,3 ng/mg, 1,3 ng/mg rispettivamente.

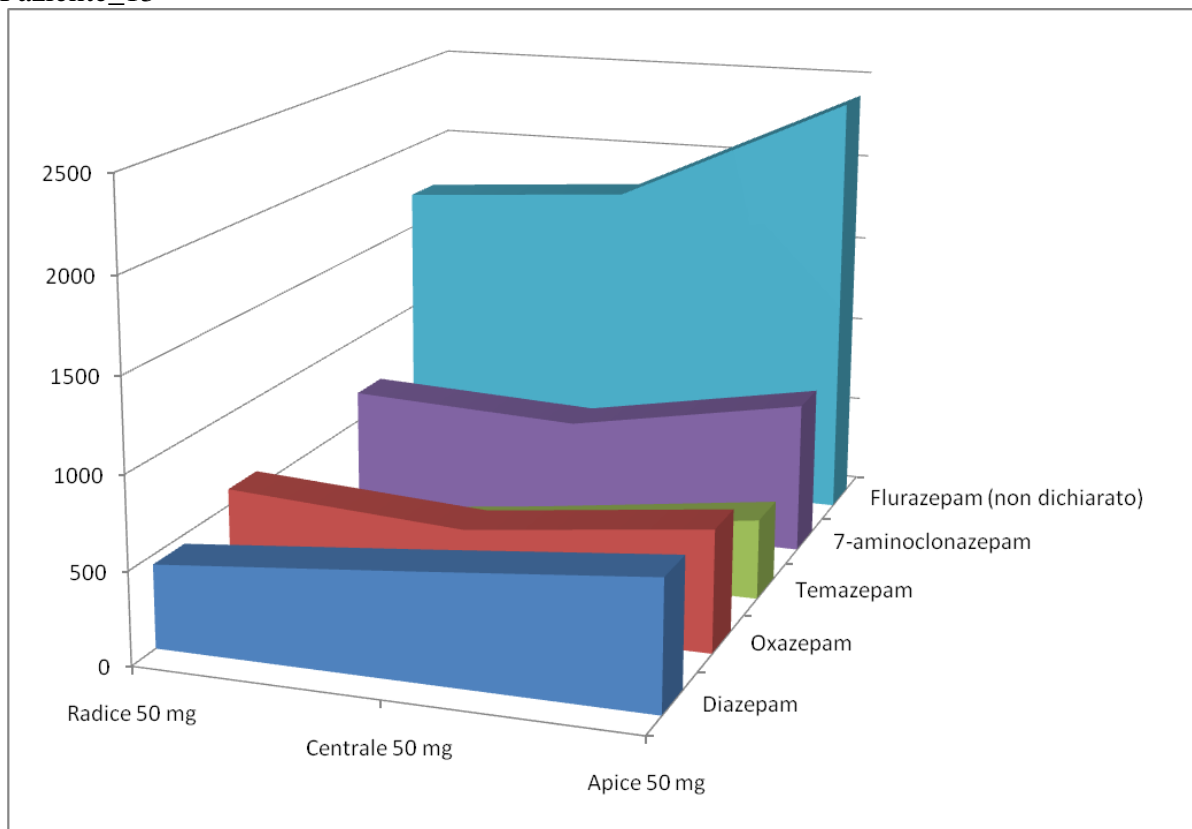
Paziente\_13



Paziente\_13



### Paziente\_13

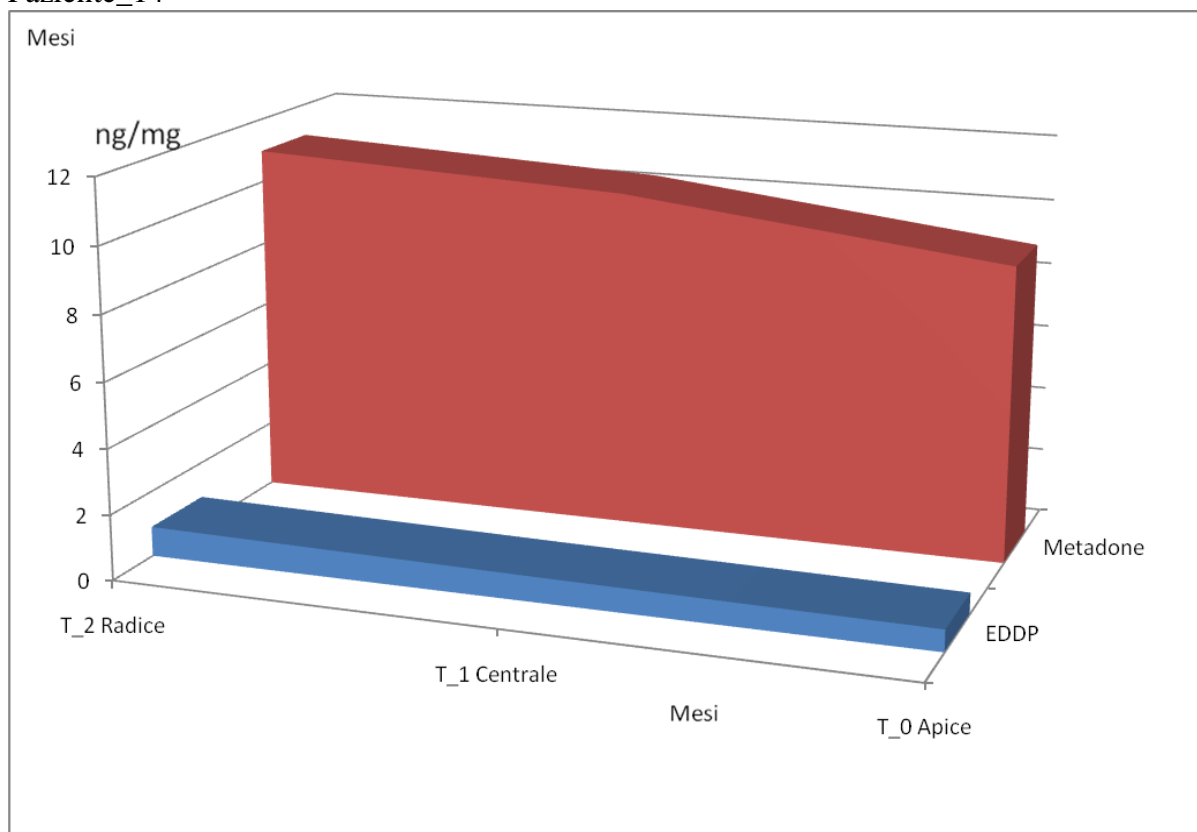


Paziente\_13: L'esame della matrice cheratinica conferma il corretto uso di metadone e l'utilizzo di citalopram e altri farmaci legati al trattamento dello stato ansioso dichiarato dalla paziente stessa.

Per quanto riguarda la valutazione della compliance degli ex tossicodipendenti in terapia sostitutiva con metadone l'analisi della matrice cheratinica ha rilevato in alcuni casi una concentrazione di metadone definita idonea e in accordo con la terapia (vedi ad es. paziente\_14), mentre in altri casi la concentrazione è risultata inferiore ai limiti identificati o addirittura si è rilevata la sola presenza in tracce; per quel che concerne la valutazione di eventuali recidive sono state riscontrate sostanze d'abuso sia in soggetti che non rispettavano la cura sostitutiva che in quelli con concentrazione valida di metadone nel capello (vedi paziente\_10).

I risultati del paziente \_14, un lavoratore il cui medico del lavoro ha richiesto l'esame per accertamenti sulla tossicodipendenza, hanno confermato l'utilizzo terapeutico del metadone senza evidenziare, per il periodo esaminato, recidive nell'uso di sostanze d'abuso.

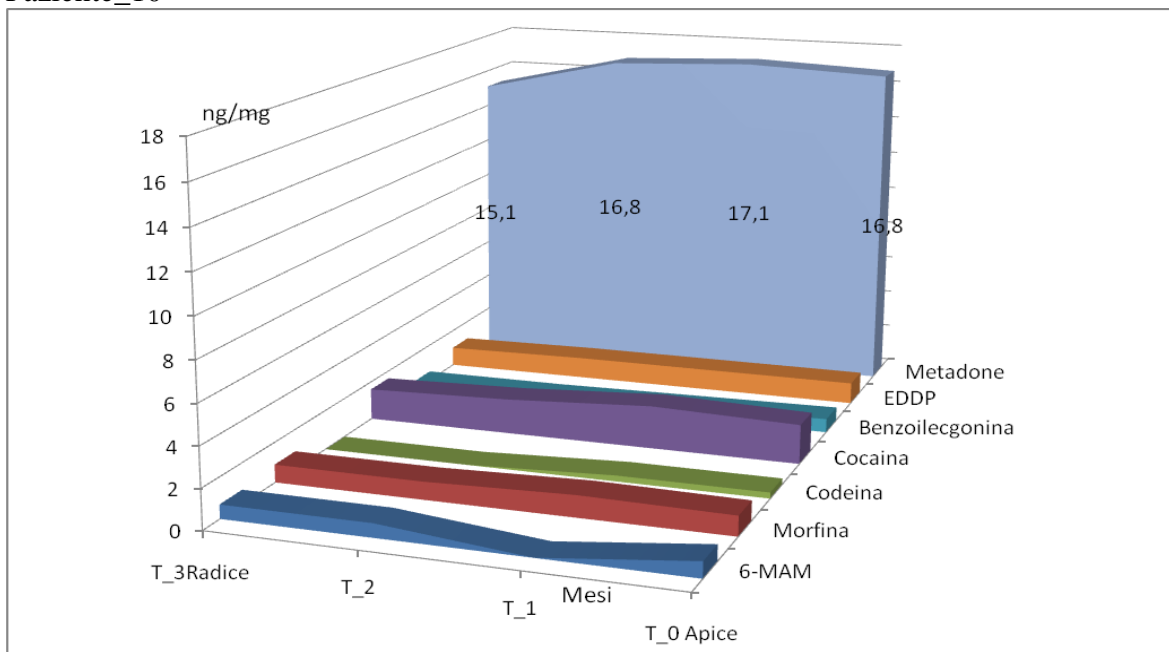
#### Paziente\_14



Paziente\_14: la concentrazione di metadone nei segmenti T2, T1 e T0 dalla radice all'apice è di 10,99 ng/mg, 10,41 ng/mg, e 9,06 ng/mg rispettivamente e conferma un uso terapeutico. Presente anche il metabolita del metadone, EDDP.

Contrariamente ai risultati del paziente precedente, gli accertamenti richiesti dal medico del lavoro per il paziente\_10 hanno mostrato un uso di cocaina ed eroina in maniera sistematica durante la terapia con metadone. Ciò ha comportato la sospensione del lavoratore dalla sua mansione e il suo invio al Ser.T

#### Paziente\_10



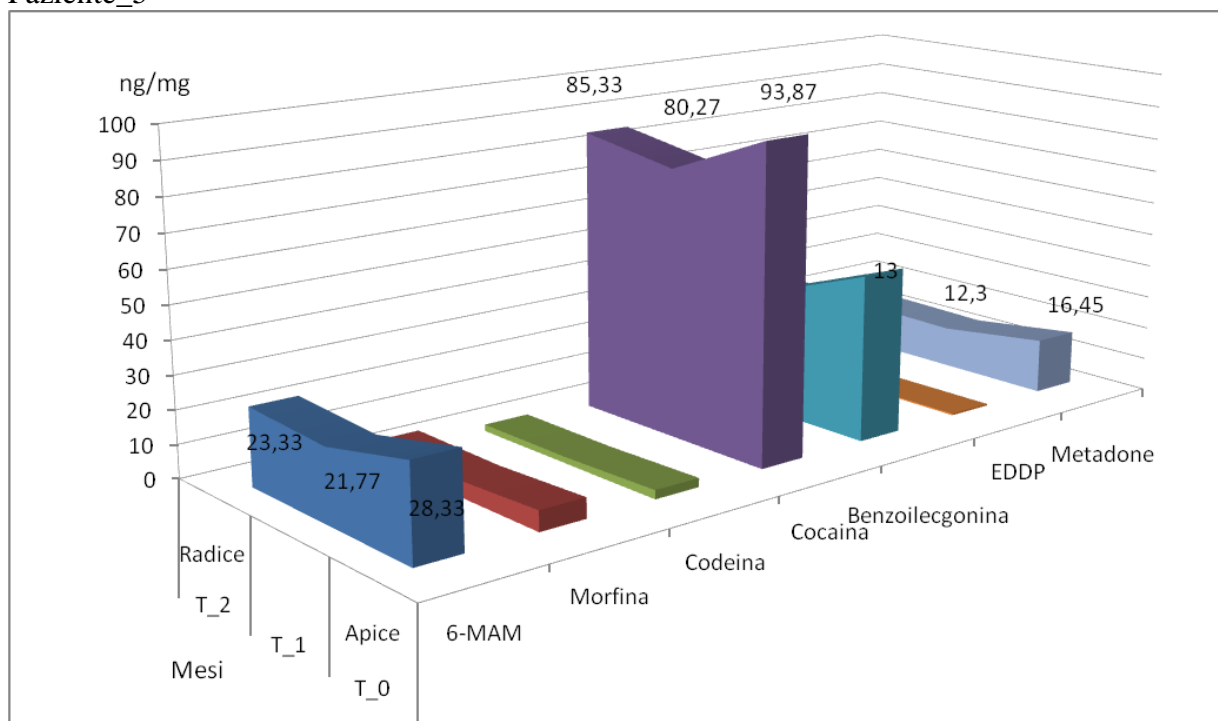
Paziente\_10: La concentrazione di metadone nei segmenti T3, T2, T1, T0 dalla radice all'apice è di 15.1 ng/mg, 16.8 ng/mg, 17.1 ng/mg, 16.8 ng/mg rispettivamente e conferma un utilizzo terapeutico. Presente anche il metabolita del metadone, EDDP, in concentrazione 1.0 ng/mg, 1.1 ng/mg, 1.1 ng/mg e 1.1 ng/mg rispettivamente. Negli stessi segmenti è stata riscontrata anche la presenza di cocaina in concentrazione di 1.6 ng/mg, 1.8 ng/mg, 2.2 ng/mg e 2.0 ng/mg rispettivamente e del suo metabolita BE che ne attesta un consumo sistematico. Inoltre la quantificazione di morfina, 6-MAM e codeina dimostra in modo inequivocabile anche un costante utilizzo di eroina.

L'importanza di questo tipo di analisi si evidenzia in modo eclatante nei casi in cui si dimostra l'assunzione di sostanze d'abuso in soggetti tossicodipendenti con test di monitoraggio su urina negativi, mettendo così a nudo la facile adulterazione della matrice urinaria. Un esempio è rappresentato dal paziente\_5, ex tossicodipendente in terapia con metadone stabilizzato (150 mg/die), in cui l'analisi della matrice cheratinica evidenzia un uso sistematico di cocaina ed oppioidi indicando una tossicodipendenza.

Le concentrazioni in ng/mg delle sostanze d'abuso rilevate sono riportate nella tabella sottostante e rappresentate in grafico.

	T_2	T_1	T_0
	Da radice		Apice
<b>6-MAM</b>	23,33	21,77	28,33
<b>Morfina</b>	5,07	4,67	6,05
<b>Codeina</b>	2,00	1,87	2,65
<b>Cocaina</b>	85,33	80,27	93,87
<b>Benzoilecgonina</b>	40,16	37,67	49,67
<b>Metadone</b>	13,00	12,30	16,45
<b>EDDP</b>	0,40	0,38	0,46

Paziente\_5



Uno dei modi per valutare una eventuale adulterazione del campione di urina, che può essere sostituita con altri liquidi, è quello di misurare la concentrazione di creatinina la quale non deve essere inferiore a 20 mg/dl.

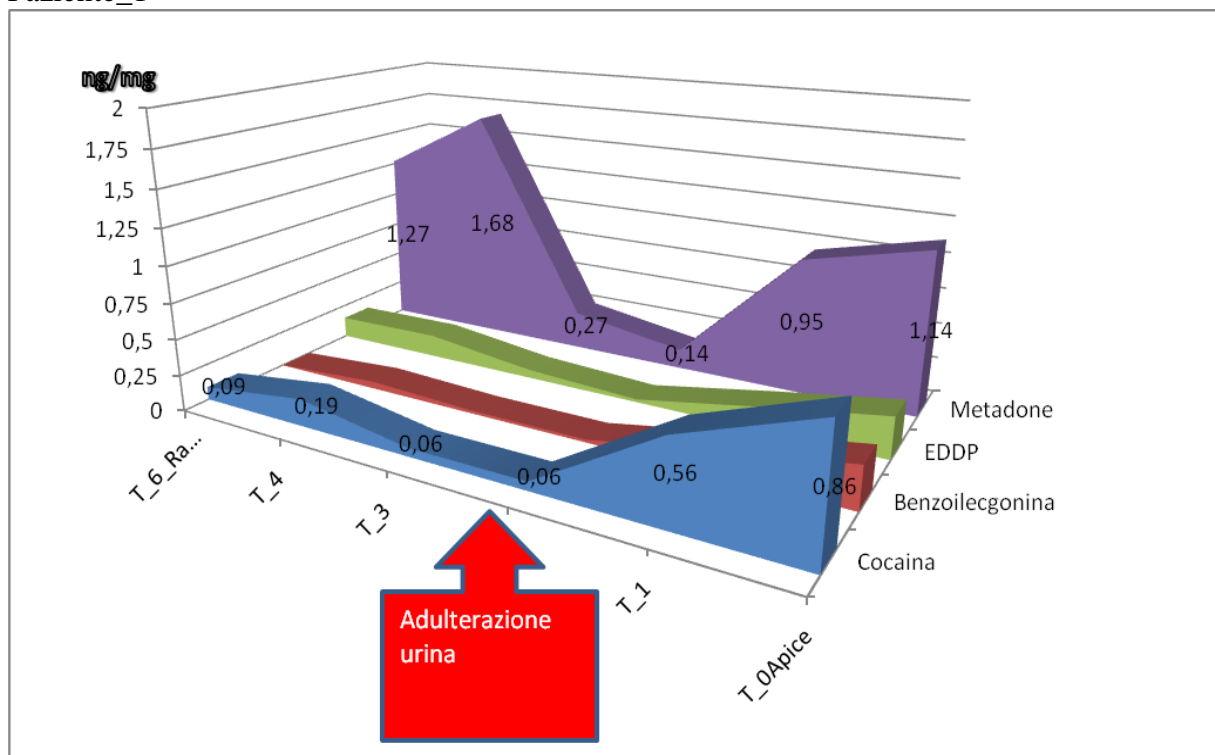


Nel paziente\_1, ex eroinomane in trattamento al Ser.T con metadone e antidepressivi, durante i controlli previsti dalla struttura è stata misurata una creatinuria < 20 mg/dl ed assenza del metabolita del metadone (EDDP), pertanto è stata richiesta l'analisi del capello.

I risultati, mostrati nel grafico sottostante, indicano che il soggetto non ha mai assunto metadone nelle posologie corrette e nel tempo tra T\_2 e T\_3 la quantità di metadone era inferiore ai valori precedenti. In questo intervallo di tempo si sospetta una adulterazione del campione di urina per simulare la terapia. L'incremento di concentrazione di metadone nel capello dopo il tempo T\_3 può essere dovuto ad un riutilizzo del farmaco dopo che è stata segnalata l'adulterazione dell'urina. In ogni caso la concentrazione al tempo T\_4 non è da considerarsi terapeutica.

Contestualmente si evidenzia inoltre l'utilizzo di cocaina.

Paziente\_1



Un altro caso di sospetta adulterazione dell'urina è quello del paziente\_3, tossicodipendente in cura al Ser.T con 50 mg/die di metadone e psicofarmaci.

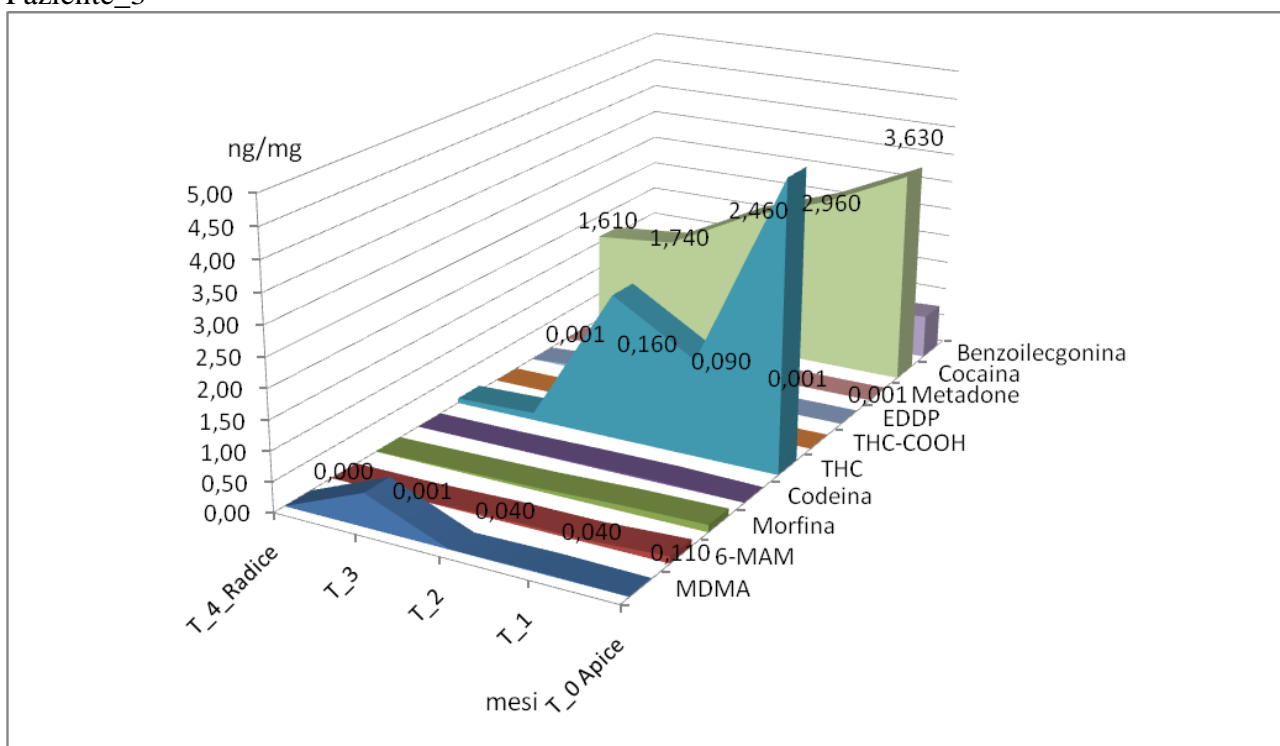
L'esame di 3 campioni di urina per la ricerca di sostanze d'abuso ha rilevato una concentrazione di metadone >100.000 ng/ml e assenza di EDDP; questo ha condotto a richiedere l'analisi della matrice cheratinica.

Dai risultati dell'esame si evidenzia una concentrazione di metadone nel capello assolutamente non terapeutica, infatti solo al tempo T\_3 è presente una concentrazione di 0.16 ng/mg che di fatto non è terapeutica e negli altri tempi è presente addirittura una concentrazione solo in tracce.

In più si rileva un uso sistematico di cocaina, THC e una presenza in tracce di eroina.

E' probabile che il soggetto esaminato abbia adulterato il campione di urina con metadone non tanto per mascherare la non adesione alla terapia sostitutiva ma per nascondere l'uso di altre sostanze d'abuso.

Paziente\_3



Paziente\_3: La concentrazione di metadone nei segmenti T4, T3, T2, T1, T0 dalla radice all'apice è di 0.001 ng/mg, 0.16 ng/mg, 0.09 ng/mg, 0.001 ng/mg, 0.001 ng/mg rispettivamente. Negli stessi segmenti è stata riscontrata anche la presenza di cocaina in concentrazione di 1.61 ng/mg, 1.74 ng/mg, 2.46 ng/mg, 2.96 ng/mg e 3.63 ng/mg rispettivamente e del suo metabolita BE che ne attesta un consumo sistematico. Inoltre è presente anche il THC nelle seguenti concentrazioni: 2.00 ng/mg, 3.00 ng/mg, 2.45 ng/mg, 1.63 ng/mg, 4.83ng/mg che indica un uso sistematico.

L'esame della matrice cheratinica può essere richiesta anche per pazienti psichiatrici che mostrano un peggioramento dello stato psichico. Con tale analisi infatti il clinico è in grado di comprendere se tale condizione è attribuibile all'utilizzo di sostanze illecite.

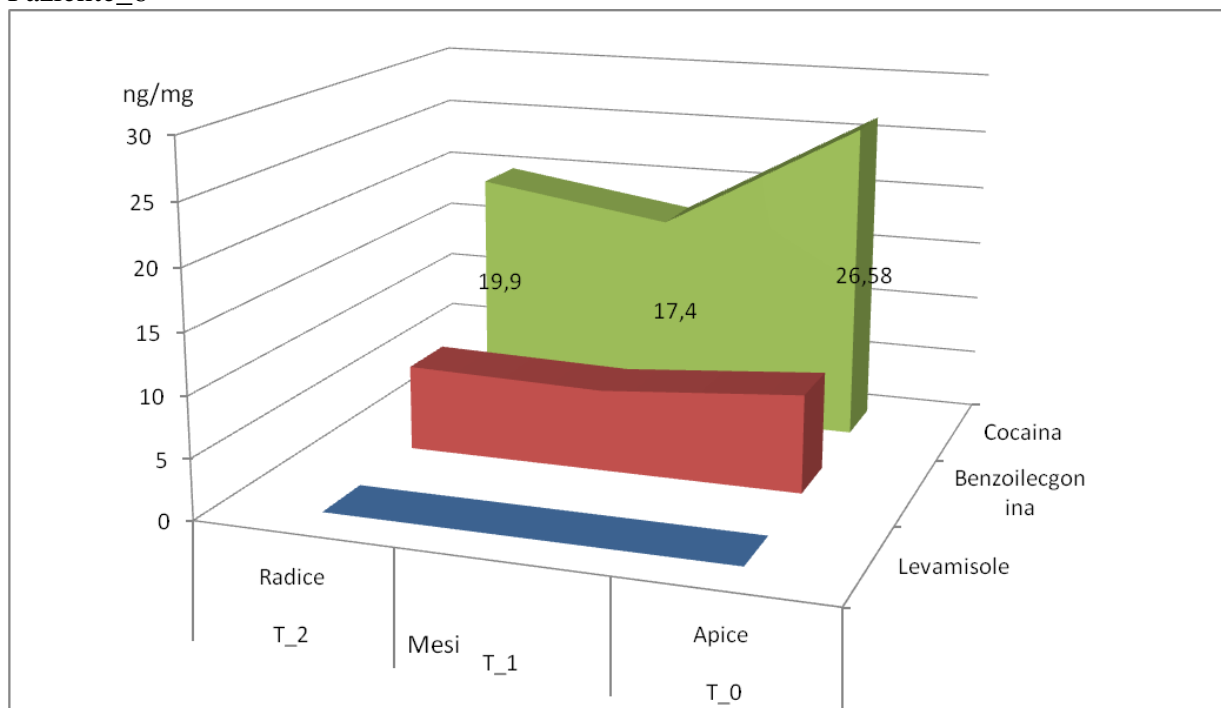
Un esempio è rappresentato dal caso del paziente\_6, un soggetto affetto da disturbo della personalità, che ha manifestato fenomeni di allucinazioni visive e uditive.

Le analisi su capello evidenziano un uso sistematico di cocaina, come sospettato dalla psichiatra.

Pertanto è lecito ipotizzare che lo stato psicotico, l'utilizzo di cocaina ma soprattutto la presenza della sostanza da taglio levamisole siano la causa scatenante ed alimentante dello stato allucinatorio del paziente.

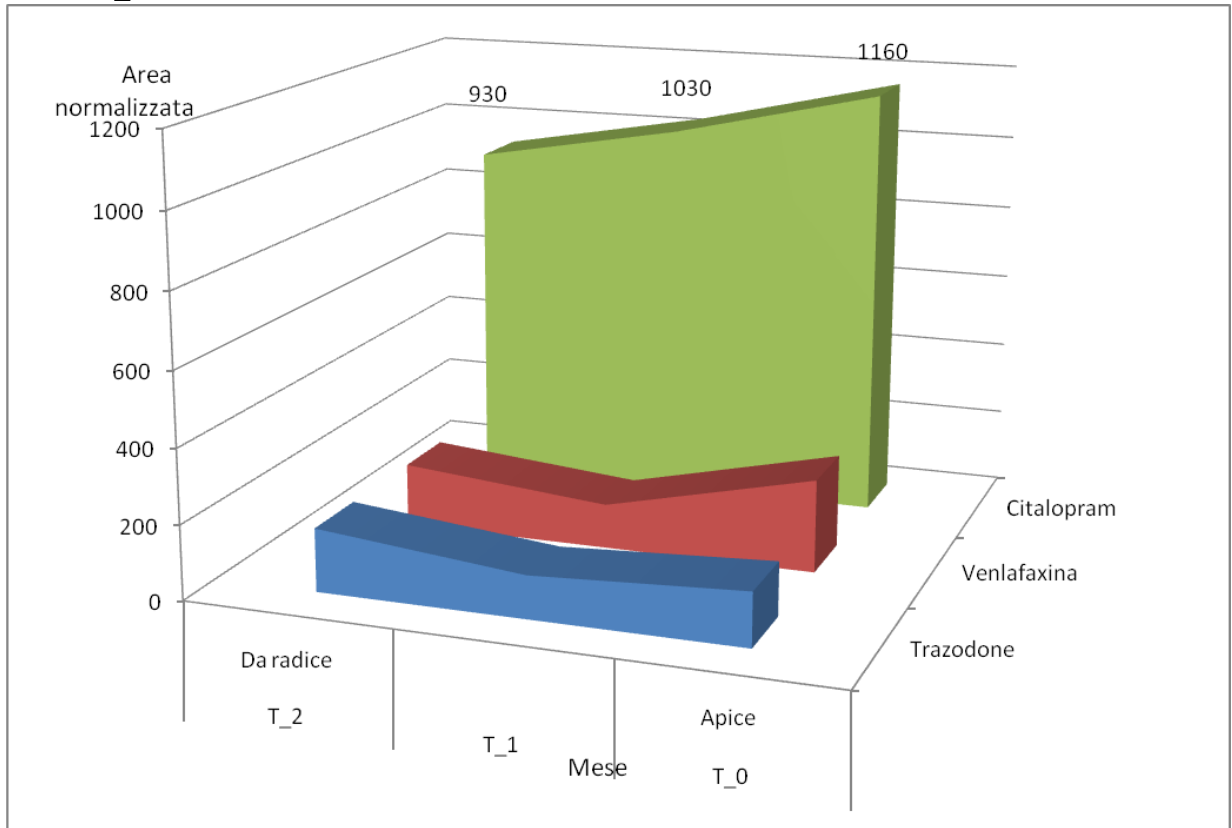
In grafico sono riportati i risultati di questo paziente.

Paziente\_6



Paziente\_6: la concentrazione di cocaina nei segmenti T2, T1, T0 dalla radice all'apice è di 19.9 ng/mg, 17.4 ng/mg e 26.58 ng/mg rispettivamente; presente anche il metabolita della cocaina BE. Si rileva anche la presenza in tutti i segmenti del Levamisole,

## Paziente\_6



Paziente\_6: Per gli psicofarmaci citalopram, venlafaxina, trazodone siamo in presenza di valori di area normalizzata che non possono essere definiti terapeutici.

## 2. DISCUSSIONE

Per quel che riguarda il monitoraggio della terapia sostitutiva con metadone, risulta evidente come l'utilizzo della sola matrice urinaria non sia sempre idonea per la verifica della adesione alla terapia in quanto, come noto, tale matrice è facilmente adulterabile. Infatti assumendo il metadone poche ore prima del campionamento è già possibile rilevare la presenza dell'analita a concentrazioni che superano i 1000 ng/ml (cut-off 300 ng/ml) simulando un utilizzo terapeutico. Non va dimenticata poi l'adulterazione che avviene durante la raccolta attuata con diverse modalità fraudolente ben descritte in letteratura e note agli addetti ai lavori.

Di fatto la sola possibilità di accertare l'adulterazione è l'analisi del campione con metodi che permettano l'identificazione e la successiva quantificazione del principio attivo e contemporaneamente del metabolita, l'EDDP. Ed anche con questa modalità è accertabile l'assunzione del metadone solamente in un arco temporale molto breve.

Un dato certo di compliance si otterrebbe analizzando l'urina in modo seriale con almeno 8 campionamenti al mese; ma ciò implicherebbe un disagio per il paziente ed un sensibile aumento dei costi per le strutture deputate al campionamento e all'analisi.

Risulta chiaro perciò come l'analisi segmentale della matrice cheratinica permetta in un sola seduta ogni 4-6 mesi di verificare nel tempo l'adesione alla terapia, pur con tutti i limiti legati alla fase di crescita e quiescenza del capello. Solo con tale metodica si può infatti ottenere un dato analitico che permetta di escludere l'adulterazione e nello stesso tempo verificare mese per mese l'adesione alla terapia.

L'urina rimane comunque una matrice valida per l'identificazione di venuta a contatto o meno di una o più sostanze d'abuso ed è facilmente analizzabile anche da strutture non specializzate. Non deve però in molti casi essere utilizzata per il monitoraggio a lungo termine di molte sostanze sia in ambito terapeutico che nel campo dell'abuso.

Con il metodo di massa in *Multiple Reaction Monitoring* utilizzato è possibile anche monitorare altre sostanze quali: le più comuni sostanze d'abuso (cocaina, oppiacei, amfetamine e derivate), gli psicofarmaci, gli antipsicotici, le benzodiazepine e le nuove *smart drugs* (psilocina, benzil piperazina, ketamina, fenciclidina, le Spice compounds, etc..). Ciò permette di avere un dato retrospettivo, di ricostruire la storia farmacologica del paziente consentendo al medico di inquadrare meglio la situazione clinica del paziente. E' possibile ad esempio documentare le eventuali ricadute nell'utilizzo di sostanze d'abuso, sempre negate da parte dei pazienti. In ben 10 casi infatti si riscontra un utilizzo di sostanze d'abuso durante il

periodo di osservazione dopo l'avvenuta "disintossicazione" e spesso si rilevano valori di concentrazione bassi ma costanti che non potrebbero evidenziarsi con l'analisi della matrice urinaria. Tali dati forniscono al clinico la certezza di come nel paziente ex tossicodipendente in trattamento non vi sia la volontà piena di allontanarsi dalla "droga" pur se con un basso consumo senza ritornare ad un utilizzo conclamato.

Per il medico del lavoro che, in presenza di una sola positività urinaria durante il controllo a sorpresa, deve valutare se il lavoratore sia un utilizzatore occasionale od un utilizzatore abituale, l'analisi sulla matrice cheratinica è l'unico mezzo a disposizione per decidere se attuare o meno la sospensione della mansione o addirittura il licenziamento, con gravi implicazioni normative e giuridiche. Come noto, in presenza di uso occasionale si rileva una sola positività borderline in una porzione del capello. Il rilevare in ogni segmento un valore di concentrazione più o meno variabile sta a indicare un uso abituale riconducibile ad uno stato di dipendenza/abuso.

### 3. BIBLIOGRAFIA

1. ACLU (American Civil Liberties Union). *Drug testing. A bad investment*, 1999, <http://www.aclu.org>
2. Alleyne BC, Stuart BA, Copes RC. *Alcohol and other drug use in occupational fatalities*, J Occup Med, 1991; 33 (4): 496-500
3. Baccini C., *Le droghe d'abuso (I) Oppioidi, cocaina, cannabinoidi (Chimica, biochimica, farmacologia e tossicologia)* Ed Caleidoscopio ISSN 0394 3291 MEDICAL SYSTEM s.p.a.
4. Bertol E., Mari F., Lodi F., Marozzi E., *Trattato di tossicologia forense*. II edizione 2000, CEDAM
5. Briatico-Vangosa G., Franco G., Fracchia G., Toffoletto F., Bontadi D., Montagnani R., Zotta M. *Tossicodipendenza e giudizio di idoneità alla mansione specifica*. Folia Med., 1998; 69(1): 93-106
6. Chiarotti M. *Overview of extraction methods*, Forensic Sci. Int. 1993; 63:161-170
7. Cirimele V., Kintz P., Gosselin O., Ludes B. *Clozapine dose-concentration relationships in plasma, hair and sweat specimens of schizophrenic patients* Forensic Science International 107 (2000) 289-300
8. Cohen S. *Drugs in the workplace*. J Clin Psychiatry, 1984; 45 (12, Sec 2):4-8
9. De Zeeuw R.A., Al Hosni I., Al Munthiri S., Maqbool A., *Hair Analysis in forensic toxicology*. Proceedings of the 1995 International Conference and Workshop. Abu Dhabi, Arab Emirates, 1995; november 19-23
10. Faccio M., Serpelloni G. *Clinica dei disturbi psichici correlati al consumo di cocaina e criteri diagnostici*.
11. Franjo Grotenhermen. *Cannabinoidi e Sistema Endocannabinoide*. Cannabinoids - Vol 1, No 1 -17 Settembre 2006.
12. Girardi P., Cozzani B., De Marco Cervino M., Tatarelli R., Dipartimento di Scienze Psichiatriche e Medicina Psicologica, Università degli Studi "La Sapienza", Roma. *L'approccio psichiatrico alla clinica delle tossicodipendenze: la comorbidità psichiatrica nel paziente tossicodipendente*. Ann. Ist. Super. Sanità 2000; vol. 36, n. 1: p. 41-46

13. Girod C. and Staub C., *Methadone and EDDP in hair from human subject following a maintenance program: results of a pilote study*, Forensic Sci. Int., 2001; 117, 175-184
14. Goldenberg B.A., Darray A.G., Caplan Y.H., and Cone E.J., *Detection of methadone, methadone metabolite, and other illicit drugs of abuse in hair of methadone-treatment subjects*, J.Anal. Toxicol., 1998; 22, 526-530
15. Goodman & Gilman. *Le basi farmacologiche della terapia*. IX edizione, 2000 Mc Graw-Hill Libri Italia s.r.l.
16. Henderson G.L., Harkey M.R., Zhou C., Jones R.T., Jacob III P., *Incorporation of isotopically labeled cocaine and metabolites into human hair: dose-response relationship*. J. Anal. Toxicol. 1996; 20:1-12
17. Joseph R.E. and one E.J., *In vitro binding studies of drugs to hair: influence of melanin and lipids on cocaine binding to caucasoi and africoid hair*. J. Anal. Toxicol., 1996; 20: 338-344
18. Jurado C., Kinntz P., Menedez M. and Repetto M., *Influence of the cosmetic treatment of hair on drug testing*. Int. J. Legal Med., 1997; 110: 159-163
19. Kidwell D.A, Blank D.L., *Mechanisms of incorporation of drugs into hair and the interpretation of hair analysis data*. In: Hair testing for drugs of abuse. International research on standards and technology. National Institute on Drug Abuse, Rockville, MD. (NIDA Research Monograph, NIH Publication, no. 95-3727). (1995) pp. 19-90.
20. Kintz P. *Analitical and Practical Aspects of drug Testing in Hair* Ed CRC pressTaylor & Francis 2007 Cap. 7 pag. 164.
21. Kintz P., Cirimele V., Edel Y., Jamey C., and Mangin P., *Hair analysis for buprenorphine and its dealkylated metabolite by RIA and confermation by LC/ECD*, J. Forensic Sci., 1994; 39, 1497-1503
22. Lambert SD. *The role of the occupational physician in substance abuse*, Occup Med, 2002; 17(1): 1-12
23. Lucas, A.C. ,Bermejo, AM, Taberner, M.J., Fernandez, P., and Strano-Rossi, S., *Use of solid-phase microextraction (SPME) for the determination of methadone and EDDP in uman hair by GC/MS*, Forensic Sci. Int., 2000; 107, 225-232
24. Manna V. *Medicina delle dipendenze*; cap. 2-8 2001. <http://www.salus.it>



25. Mariotti O. DROGHE E LAVORO *Relazione presentata al meeting interno della Scuola di Specializzazione in Medicina del Lavoro dell'Università degli Studi di Brescia del 16/04/03*
26. Mariotti O., *Droghe e lavoro*. G Ital Med Lav Erg 2004; 26:3
27. McGuire GT, Ruhm JC. *Workplace drug abuse policy*, Journal of health economics, 1993; 12: 19-38
28. Moeller M.R., Fey P., and Wenning R., Simultaneous determination of drugs of abuse (opiates, cocaine and amphetamine) in human hair by GC/MS and its application to a methadone treatment program. Forensic Sci. Int., 1993; 63, 185-206
29. Nakahara Y. And Kikura R., *Hair analysis for drugs of abuse VII. The incorporation rates of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester into rat hair and hydrolysis of cocaine in rat hair*. Arch. Toxicol. 1994; 68:54-59
30. O'Brien CP. *Tossicodipendenza e abuso di farmaci*. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A: *Le basi farmacologiche della terapia*, Nona Edizione, McGraw-Hill, Milano, 1997; cap 24: 553-73.
31. Patanè PA, Contadi D., Torri P, Suardi L, Briatico Vangosa G. *Il problema delle "idoneità difficili" e il ruolo del medico competente. Il medico competente e le droghe: la comunicazione difficile in azienda*, Notiziario ANMA, 2002; 3
32. Pecoraro V. and Astore I.P.L., "*Measurement of hair growth under physiological conditions*" Hair and Hair Disease, Orphanos, C.E. and Happle, R., Ed. Springer Verlag, Berlin, 1990, p237.
33. Pollack ES, Franklin GM, Fulton-Kehoe D, Chowdhury R. *Risk of job-related injury among construction laborers with a diagnosis of substance abuse*, JOEM, 1998; 40(6): 573-77
34. Potsch L., Skopp G., Moeller M.R., *Biochemical approach on the conservation of drug molecules during hair fiber formation*. Forensic Sci. Int. 1997; 84: 25-35
35. Pötsch, L., *A discoursus on hair fibers and reflections on the conservatoin of drug molecole*. Int. J. Legal Med., 1996; 108, 285-293
36. Quaglio G., Lugoboni F., Pajusco B., Fornasiero A., Mezzelani P., Lechi A., *Manifestazioni cliniche associate all'uso di cocaina*, 2004 Ann Ital Med Int; 19: 291-303.
37. Rossi F., Cuomo V., Riccardi C., *Farmacologia Principi di base e applicazioni terapeutiche*. Ed. Minerva Medica 2005.

38. Ryan J, Zwerling C, Jones M. *The effectiveness of preemployment drug screening in the prediction of employment outcomes.* J Occup Med, 1992; 34:1057-63
39. S. Zacà, S. Pellegrino. *G Manuale di Tossicologia Forense.* Giappichelli Editore 2006 – Torino
40. Seymour R.B., Smith D.E. *Identifying and responding to drug abuse in the workplace: an overview.* Journal of psychoactive drugs, 1990; 22(4): 383-405
41. Shen M., Xiang P., Wu H., Shen b., Huang Z., *Detection of antidepressant and antipsychotics drugs in human hair.* Forensic Sciences international 126 (2002) 153-161
42. Silvestrini B. *Tossicomanie: definizioni e classificazioni,* Ann Ist Super Sanità, 2002; 38(3): 211-15.
43. Silvestrini B. *Tossicomanie: definizioni e classificazioni.* Ann. Ist. Super Sanità, 2002; 38(3): 211-215
44. Trinkoff AM, Storr CL *Substance use among nurses: differences between specialities;* Am J Public Health, 1998; 88 (4): 581-85
45. Wilkins D.G., Nagasawa P.R., Gygi S.P., Foltz R.L., and Rollins D.E., *Quantitative analysis of methadone and two major metabolites in hair by positive chemical ionization in trap mass spectrometry,* J. Anal Toxicol., 1996; 20, 355-361
46. Zizzoli U. Pissacroia M., *Trattato completo degli abusi e delle dipendenze,* 2002 Ed. Piccin.
47. Zuccaio P., Pichini S., Altieri I., Pellegrini M., Pacifici R., *Procedure per l'analisi delle sostanze d'abuso nelle urine e organizzazione di un laboratorio di tossicologia analitica.* Laboratorio di Biochimica Clinica. Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299 - 00161 Roma
48. Zuccaro P., Pichini S., Altieri I., Pellegrini M. e Pacifici R. *Procedure per l'analisi delle sostanze d'abuso nelle urine e organizzazione di un laboratorio di tossicologia analitica* Laboratorio di Biochimica Clinica. Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299 - 00161 Roma