



**SAPIENZA**  
UNIVERSITÀ DI ROMA

Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive

Dottorato di Ricerca in

“Malattie Infettive, Microbiologia e Sanità Pubblica”

Curriculum di Medicina Legale e Scienze Forensi

# **ASPETTI TOSSICOLOGICI E GIURIDICI IN TEMA DI SICUREZZA STRADALE**

Coordinatore: Prof. Stefano D'Amelio

Tutor: Prof.ssa Paola Frati

Prof.ssa Elisabetta Bertol

Dottorando:

Dott. Fabio Vaiano



## SINTESI

Il tema della sicurezza stradale è fonte di ampio dibattito in ambito politico/legislativo e suscita nell'opinione pubblica sempre particolare interesse e preoccupazione viste le dirette ricadute nella quotidianità di ognuno di noi. Negli anni si sono susseguiti diversi interventi legislativi mirati alla riduzione degli eventi lesivi derivanti dall'incidentalità stradale, come ad esempio l'introduzione nel 2016 dei reati di omicidio stradale (art. 589-bis CP) e di lesioni personali stradali gravi o gravissime (art. 590-bis del CP). Inoltre, sono state intraprese anche numerose iniziative ed interventi sia a livello nazionale (es. il PNSS e la Direttiva "Minniti") sia a livello Europeo (EU road safety guidelines 2011-2020) pur senza raggiungere gli obiettivi prefissati. Nonostante tutti gli sforzi profusi, anche sul piano della educazione alla guida, il numero di vittime della strada è ancora elevato (3.173 nel 2018). La guida in stato di alterazione da alcol (artt. 186 e 186-bis CdS) o da sostanze stupefacenti (art. 187 CdS) è una delle principali cause di incidenti con esiti fatali ed è di non sempre facile rilevazione per la natura specifica degli accertamenti richiesti.

Il progetto di ricerca da me condotto ha un duplice scopo: individuare i principi fondanti e le caratteristiche imprescindibili che i protocolli di gestione degli accertamenti tossicologico forensi ai fini degli artt. 119, 186, 186-bis e 187 CdS devono rispettare e possedere e, tramite la loro applicazione, ottenere una comprensione del fenomeno della guida in stato di alterazione da sostanze basato su evidenze scientifiche.

Grazie alla collaborazione con la Sezione di Scienze Medico Forensi dell'Università degli Studi di Firenze, ho potuto studiare dei protocolli già esistenti individuando nella scelta della matrice, nella redazione della catena di custodia, nelle modalità di raccolta e di movimentazione del campione e nella applicazione della più opportuna metodica analitica le fasi fondamentali per la redazione di protocolli affidabili ed efficaci che possano assicurare la qualità del dato finale, nonché della sua interpretazione, così che esso possa assumere valenza di prova scientifica in ambito forense.

Criticità emersa durante lo studio è la mancanza di omogeneità tra i vari protocolli per la gestione degli accertamenti previsti per l'art. 119 del CdS. Attualmente ogni CML redige, in accordo con le Strutture responsabili dell'attuazione (Aziende Ospedaliere, SerD, Laboratori di Tossicologia Forense), le proprie procedure che possono diversificarsi sulla base delle sostanze da rilevare, delle matrici da prelevare e della metodica analitica. Ciò crea inevitabilmente una discriminazione tra i vari utenti e per questo sarebbe auspicabile una uniformità almeno regionale, meglio se nazionale, dei vari protocolli nell'ambito della valutazione del possesso dei requisiti di idoneità alla guida.

Dall'applicazione dei protocolli è emerso che per gli accertamenti eseguiti per la CML #1, il 13,6% dei soggetti è risultato positivo ad almeno una sostanza stupefacente (cocaina, 94,4 %). Per la CML #2, la percentuale era anche maggiore e pari al 23,8% (cocaina, 86,9%). Il protocollo in vigore con tale CML, prevede anche l'analisi del marker di uso/abuso alcolico EtG nella matrice cheratinica: il 5,4% degli individui è risultato assuntore cronico eccessivo di alcol (> 60 g/die). Nell'ambito delle analisi predisposte dagli organi di PS in caso di incidente stradale con ricorso a cure sanitarie, si è rilevato che il 19,6% dei soggetti aveva livelli alcolemici superiori al limite di legge consentito (0,5 g/l), mentre il 14,9% aveva assunto almeno una sostanza stupefacente o psicoattiva (Cannabis, 41,5%; BDZ, 41,4%). Tutti questi dati permettono di dipingere un quadro preoccupante del fenomeno della guida in stato di alterazione da sostanze basato non su interviste o questionari, ma su dati reali derivanti da un approccio Tossicologico Forense.

Le evidenze emerse da questo studio possono essere utilizzate nella stesura di nuovi protocolli la cui adozione permetterebbe una più efficace e capillare attività di rilevazione e contrasto al fenomeno della guida in stato di alterazione da sostanze.

# INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	8
<b>1.1. Quadro statistico dell'incidentalità stradale in Italia</b> .....	8
<b>1.2. Interventi nazionali ed internazionali in materia di sicurezza stradale</b> .....	11
1.2.1. <i>EU road safety guidelines 2011-2020</i> .....	11
1.2.2. <i>PNSS</i> .....	13
1.2.3. <i>Direttiva 21 luglio 2017, prot. n. 300/A/5620/17/144/5/20/3</i> .....	14
1.2.4. <i>Iniziative future: EU Road Safety Policy Framework 2021-2030 – Next step towards “Vision Zero”</i> .....	14
<b>1.3. Evoluzione del CdS e quadro normativo di riferimento</b> .....	15
<b>1.4. Implicazioni Tossicologico Forensi in tema di sicurezza stradale</b> .....	17
1.4.1. <i>Art. 119 – “Requisiti fisici e psichici per il conseguimento della patente di guida”</i> .....	17
1.4.2. <i>Art. 186 – “Guida sotto l'influenza dell'alcool”</i> .....	19
1.4.3. <i>Art. 186-bis – “Guida sotto l'influenza dell'alcool per conducenti di età inferiore a ventuno anni, per i neo-patentati e per chi esercita professionalmente l'attività di trasporto di persone o di cose”</i> .....	20
1.4.4. <i>Art. 187 – “Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti”</i> .....	21
1.4.5. <i>Artt. 589-bis e 590-bis – “omicidio stradale” e “lesioni personali stradali gravi e gravissime”</i> .....	23
<b>1.5. Guida sotto l'effetto di sostanze</b> .....	24
<b>2. SCOPO DELLA RICERCA</b> .....	26
<b>3. MATERIALI E METODI</b> .....	27
<b>3.1. Protocolli per la gestione degli accertamenti tossicologico-forensi</b> .....	27
3.1.1. <i>Protocolli per la gestione degli accertamenti previsti dall'art. 119 del CdS</i> .....	27
3.1.2. <i>Protocolli per la gestione degli accertamenti previsti dagli artt. 186, 186-bis, 187 del CdS e dagli artt. 589-bis e 590-bis del CP</i> .....	28
<b>3.2. Procedure analitiche per l'esecuzione degli accertamenti</b> .....	29
3.2.1. <i>Procedure analitiche per l'accertamento dell'uso/abuso alcolico</i> .....	32
3.2.2. <i>Procedure analitiche per l'accertamento dell'uso di sostanze stupefacenti o psicotrope</i> .....	33
<b>4. RISULTATI E DISCUSSIONE</b> .....	37
<b>4.1. Considerazioni sui protocolli studiati</b> .....	37
<b>4.2. Risultati degli accertamenti tossicologico-forensi</b> .....	42
4.2.1. <i>Risultati degli accertamenti ai fini dall'art. 119 del CdS</i> .....	43
4.2.2. <i>Risultati degli accertamenti ai fini degli art. 186, 186-bis e 187 del CdS</i> .....	52
<b>5. CONCLUSIONI</b> .....	60
<b>APPENDICE</b> .....	62
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	75

## **ABBREVIAZIONI**

6-MAM: 6-monoacetilmorfina (principale metabolita dell'eroina)

ACN: acetonitrile

AcOEt: etil-acetato

BDZ: BDZ

BSTFA: N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamide

CdS: Codice della Strada

CE: Commissione Europea

CML: Commissione Medica Locale

Co.: comma

CP: Codice Penale

CPP: Codice di Procedura Penale

DCM: diclorometano

DUID: guida sotto l'effetto di sostanze

EDDP: 2-etilidene-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina (principale metabolita del metadone)

EMIT: enzyme multiplied immunoassay technique

ESI: electrospray ion source

Et<sub>2</sub>O: dietil-etere

EtG: etil-glucuronide

FF.OO.: Forze dell'Ordine

GC: gas-cromatografia

GTFI: Gruppo Tossicologi Forensi Italiani

H<sub>2</sub>O: acqua distillata

HCl: acido cloridrico

HEX: esano

HPLC: cromatografia liquida ad alte prestazioni

HS: spazio di testa

ISO: isopropanolo

KOH: idrossido di potassio

LC: cromatografia liquida

MDA: 3,4-metilenediossiamfetamina (principale metabolita dell'MDMA)

MDEA: 3,4-metilendioxi-N-etilfetamina  
MDMA: 3,4-metilenediossimetamfetamina  
MeOH: metanolo  
MRM: multiple reaction monitoring  
MS/MS: spettrometria di massa tandem  
MS: spettrometria di massa  
MSTFA: N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamine  
NaOH: idrossido di sodio  
NSP: nuove sostanze psicoattive  
o.n.: over night  
PNSS: Piano Nazionale sulla Sicurezza Stradale Orizzonte 2020  
PS: Polizia Stradale  
SerD: servizi per le dipendenze  
SI: standard interno  
SIM: selected-ion monitoring  
SoHT: Society of Hair Testing  
SPE: solid phase extraction  
T<sub>amb</sub>: temperatura ambiente  
THC:  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo  
THC-COOH: 11-Nor-9-carbossi- $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo (principale metabolita del THC)  
TMCS: trimetilclorosilano

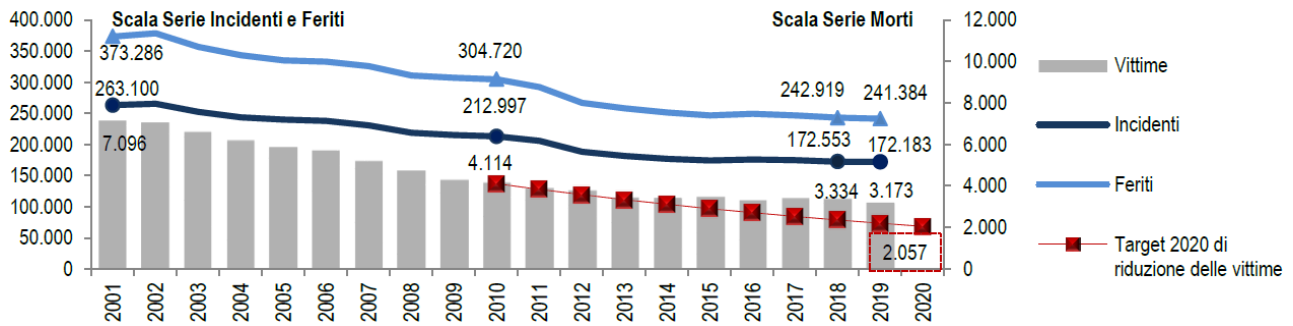
# 1. INTRODUZIONE

## 1.1. Quadro statistico dell'incidentalità stradale in Italia

Quella della sicurezza stradale è senz'altro una tematica di fondamentale importanza per i cittadini e per i decisori pubblici specialmente per la sua ricaduta diretta sulla incolumità della popolazione. La portata del fenomeno può essere facilmente espressa tramite un dato molto significativo, quello del numero di persone che quotidianamente si spostano per raggiungere il proprio posto di lavoro che l'ISTAT stima in 30 milioni di italiani, quasi una persona su due [1]. Di questi, solo il 17,4% si sposta a piedi, il restante 81,6% impiega almeno un mezzo di trasporto, principalmente l'automobile privata. A livello europeo, l'Italia ha il primato di autovetture per numero di abitanti (635 per mille abitanti) [1]. A questo già notevole flusso di veicoli va ovviamente aggiunto quello dovuto allo spostamento nel tempo libero o per scopi ricreativi.

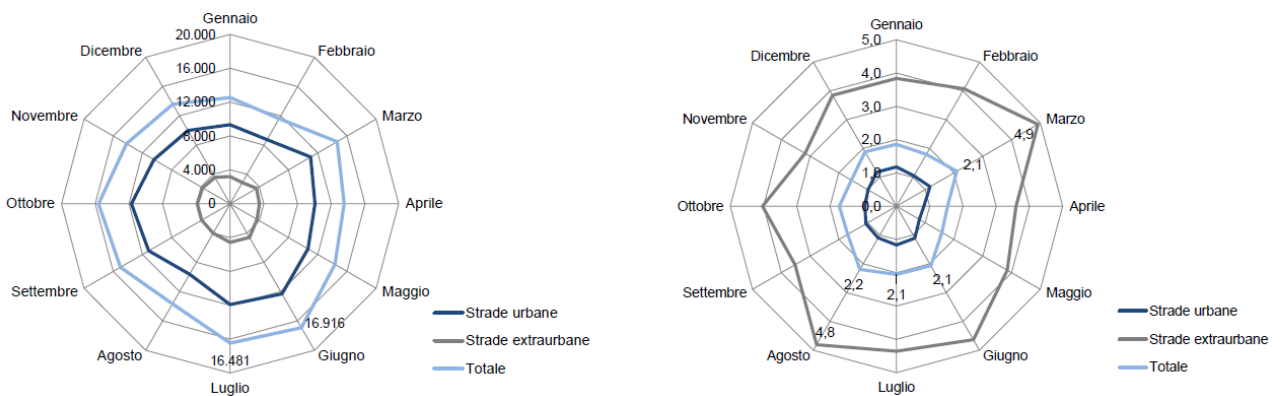
Secondo le ultime stime dell'ISTAT [2], gli incidenti stradali con lesioni a persone in Italia sono stati 172.183, in lieve calo rispetto al 2018 (-0.2%); a calare è anche il numero di feriti e di vittime che si attestano rispettivamente a 242.919 (-0,6%) e a 3.173 (-1.3%). La riduzione dei decessi è ancor più maggiore se si prende come riferimento il 2010, dove il numero di morti era di 4114 (+941, +29,6% rispetto al 2019, figura 1). Tuttavia, il tasso di mortalità stradale in Italia, pari a 52,6 morti per milione di abitanti, è superiore a quello della media dell'UE28 stimato a 48,1, ponendo così la nostra nazione al sedicesimo posto della graduatoria europea. Purtroppo, oltre alla perdita di vite umane, c'è da considerare anche il costo sociale che l'incidentalità stradale comporta e che è calcolato nell'ordine dei 16,9 miliardi di euro (1% del PIL).





**Figura 1.** Incidenti stradali con lesione a persone, morti e feriti. Anni 2001-2019, valori assoluti (fonte: ISTAT, <https://www.istat.it/it/archivio/245757>)

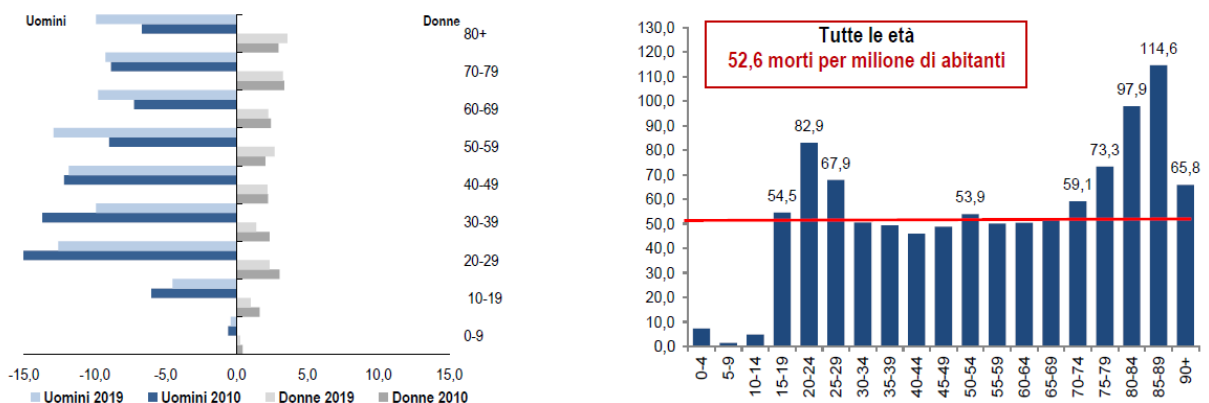
Sempre secondo le statistiche ISTAT, il picco di sinistri si ha nei mesi di giugno e luglio (quasi 17.000), mentre il maggior numero di decessi viene osservato ad agosto, con 2,2 vittime ogni 100 incidenti (figura 2).



**Figura 2.** Incidenti stradali per mese e categoria della strada ed indice di mortalità per mese e categoria della strada. Anno 2019, valori assoluti (fonte: ISTAT, <https://www.istat.it/it/archivio/245757>)

Le ore del giorno in cui vengono registrati più incidenti gravi sono le 3 e le 5 del mattino con un numero di decessi che va da 9,4 a 11,3 persone ogni 100 incidenti [2]. Nel 2019, circa il 38,2% dei sinistri è da imputare a comportamenti errati alla guida: distrazione, mancato rispetto della precedenza

ed eccesso di velocità. L'inosservanza della distanza di sicurezza, manovre irregolari ed il non rispetto della precedenza del pedone rappresentano rispettivamente il 9,0%, il 7,0% ed il 3,5% delle cause di incidente. Lo stato di ebbrezza e l'alterazione psicofisica da uso di sostanze stupefacenti sono stati riscontrati rispettivamente nell'8,7% e nel 3,4% dei sinistri con lesioni rilevati dagli organi di PS (in totale 58.872). Questi dati sono in linea con quelli del 2018 (8,7% e 3,4%), ma in aumento rispetto al 2017 (7,8% e 2,9%). Oltre l'80% delle vittime è di sesso maschile ed il maggior numero di decessi è da registrarsi tra i conducenti dei veicoli coinvolti (70,0%). Il tasso di decessi tra i pedoni corrisponde al 16,8% di cui il 62,9% maschi. Il numero maggiore di esiti fatali in rapporto alle fasce di età è differente tra i due sessi: tra i 20-24 e 45-54 anni negli uomini e tra i 75-89 anni nelle donne (figura 3). Nel 2019, 35 bambini di età compresa tra i 0 e i 14 anni hanno perso la vita in incidenti stradali (34 nel 2018), dato ben lontano dall'obiettivo "zero vittime" previsto dal PNSS.



**Figura 3.** Piramide delle età delle vittime in incidente stradale e tasso di mortalità stradale per classe di età. (fonte: ISTAT, <https://www.istat.it/it/archivio/245757>)

La pandemia da COVID-19 ha ridotto fortemente il tasso di mobilità<sup>1</sup> portandolo dall'85% al 32% con un impatto positivo sul numero di incidenti stradali che, mediamente, è diminuito del 72% a marzo e dell'85% ad aprile.

<sup>1</sup> Percentuale di persone che ha compiuto almeno uno spostamento in giornata ad eccezione dei tragitti a piedi inferiori ai 5 minuti

## **1.2. Interventi nazionali ed internazionali in materia di sicurezza stradale**

Data l'elevata rilevanza del fenomeno dell'incidentalità stradale, soprattutto in termini di decessi annui, numerosi e diversi sono stati gli interventi istituzionali e non, nazionali ed internazionali, mirati al miglioramento della sicurezza. Oltre alle campagne sociali, operate principalmente tramite spot pubblicitari (come la campagna "Sulla buona strada" del 2019, promossa dal Ministero delle Infrastrutture e dei Trasporti), sono stati pianificati interventi ed azioni più sostanziali che hanno avuto come target primario quello di far emergere, per poi tentare di rettificare, le condotte errate alla guida che possono essere all'origine della maggior parte dei sinistri.

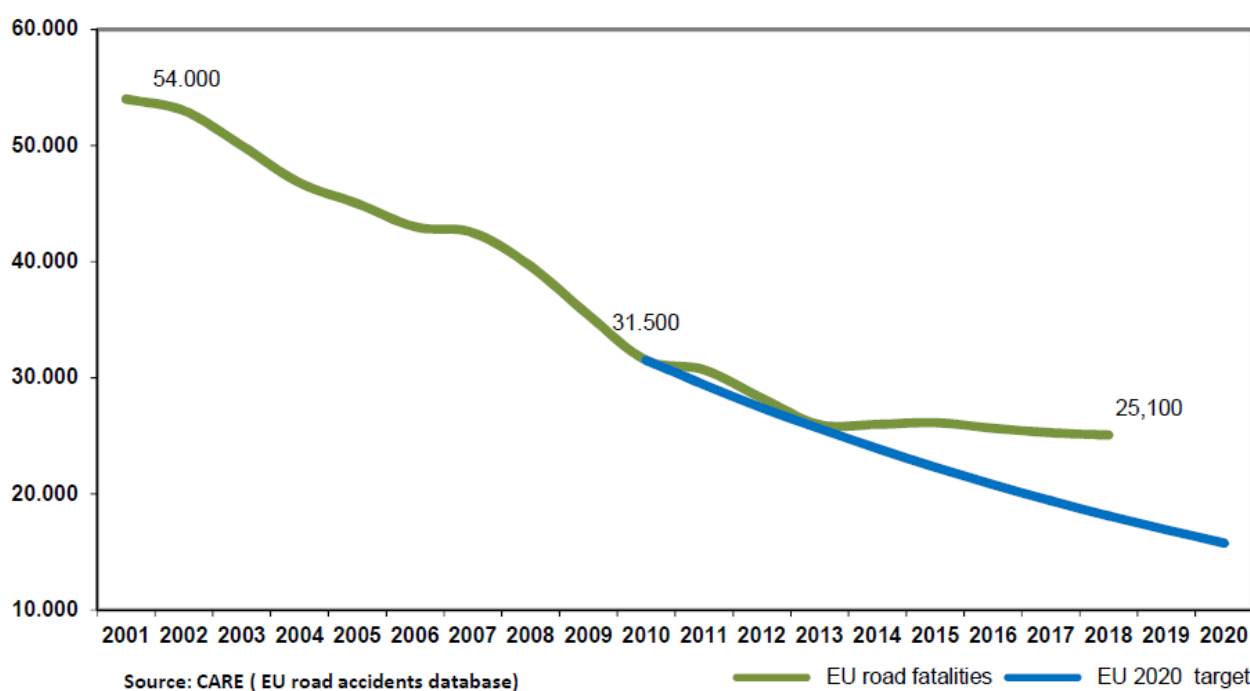
### *1.2.1. EU road safety guidelines 2011-2020*

Nel 2010 la CE ha emanato delle linee guida per fornire un piano di intervento generale ed obiettivi condivisi utili come base per le strategie dei singoli Paesi membri. Vengono individuati sette principali target di intervento:

- Miglioramento dell'educazione e della formazione degli utenti della strada. La CE suggerisce un approccio di educazione continua del guidatore e non solo durante il periodo del conseguimento della patente.
- Rafforzamento dell'applicazione delle norme stradali. Viene individuata nell'intensificazione dei controlli da parte delle FF.OO. un punto cardine per il miglioramento della sicurezza stradale;
- Miglioramento della sicurezza delle infrastrutture stradali;
- Miglioramento della sicurezza dei veicoli. L'ammmodernamento del parco auto ed il suo adattamento alle nuove norme di sicurezza, nonché di contrasto all'inquinamento, rappresentano fondamentali piani di intervento. Vengono inoltre promosse linee di ricerca verso lo sviluppo di veicoli sempre più sicuri.

- Promozione dell'uso delle nuove tecnologie per migliorare la sicurezza stradale. Sistemi come l'*Intelligent Transport System* o l'*Advanced Driver Assistance System* sono presi ad esempio dalla CE come innovazioni tecnologiche che possono migliorare la sicurezza stradale;
- Miglioramento della gestione dell'emergenza e il servizio di soccorso.
- Rafforzamento della governance della sicurezza stradale. Viene promossa l'adozione di strategie di intervento mirate alla tutela della sicurezza di motociclisti, ciclisti e pedoni.

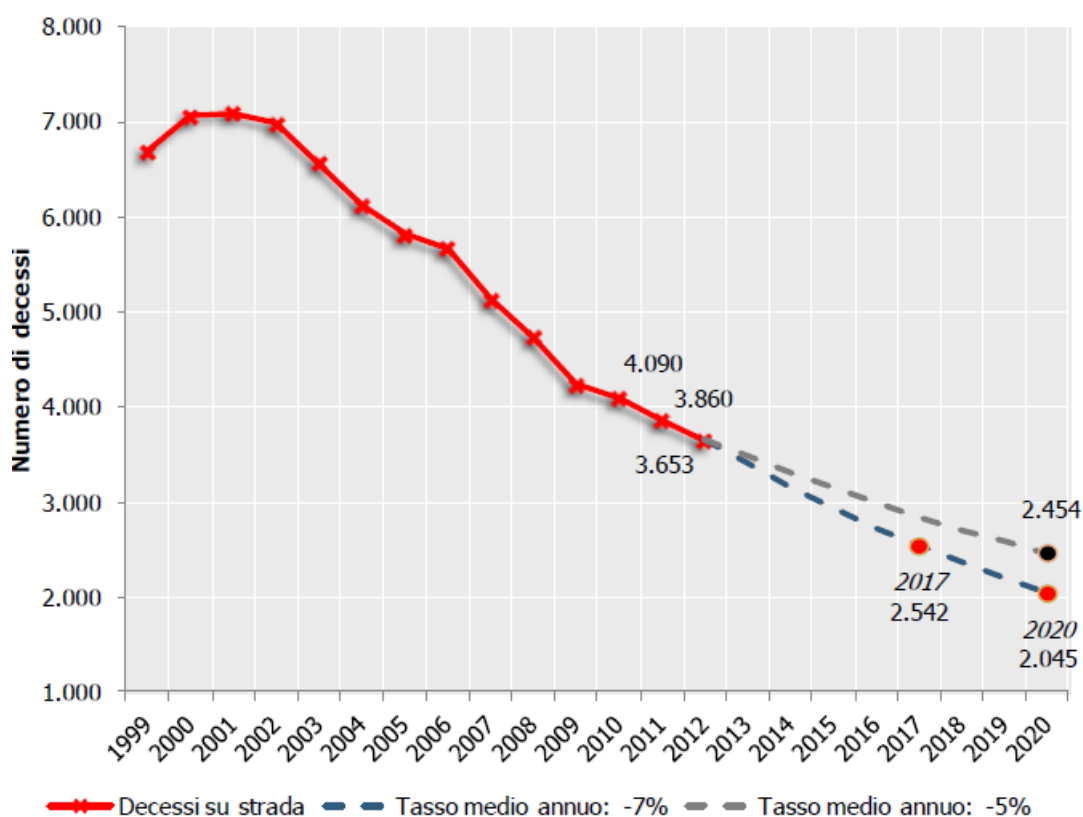
Obiettivo ambizioso posto dalla CE, è quello del dimezzamento del numero di morti per incidentalità stradale in tutta l'Unione Europea entro il 2020. Purtroppo, come si evince dal grafico in figura 4, tale obiettivo non è stato raggiunto ed ulteriori strategie sono state programmate al fine di poter ridurre il numero delle vittime stradali (vedi il programma futuro: EU Road Safety Policy Framework 2021-2030 – Next step towards “Vision Zero”).



**Figura 4.** Evoluzione delle morti stradali in EU e obiettivi per il 2001-2020 (fonte: CE, [https://ec.europa.eu/transport/themes/strategies/news/2019-06-19-vision-zero\\_en](https://ec.europa.eu/transport/themes/strategies/news/2019-06-19-vision-zero_en))

### 1.2.2. PNSS

Il PNSS nasce nel 2014 in accordo con gli orientamenti in materia di sicurezza stradale emanati dalla CE con le *EU road safety guidelines 2011-2020*, accogliendone gli obiettivi e gli indirizzi. Infatti, l'Italia si impegnava anch'essa a dimezzare il numero di decessi entro il 2020 portandoli, quindi, ad un valore inferiore ai 2.045 casi. Nonostante tutti gli sforzi affrontati, come visto in precedenza le vittime nel 2019 erano 3.173 e non in linea con l'obiettivo prefissato (figura 5). Vengono anche enunciati obiettivi specifici, atti principalmente alla maggior tutela delle categorie a rischio (i.e. pedoni, ciclisti e bambini), e dodici linee strategiche che vanno a considerare altri aspetti rilevanti per il miglioramento della sicurezza stradale e che ricalcano gli obiettivi descritti dal *EU road safety guidelines 2011-2020*.



**Figura 5.** Percorso di riferimento e obiettivi generali  
(fonte: Ministero delle infrastrutture e dei Trasporti, <http://www.mit.gov.it/documentazione/piano-nazionale-sicurezza-stradale-orizzonte-2020->)

### *1.2.3. Direttiva 21 luglio 2017, prot. n. 300/A/5620/17/144/5/20/3*

Emanata dall'ex Ministro degli Interni Marco Minniti (da cui prende il nome), questa direttiva nasce con lo scopo di garantire un'azione coordinata delle Forze di Polizia per la prevenzione e il contrasto verso i seguenti comportamenti di guida scorretta:

- Guida in stato di ebbrezza o sotto l'effetto di stupefacenti. Si fa chiaramente menzione della necessità di dare un nuovo impulso al contrasto di questi gravi fenomeni anche, e soprattutto, tramite l'incremento dell'acquisto e dell'utilizzo di dispositivi di controllo portatili. Viene inoltre indicato come modello operativo quello descritto nella direttiva n. 300/A/3213/15/109/42 del 27.04.2015, del Capo della Polizia, Direttore Generale della Pubblica Sicurezza, la cui adozione in via sperimentale ha fornito ottimi risultati;
- Eccesso di velocità;
- Mancato rispetto degli obblighi di utilizzo delle cinture di sicurezza e del casco protettivo;
- Uso del cellulare o dello smartphone durante la guida, nonché tutti gli altri comportamenti che possono causare distrazione.

### *1.2.4. Iniziative future: EU Road Safety Policy Framework 2021-2030 – Next step towards “Vision Zero”*

Sulla base dell'esperienza acquisita con il programma *EU road safety guidelines 2011-2020*, la CE rilancia il suo obiettivo a lungo termine di riduzione del numero di vittime della strada ponendosi un nuovo più grandioso risultato, ovvero l'avvicinamento agli zero morti nel 2050 (“Vision Zero”). Tuttavia, tale scopo richiede un nuovo tipo di approccio differente dal precedente che, seppur ha portato ad una notevole riduzione del numero di incidenti e di vittime, non ha permesso di raggiungere gli obiettivi prefissati (figura 4). Il nuovo programma prevede, prima di tutto, un cambio di mentalità, individuando nella “Vision Zero” uno scopo che sia la classe politica che la popolazione dovrebbero condividere e perseguire. Altri punti chiave sono rappresentati dall'aumento della sicurezza stradale

(da ottenere tramite veicoli, tecnologie, infrastrutture e comportamenti più sicuri) e dalla prontezza di risposta nei riguardi dei nuovi trend, come ad esempio l'aumento della distrazione alla guida dovuta ai dispositivi mobili (smartphone, ipad, ecc.).

### **1.3. Evoluzione del CdS e quadro normativo di riferimento**

Le prime tracce di norme regolatorie del traffico stradale sul territorio italiano sono risalenti ad oltre 2000 anni fa. Infatti, nel 45 a.C. Giulio Cesare promulgò la “Lex Iulia Municipalis”, una sorta di “legge quadro” che stabiliva l'organizzazione amministrativa delle città e delle colonie romane, oltre ad enunciare anche norme sulla circolazione stradale all'interno della città di Roma. Più precisamente, veniva istituita quella che possiamo definire come la prima ZTL della storia, in quanto la circolazione nel centro della capitale veniva proibita nelle ore diurne (dall'alba o prima della decima ora del giorno) se non per i carri “istituzionali” o di “servizio” (oggi li chiameremmo “carri blu”).

La prima vera e propria legge italiana in tema di circolazione stradale è la n. 2248 del 1865<sup>2</sup> che introduceva la prima classificazione delle strade e stabiliva alcune regole sulla velocità e sui comportamenti da tenere alla guida. Successivamente, con lo sviluppo e la diffusione dei velocipedi prima e delle automobili poi, diversi emendamenti furono promulgati, ma bisogna aspettare il Regio Decreto n. 1740 del 1933<sup>3</sup> per avere un primo “Testo Unico” che raccogliesse tutte le norme fino ad allora emanate e che fu successivamente sostituito dal nuovo “Testo Unico”, approvato con il Decreto del Presidente della Repubblica n. 393 del 1959<sup>4</sup>. Questo testo resterà in vigore per ben 33 anni, ovvero fino all'approvazione del nuovo ed ancora attuale CdS nel 1992 con il Decreto Legislativo n. 285<sup>5</sup>. Da allora, diverse revisioni e modifiche sono state ad esso apportate soprattutto in materia di

---

<sup>2</sup> Legge 20 Marzo 1865 n. 2248 in materia di “Unificazione amministrativa del Regno di Italia”

<sup>3</sup> Regio Decreto 8 dicembre 1933 n. 1740, “Testo unico di norme per la tutela delle strade e per la circolazione”

<sup>4</sup> Decreto del Presidente della Repubblica 15 giugno 1959 n. 393, “Testo unico delle norme sulla circolazione stradale”

<sup>5</sup> Decreto Legislativo 30 aprile 1992, n 285, “Nuovo codice della strada”

sicurezza stradale. Tra di esse, è da menzionare la Legge n. 120/2010<sup>6</sup> con la quale venivano apportate sostanziali misure volte a migliorare la sicurezza della circolazione stradale, tramite non soltanto l'aumento delle sanzioni, ma anche per mezzo di disposizioni mirate alla prevenzione ed al miglioramento delle infrastrutture stradali e viarie. Con l'art. 33 veniva introdotto nel CdS una nuova fattispecie di reato, descritto con l'art. 186-bis<sup>7</sup>, che vieta la guida dopo assunzione di bevande alcoliche da parte di alcune categorie di conducenti. Altre modifiche sono state apportate all'art. 187<sup>8</sup> con l'adozione di nuove modalità di accertamenti clinico-tossicologici e strumentali per l'accertamento dello stato di alterazione psico-fisica dovuta all'assunzione di sostanze stupefacenti. In particolare col co. 2-bis viene introdotta la possibilità di eseguire gli accertamenti su mucosa o fluido del cavo orale prelevati a cura di personale sanitario nominato ausiliario oppure, per effetto della riformulazione del co. 3, su campioni di fluidi biologici prelevati presso strutture sanitarie. Viene inoltre totalmente esclusa la necessità di visita medica correlata al prelievo del campione biologico. Degno di nota, in tema di sicurezza stradale, è senz'altro la configurazione di due nuove fattispecie di reati autonomi, l'omicidio stradale (art- 589-bis CP) e le lesioni personali stradali gravi o gravissime (art. 590-bis CP) per effetto della Legge n. 41/2016<sup>9</sup>. Tale introduzione sembra sia nata anche sulla spinta mediatica e "popolare" dovuta al forte impatto che la mortalità stradale aveva in quei tempi sui media e sull'opinione pubblica. Tuttavia, esiste anche una motivazione giuridica derivante dallo status precedentemente previsto per queste due fattispecie di delitti. Infatti, l'omicidio e le lesioni stradali erano sufficientemente considerati come aggravanti delle violazioni degli artt. 186<sup>10</sup>, 186-bis e 187 del CdS, ciò però dava luogo al rischio che, in punto di pena, queste aggravanti potessero essere compensate dalle attenuanti, vanificandone così di fatto il potere deterrente.

---

<sup>6</sup> Legge 29 luglio 2010 n. 120, "Disposizioni in materia di sicurezza stradale – modifiche articoli 97, 172, 173, 186, 186-bis, 187 e 219 del C.d.S."

<sup>7</sup> Art. 186-bis – "Guida sotto l'influenza dell'alcool per conducenti di età inferiore a ventuno anni, per i neo-patentati e per chi esercita professionalmente l'attività di trasporto di persone o di cose"

<sup>8</sup> Art. 187 – "Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti"

<sup>9</sup> Legge 23 marzo 2016 n. 41, "Introduzione del reato di omicidio stradale e del reato di lesioni personali stradali, nonché disposizioni di coordinamento al decreto legislativo 30 aprile 1992, n. 285, e al decreto legislativo 28 agosto 2000, n. 274"

<sup>10</sup> Art. 186 – "Guida sotto l'influenza dell'alcool"



## 1.4. Implicazioni Tossicologico Forensi in tema di sicurezza stradale

Le implicazioni della Tossicologia Forense in tema di sicurezza stradale sono molteplici. Differenti articoli prevedono l'attuazione di accertamenti atti alla verifica dell'uso/abuso di alcol e sostanze stupefacenti o psicotrope. Dato quindi il carattere probatorio dell'accertamento tossicologico-forense appare evidente come debba essere sempre garantita la certezza analitica, la validità scientifica e la conseguente corretta interpretazione del dato, oltre che, ovviamente, l'osservanza della catena di custodia e di tutte le disposizioni atte a garantire l'assicurazione di qualità in sede legale. Di fondamentale importanza risulta anche la scelta della corretta matrice da analizzare così da poter rispondere al meglio al quesito posto dalla finalità analitica.

### 1.4.1. Art. 119 – “Requisiti fisici e psichici per il conseguimento della patente di guida”

Secondo l'art. 119 non può ottenere la patente di guida chi sia affetto da malattia fisica o psichica, deficienza organica o minorazione psichica, anatomica o funzionale tale da impedire di condurre con sicurezza veicoli a motore. Col Decreto Legislativo n. 59/2011<sup>11</sup> vengono elencate le patologie o le condizioni che devono essere oggetto di una specifica valutazione medica atta a stimarne l'impatto sulle capacità di guida anche in considerazione della tipologia di patente. Tra di esse sono incluse la “dipendenza da alcool o guida dipendente da alcool” e l’“uso di sostanze stupefacenti o psicotrope e abuso e consumo abituale di medicinali”. Per quel che riguarda l'uso/abuso di alcol vengono fornite due differenti indicazioni a seconda della categoria di patente:

- Patenti AM, A, A1, A2, B1, B, e BE: la patente di guida non deve essere rilasciata né rinnovata al candidato o conducente che si trovi in stato di dipendenza dall'alcool o che non possa dissociare la guida dal consumo di alcool. La patente di guida può essere rilasciata o rinnovata al candidato

---

<sup>11</sup> Decreto Legislativo 18 aprile 2011 n. 59, “Attuazione delle direttive 2006/126/CE e 2009/113/CE concernenti la patente di guida” e s.m.i.

o conducente che si sia trovato in stato di dipendenza dall'alcool, al termine di un periodo constatato di astinenza, previa valutazione della CML.

- Patenti C, CE, C1, C1E, D, DE, D1 e D1E nonché i titolari di certificato di abilitazione professionale di tipo KA e KB: la CML tiene in debito conto e valuta con estrema severità i rischi e pericoli addizionali connessi con la guida dei veicoli che rientrano nella definizione di tale gruppo. La validità della patente, in questi casi non può essere superiore a due anni.

Nel caso delle sostanze psicotrope o stupefacenti invece, non viene indicata alcuna distinzione sulla base della tipologia di patente di guida, che non deve essere né rilasciata né rinnovata al candidato o conducente che faccia uso di queste sostanze. La differenziazione torna nel caso dell'abuso o consumo abituale di medicinali:

- Patenti AM, A, A1, A2, B1, B, e BE: la patente di guida non deve essere né rilasciata né rinnovata al candidato o conducente che abusi o faccia uso abituale di qualsiasi medicinale o associazione di medicinali nel caso in cui la quantità assunta sia tale da avere influenza sull'abilità alla guida. La relativa valutazione della sussistenza dei requisiti di idoneità psicofisica per la guida di veicoli a motore è demandata alla CML;
- Patenti C, CE, C1, C1E, D, DE, D1 e D1E nonché i titolari di certificato di abilitazione professionale di tipo KA e KB: la CML tiene in debito conto e valuta con estrema severità i rischi e pericoli addizionali connessi con la guida dei veicoli che rientrano nella definizione di tale gruppo. La validità della patente, in questi casi non può essere superiore a due anni.

Come già evidenziato, la valutazione del possesso dei requisiti di idoneità alla guida è demandata alle CML che si baseranno non più su semplici autocertificazioni, ma bensì su accertamenti clinico-tossicologici eseguiti da strutture specializzate sulla base di protocolli condivisi e specifici. Ai fini dell'art. 119, ad essere oggetto di valutazione è l'uso/abuso pregresso di alcol e sostanze stupefacenti. Per questo motivo, come anche indicato dalle Linee Guida dell'Associazione Scientifica GTFI [3], le matrici d'elezioni sono quelle che permettono un'ampia finestra di rilevazione ovvero quella cheratinica

(capelli e formazioni pilifere) e quella urinaria (solo se l'analisi è estesa a più campioni raccolti in giorni diversi e a "sorpresa", ovvero con un preavviso non superiore alle 24 ore). Principale criticità osservabile per questo tipo di accertamenti è senz'altro rappresentata dalla mancata uniformità delle procedure adottate. Infatti, ogni CML ha facoltà di stilare ed adottare procedure proprie, ovviamente sempre in accordo con le strutture deputate all'esecuzione delle analisi. Ciò comporta, inevitabilmente, una evidente discriminazione per i soggetti per cui viene disposto l'accertamento in quanto questo può prevedere differenti tipologie di indagini (es. immunoenzimatica, cromatografia anche accoppiata alla spettrometria di massa), di matrici biologiche prelevate (es. solo urina, solo matrice cheratinica o entrambe), ma anche l'identificazione di diverse sostanze o marker, come nel caso dell'alcol ad esempio, dove possono essere richiesti i dosaggi dell'EtG, della transferrina carboidrato carente, degli enzimi epatici, ecc.

#### *1.4.2. Art. 186 – “Guida sotto l'influenza dell'alcool”*

L'art. 186 al co. 1 recita che “è vietato guidare in stato di ebbrezza in conseguenza dell'uso di bevande alcoliche”. Le sanzioni amministrative e/o le pene comminabili dipendono dal tasso alcolemico riscontrato nel conducente e, salvo che il fatto non costituisca più grave reato, sono:

- 0,5-0,8 g/l, co. 2, lettera a): pagamento di una somma da euro 257 a euro 2.108 con sanzione amministrativa accessoria di sospensione della patente da tre a sei mesi;
- 0,8-1,5 g/l, co. 2 lettera b): ammenda da euro 800 a euro 3.200 ed arresto fino a sei mesi, con sanzione amministrativa accessoria di sospensione della patente di guida da sei mesi ad un anno;
- > 1,5 g/l, co. 2 lettera c): ammenda da euro 1.500 a euro 6.000 ed arresto da sei mesi ad un anno, con sanzione amministrativa accessoria di sospensione della patente di guida da uno a due anni;

Secondo quanto riportato al co. 3, la rilevazione può essere effettuata dalla stessa PS tramite l'utilizzo di apparecchi portatili, il cosiddetto “etilometro”. Tale misurazione si basa sul dato della concentrazione di alcol nell'aria espirata, opportunamente convertito nel corrispondente valore nel

sangue. C'è da puntualizzare che l'inesattezza terminologica della norma può portare a contenzioso in quanto in realtà la concentrazione di alcol nell'espriato non corrisponde mai, ma è solo grossolanamente "simile", a quella che il fattore di conversione (variabile da individuo a individuo) può indicare come concentrazione ematica, posto che il fattore di conversione in uso nell'etilometro omologato è un valore fisso, che non corrisponde quindi a quello individuale e, per lo stesso individuo, a quello di quel momento. Al co. 5, è tuttavia prevista la possibilità di effettuare la misurazione dell'alcolemia diretta, e quindi su campione ematico, qualora il soggetto è coinvolto in un incidente stradale e sottoposto alle cure mediche. In questo caso, l'accertamento è ad opera di specifiche strutture che provvedono ad eseguire la determinazione del tasso alcolemico su sangue intero e non su suoi derivati (ciò è fondamentale in quanto possono esserci delle sovrastime anche del 20%) secondo quanto descritto dalle linee guida GTFI [3]. Per gli effetti del co. 7, in caso di rifiuto di sottoporsi agli accertamenti sia *in situ* che in strutture sanitarie, il conducente è punito con la pena massima prevista dal co. 2, lettera c). A differenza dell'art. 119, in questo caso la matrice di elezione è quella ematica in quanto è l'unica che permette la valutazione della cosiddetta "attualità d'uso", ovvero la sussistenza degli effetti prodotti dalla stessa sostanza in relazione ovviamente alla guida.

*1.4.3. Art. 186-bis – "Guida sotto l'influenza dell'alcool per conducenti di età inferiore a ventuno anni, per i neo-patentati e per chi esercita professionalmente l'attività di trasporto di persone o di cose"*

La guida dopo aver assunto bevande alcoliche e sotto l'influenza è vietata per:

- I conducenti di età inferiore a ventuno anni e i neopatentati di categoria B (entro i tre anni dal conseguimento);
- I conducenti che esercitano l'attività di trasporto persone;
- I conducenti che esercitano attività di trasporto cose;

- I conducenti di autoveicoli di massa complessiva a pieno carico superiore a 3,5 t, di autobus e di altri autoveicoli destinati al trasporto di persone il cui numero di posti a sedere, escluso quello del conducente, è superiore a otto, nonché di autoarticolati e di autosnodati.

A differenza dell'art. 186, in questo caso non esistono range di alcolemia tollerati e le sanzioni partono per qualsiasi valore alcolemico superiore a 0 g/l. Ciò tuttavia comporta diverse problematiche applicative legate proprio alla dizione "zero", in quanto l'etanolo è a tutti gli effetti una molecola endogena e, seppur in minime quantità, può essere rilevata dalle moderne indagini analitiche anche in casi di non assunzione. Per tal motivo non può esistere un'alcolemia pari a 0 g/l. Dal punto di vista sanzionatorio viene previsto quanto segue:

- 0-0,5 g/l, co. 2: ammenda da euro 163 a euro 658;
- 0,5-0,8 g/l, co. 3: sanzioni previste dall'art. 186, co. 2, lettera a) aumentate di un terzo;
- 0,8-1,5 g/l e >1,5 g/l, co. 3: sanzioni previste dall'art. 186, co. 2, lettere b) e c) aumentate da un terzo alla metà;

Le modalità gli accertamenti sono le medesime descritte nell'art. 186.

#### *1.4.4. Art. 187 – “Guida in stato di alterazione psico-fisica per uso di sostanze stupefacenti”*

La guida in stato di alterazione psico-fisica dopo aver assunto sostanze stupefacenti o psicotrope costituisce un illecito penale, punito con la reclusione da sei mesi ad un anno, un'ammenda da euro 1.500 a euro 6.000 e la sanzione amministrativa accessoria della sospensione della patente di guida da uno a due anni. In caso di rifiuto del soggetto a sottoporsi agli accertamenti è prevista l'applicazione della sanzione nella misura massima. Così come visto per gli artt. 186 e 186-bis, gli organi di PS possono acquisire elementi utili per motivare l'obbligo di sottoporre il conducente a successivi accertamenti, tramite mezzi e test purché “non invasivi”, anche attraverso apparecchi portatili. Al co. 2-bis vengono indicate come matrici utilizzabili la mucosa ed il fluido del cavo orale. Appare evidente come il prelievo della mucosa rappresenterebbe un atto fortemente invasivo, ben più

lesivo del semplice prelievo ematico. Tuttavia il co. 3 aggiunge la possibilità di effettuare il prelievo di campioni di liquidi biologici, non precisati, presso strutture sanitarie fisse o mobili afferenti ai suddetti organi di PS, presso le strutture sanitarie pubbliche o presso quelle accreditate o comunque a tali fini equiparate. Questa evenienza è prevista qualora non sia possibile effettuare il prelievo a cura del personale sanitario ausiliario delle forze di polizia o qualora il conducente rifiuti di sottoporsi a tale prelievo. Le medesime disposizioni si applicano in caso di incidente, compatibilmente con le attività di rilevamento e di soccorso. La questione della matrice da sottoporre agli accertamenti tossicologico forensi non è secondaria in quanto, come anche indicato dalle Linee guida GTFI, solo il sangue, e con delle limitazioni anche la saliva, permette una valutazione dell'“attualità d'uso”. L'urina, data l'ampia finestra di rilevazione, non consente una correlazione certa tra presenza di una sostanza ed alterazione psico-fisica. Infatti nell'urina si concentra lo xenobiotico (come tale o come metabolita) escreto dall'organismo e la sua presenza in questo fluido biologico può essere rilevata anche dopo un lungo periodo dall'assunzione e quindi dall'effetto. Un esempio di ciò è quello relativo al principale metabolita del THC, il THC-COOH, che permane nell'urina finanche ad una o più settimane dall'ultima assunzione. Per tal motivo, la sola positività urinaria non può costituire mai una prova dello stato di alterazione, in quanto il reato si configura qualora ci sia una relazione tra l'assunzione di una sostanza stupefacente e la guida in stato di alterazione. È pertanto comune nozione di farmaco-tossicologia e di farmacocinetica che la dimostrazione certa dello stato di alterazione è indubbiamente la presenza della sostanza, o di un suo metabolita attivo, nel circolo ematico e nel fluido del cavo orale (o saliva). Questo costituisce la prova “principe” per la dimostrazione dello stato di alterazione indotto dall'uso di sostanze stupefacenti. Tuttavia il prelievo ematico rappresenta un prelievo lesivo dell'integrità personale e per questo necessita inderogabilmente del consenso da parte dell'individuo che deve essere informato sia sulla procedura di campionamento, sia dei possibili risvolti legali che i risultati analitici possono comportare.

*1.4.5. Artt. 589-bis e 590-bis – “omicidio stradale” e “lesioni personali stradali gravi e gravissime”*

Come detto in precedenza, due nuove fattispecie di reati autonomi sono state introdotte nel CP con la Legge 41/2016. L'art. 589-bis al co. 1 prevede la reclusione da anni 2 ad anni 7 per chiunque causi un evento letale in violazione delle norme sulla circolazione stradale (anche se il responsabile non è un conducente di veicolo). Tale pena è maggiorata in violazione degli artt. 186, 186-bis e 187 del CdS:

- Co. 2 e 3: chiunque cagioni per colpa la morte di una persona ponendosi alla guida di un veicolo a motore in violazione dell'artt. 186, co. 2, lettera c) (alcoemia > 1,5 g/l), 186-bis, co. 2, lettere b), c) e d) (alcoemia > 0,5 g/l) e 187 del CdS, è punito con la reclusione da otto a dodici anni;
- Co. 4: è punito con la reclusione da cinque a dieci anni il conducente di un veicolo a motore che risulta in stato di ebbrezza ai sensi dell'art. 186, co. 2, lettera b) del CdS (0,8-1,5 g/l).

Al co. 1 dell'art. 590-bis viene prevista la reclusione da tre mesi a un anno e da un anno a tre anni per chiunque cagioni, in violazione delle norme sulla disciplina della circolazione stradale, lesioni gravi (prognosi > 40 giorni) o gravissime (malattia insanabile). Il non rispetto di quanto disposto dagli artt. 186, 186-bis e 187 del CdS rappresenta, anche in questo caso, un'aggravante:

- Co. 2 e 3: chiunque, ponendosi alla guida in stato di ebbrezza alcolico o di alterazione psico-fisica conseguente all'assunzione di sostanze psicoattive o psicotrope ai sensi degli artt. 186, co. 2, lettera c), 186-bis, co. 2, lettere b), c) e d) (alcoemia > 0,5 g/l) e 187 del CdS, cagioni le lesioni descritte al presente articolo è punito con la reclusione da tre a cinque anni (lesioni gravi) e da quattro e sette anni (lesioni gravissime);
- Co. 4: il responsabile delle lesioni personali stradali è punito con la reclusione da un anno e sei mesi a tre anni (lesioni gravi) e da due a quattro anni (lesioni gravissime) qualora risulti alla guida in stato di ebbrezza alcolica ai sensi dell'art. 186, co. 2, lettera b).

Risulta quindi evidente che gli esiti degli accertamenti tossicologico-forensi sono dirimenti per l'individuazione della pena da comminare.

### **1.5. Guida sotto l'effetto di sostanze**

Come evidenziato dai dati ISTAT sopra riportati, il fenomeno preoccupante della guida sotto l'effetto di alcol e di sostanze stupefacenti definito con l'acronimo DUID (dall'inglese *Driving Under the Influence of Drugs*) seppure è rimasto praticamente invariato nei numeri rispetto al 2018, in confronto agli anni precedenti ha subito un preoccupante aumento. Purtroppo a poco sono servite le diverse campagne di sensibilizzazione sulla tematica dell'uso di alcol e guida, visto che nell'8,7% degli incidenti con lesioni, almeno uno dei conducenti presentava stato di ebbrezza. Anche la CE si è occupata dello studio di questo fenomeno con il progetto "*Driving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines*" (DRUID), partito nel 2006 con durata quinquennale, e che ha coinvolto 38 partner in 17 stati membri dell'Unione Europea e la Norvegia. Tale studio aveva lo scopo non solo di dare una dimensione al fenomeno, ma anche di stilare importanti linee guida ed indicazioni per uniformare le varie legislazioni europee sul tema, individuando ad esempio i valori di *cut-off* da utilizzare per le varie sostanze e le modalità operative di prelievo ed analisi dei campioni biologici. Altro fondamentale prodotto della ricerca è stato lo studio degli effetti delle principali sostanze sulle capacità alla guida che qui di seguito riporto:

- Alcol: l'etanolo può interferire sull'attenzione, sulle capacità percettive e motorie. In particolare, può indurre un rallentamento dei riflessi e dei tempi di reazione, alterare le capacità visive e ridurre la percezione spaziale. Tali effetti si possono manifestare anche a bassi livelli di alcolemia [4-6];
- Cannabis: diversi studi dimostrano come la Cannabis induce un rallentamento dei riflessi ed un calo dell'attenzione, nonché una scarsa capacità decisionale nei riguardi di eventi improvvisi. Altri effetti di *impairment* sono a livello psicomotorio con anche difficoltà del mantenimento della linea retta [7-11];



- Cocaina: gli effetti di questa sostanza sulla guida sono assimilabili a quelli delle amfetamine, ma con un *onset* ed una durata di azione più lunghi. L'uso di cocaina sembra “migliorare” le prestazioni alla guida in soggetti in condizione di privazione del sonno. In conducenti “riposati”, diversi studi riportano risultati discordanti sugli effetti della sostanza a livello psicomotorio e cognitivo [12-14];
- Amfetamine: l'assunzione di queste sostanze provoca difficoltà d'attenzione e tendenza ad agitarsi, disorientamento, mancanza di coordinazione, guida aggressiva, eccessiva confidenza nelle proprie capacità e rischio di addormentamento [15,16]. Il pericolo maggiore è rappresentato dal “come-down”, ovvero l'eccessivo rilassamento che si manifesta al termine dell'effetto di eccitamento ed iper-attenzione propri delle sostanze stimolanti come le amfetamine e la cocaina;
- Oppiacei/oppioidi: studi sugli effetti sulla guida della morfina hanno dimostrato come questa sostanza possa provocare una riduzione marcata dell'attenzione e della capacità di elaborazione delle informazioni [17-19]. Effetti di annebbiamento della mente sono stati invece registrati con la somministrazione di codeina [20]. Il fenomeno della tolleranza sembra giocare un ruolo importante sulla riduzione degli *impairment* alla guida. In soggetti sotto trattamento con metadone o buprenorfina, gli effetti più comuni sono il rallentamento dei riflessi (soprattutto in frenata), l'aumento dell'impulsività e l'incapacità nel mantenimento della corsia [21-25]. Esistono, tuttavia, studi che dimostrano come soggetti in trattamento con terapia del dolore siano abili alla guida con performance sovrapponibili a quelle di soggetti sani [26].
- Ansiolitici/antidepressivi: sostanze come le BDZ ed altri ansiolitici/antidepressivi, possono generare torpore, difficoltà di giudizio ed incapacità alla guida, soprattutto nel mantenimento della linea retta [27,28]. Tuttavia, la materia è e deve essere ancora oggetto di studi soprattutto nei casi di poli-assunzione, dove il concomitante consumo di più farmaci può indurre effetti sulla guida non sono prevedibili.

## **2. SCOPO DELLA RICERCA**

Vista l'elevata rilevanza che la tematica della sicurezza stradale riveste anche in ambito tossicologico forense e la necessità di attuare progetti e piani strategici per la diminuzione delle morti su strada, in ottemperanza anche alla direttiva Ministeriale Minniti ed alle linee programmatiche europee, il Progetto di Ricerca da me diretto si propone un duplice scopo: i) definizione dei principi cardine e delle procedure essenziali (ad esempio i campi di applicazione, modulistica costituente la catena di custodia, modalità di prelievo, conservazione ed analisi) da adottare per la redazione di protocolli per la gestione degli accertamenti tossicologico-forensi ai fini degli artt. 119, 186, 186-bis e 187 del CdS e degli artt. 589-bis e 590-bis del CP; ii) lo studio del fenomeno della guida sotto l'effetto di alcol e sostanze stupefacenti o psicotrope (anche in relazione alle sostanze assunte, alle eventuali distinzioni per sesso e fasce di età). Per perseguire tali scopi ho collaborato con la Sezione di Scienze Medico Forensi, Struttura di Tossicologia Forense, del Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università degli Studi di Firenze, dove attualmente sono già impiegati specifici protocolli per gli accertamenti oggetto del mio studio.

I risultati e le conclusioni del presente Progetto di Ricerca permetteranno di avere un quadro più profondo e preciso del fenomeno DUID in quanto basato su evidenze scientifiche derivanti dagli accertamenti eseguiti in ottemperanza dei dettati di legge descritti dal CdS e dal CP. Inoltre, i principi base e le diverse metodologie e procedure da adottare per una corretta esecuzione delle analisi tossicologico forensi, individuati in questo studio, potranno essere utili in sede di redazione di protocolli che dovranno inevitabilmente portare alla nascita di collaborazioni e relazioni efficienti e sinergiche tra soggetti operanti nel Diritto, nelle Amministrazioni, anche sanitarie, e nel campo scientifico, in particolare nelle Discipline Forensi.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1. Protocolli per la gestione degli accertamenti tossicologico-forensi

La mia attività di ricerca si è svolta in collaborazione con la Sezione Scienze Medico Forensi, Struttura di Tossicologia Forense, del Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università degli Studi di Firenze, dove sono attualmente attivi due distinti protocolli per la gestione degli accertamenti previsti dall'art. 119 del CdS, stipulati con due differenti CML del territorio toscano, ed un protocollo per la gestione delle analisi ai sensi degli artt. 186, 186-bis e 187 del CdS e degli artt. 589-bis e 590-bis CP.

##### *3.1.1. Protocolli per la gestione degli accertamenti previsti dall'art. 119 del CdS*

Seppur distinti, entrambi i protocolli prevedono il coinvolgimento dell'AOU-Careggi e condividono le medesime procedure, gli stessi locali e lo stesso personale specializzato per le fasi di raccolta, movimentazione, analisi e stoccaggio del campione, nonché la documentazione costituente la catena di custodia. Le differenze tra le due procedure risiedono nella tipologia di accertamento analitico richiesto alla Struttura di Tossicologia Forense (tabella 1):

- CML #1: viene effettuato il solo rilevamento di sostanze stupefacenti che, a discrezione della CML, può avvenire su capello (lunghezza del segmento prossimale: 6 cm), su urina (singolo prelievo) o su entrambe le matrici. Qualora i capelli fossero assenti per condizioni fisiopatologiche legate al soggetto, può essere disposto il prelievo di pilizio corporeo. La valutazione dell'uso/abuso alcolico è demandata alla Struttura di Alcolologia dell'AOU-Careggi;
- CML #2: oltre alla rilevazione dell'uso di sostanze stupefacenti, viene richiesta anche la quantizzazione dell'EtG per la valutazione dell'uso/abuso di alcol. Gli accertamenti sono eseguiti sul capello nel segmento prossimale di lunghezza 0-3 cm e, su indicazione della CML, anche su

quello 3-6 cm. Anche la CML #2 prevede la possibilità di raccolta del pilizio corporeo qualora non sussistano le condizioni per il prelievo del capello. Non viene effettuata la raccolta della matrice urinaria in quanto la sua analisi è demandata ai SerD.

**Tabella 1.** Differenze negli accertamenti tossicologico forensi richiesti alla Struttura di Tossicologia Forense dei due protocolli attivi.

CML #1		CML #2	
Sost. Stupefacenti	Alcol	Sost. Stupefacenti	Alcol
Capelli (0-6 cm) o pilizio corporeo e/o Urina	Struttura di Alcolologia AOU-Careggi	Capelli 0-3 cm (+ 3-6 cm) o pilizio corporeo	Capelli 0-3 cm (+ 3-6 cm) o pilizio corporeo

*3.1.2. Protocolli per la gestione degli accertamenti previsti dagli artt. 186, 186-bis, 187 del CdS e dagli artt. 589-bis e 590-bis del CP*

Gli accertamenti possono essere richiesti dagli organi di PS se si verificano le condizioni di cui ai seguenti articoli:

- Art. 186, co. 5 ed art. 186-bis, co. 6: guida in stato di ebbrezza con incidente stradale e conducente ferito e sottoposto a cure mediche;
- Art. 187: accertamento preliminare su strada con esito positivo (co. 2-bis); ragionevole motivo di sospetto stato di alterazione psico-fisica da uso di sostanze stupefacenti o psicotrope (co. 2-bis); incidente stradale con necessità di cure mediche (co. 3). In caso di rifiuto del conducente, non è previsto l'accompagnamento coattivo.
- Artt. 589-bis e 590-bis: qualora il conducente si rifiuti di sottoporsi agli accertamenti di cui agli artt. 186 e 187 del CdS e vi sia fondato motivo di ritenere che dal ritardo possa derivare grave o irreparabile pregiudizio delle indagini. Al verificarsi di ciò, la polizia Giudiziaria informa il

Pubblico Ministero che potrà disporre l'accertamento coattivo (art. 359-bis co.3-bis CPP). Qualora ci fosse un ulteriore rifiuto, si può procedere al prelievo coattivo (art. 348, co. 4 CPP) anche del campione ematico in quanto da esso non deriva alcun pericolo per la vita, per l'integrità fisica o della salute della persona o anche sofferenze di non lieve entità.

I prelievi sono eseguiti da personale sanitario istruito sulla valenza della tipologia degli accertamenti predisposti. Ogni fase, dal riconoscimento dell'individuo al refertamento e conservazione del campione, è verificabile, trasparente e corredata di relativa documentazione che costituisce la catena di custodia. La matrice di elezione rimane quella ematica, tuttavia, qualora il soggetto rifiuti di sottoporsi al suo prelievo, e solo per gli accertamenti previsti ai sensi dell'art. 187, è possibile prelevare un campione di urina accoppiato ad un campione di fluido del cavo orale (tabella 2).

**Tabella 2.** Tabella riassuntiva delle matrici biologiche analizzabili.

	<b>Matrice biologica</b>	
<b>Artt.186 e 186-bis</b>	Sangue	
<b>Art. 187</b>	Sangue	Urina + saliva

### **3.2. Procedure analitiche per l'esecuzione degli accertamenti**

Come predisposto dai protocolli su descritti, gli accertamenti analitici sono eseguiti dal Laboratorio di Tossicologia Forense che adotta le più idonee procedure sulla base della finalità accertativa e della matrice da analizzare, in accordo con le Linee Guida GTFI [3]. C'è da sottolineare che questi accertamenti assumono il valore di prova scientifica e per questo devono possedere requisiti di certezza e di affidabilità (dimostrabili attraverso la documentazione e la tracciabilità di ogni fase analitica) nonché di trasparenza e possibilmente di uniformità nazionale. Per garantire ciò,

da un punto di vista analitico, vengono impiegate per le analisi quantitative o di conferma specifiche tecnologie quali la GC-MS, la HS-GC e l'HPLC-MS/MS. Solo per i campioni urinari è previsto un primo step di screening con tecnica immunoenzimatica EMIT. I campioni negativi non vengono sottoposti ad ulteriori esami, mentre quelli positivi devono essere obbligatoriamente confermati tramite le tecniche su elencate in quanto il risultato positivo ad un test di screening non può in alcun modo assumere il carattere di prova scientifica in ambito forense e, per tal motivo, necessita di un ulteriore step analitico. I valori di cut-off adottati (tabelle 3 e 4) sono quelli indicati dalle Linee Guida GTFI [29] e dal *Consensus* della SoHT [30]. Il *panel* delle sostanze rilevabili ai fini delle diverse finalità accertative è riportato in tabella 5.

**Tabella 3.** Tabella riassuntiva dei cut-off adottati per le diverse classi di sostanze.

Classe	Sostanza	Urina (ng/ml)	Sangue intero (ng/ml)	Matrice cheratinica (ng/mg)
Amfetamine	amfetamina	200	20	0,2
	metamfetamina	200	20	0,2
	MDMA	200	20	0,2
	MDEA	200	20	0,2
	MDA	200	20	0,2
Cannabis	THC	/	2	0,05
	THC-COOH	15	/	0,001
Cocainici	cocaina	100	10	0,5
	benzoilecgonina	100	10	0,05
	cocaetilene	/	/	0,05
Oppiacei	morfina	100	10	0,2
	6-MAM	10	10	0,2
Oppioidi	metadone	100	10	0,2
	EDDP	100	/	0,2
	buprenorfina	5	/	0,1
	nor-buprenorfina	5	/	0,1

**Tabella 4.** Tabella riassuntiva dei valori di EtG nella matrice cheratinica e relativa stima del consumo alcolico nel periodo analizzato (0-6 cm, pari a sei mesi).

EtG (pg/mg)	< 5	Astinenza
	$5 \leq x \leq 30$	Assunzioni ripetute
	> 30	Consumo cronico eccessivo

**Tabella 5.** Elenco delle sostanze rilevabili (in corsivo sono riportati i relativi metaboliti) con connesse indicazioni della matrice analizzata e delle strumentazioni utilizzate in relazione alla finalità analitica.

Classe	Sostanza	Finalità	Matrici	Strumentazione
Alcol	Etanolo	186, 186-bis	Sangue	HS-GC
	EtG	119	Matrice cheratinica	LC-MS/MS
Amfetamine	Amfetamina metamfetamina	119	Matrice cheratinica, urina	GC-MS
	MDMA MDEA MDA	187	Sangue	GC-MS LC-MS/MS
Antidepressivi ed ansiolitici	37 molecole*	187	Sangue	LC-MS/MS
Cannabis	THC	119	Matrice cheratinica, urina	GC-MS
	<i>THC-COOH</i>	187	Sangue	
Cocaina	Cocaina	119	Matrice cheratinica, urina	GC-MS
	<i>Benzoilecgonina</i>	187	Sangue	
Ketamina	Ketamina	119	Matrice cheratinica, urina	GC-MS LC-MS/MS
	<i>Nor-ketamina</i>	187	Sangue	
NSP	63 molecole	187	Sangue	LC-MS/MS
Oppiacei	Morfina	119	Matrice cheratinica, urina	GC-MS
	6-MAM	187	Sangue	
Oppioidi	Metadone	119	Matrice cheratinica, urina	GC-MS
	<i>EDDP</i> Buprenorfina <i>Nor-buprenorfina</i>	187	Sangue	

\*l'elenco delle molecole ad azione antidepressiva/ansiolitica e quello delle NSP è riportato in appendice

### 3.2.1. Procedure analitiche per l'accertamento dell'uso/abuso alcolico

La stima dell'uso/abuso alcolico in sede di verifica del possesso dei requisiti di idoneità alla guida è eseguita, per la sola CML #2, tramite la misurazione del metabolita diretto EtG nella matrice cheratinica. Un'aliquota di 50 mg di capelli viene lavata con MeOH e successivamente sminuzzata. Ad essa vengono poi aggiunti 700 µl di ACN e 10 µl di SI, EtG-d5 (1 ng/µl). Dopo incubazione *o.n.* a  $T_{amb}$ , il campione viene sottoposto a sonicazione, per 1 h a  $T_{amb}$ . Un'aliquota di 100 µl di surnatante è quindi analizzata in LC-MS/MS consistente in un HPLC Agilent 1290 Infinity System (Agilent Technologies) interfacciato con un Agilent 6460 Triple Quad LC/MS (Agilent Technologies) ed equipaggiato con sorgente ESI. La configurazione dell'ESI è la seguente:  $T_{gas}$ : 325 °C; Flusso<sub>gas</sub>: 10 l/min, pressione del nebulizer: 20 psi; voltaggio capillare: 4.000 V. Viene utilizzata una colonna Agilent Zorbax SB-Aq Rapid Resolution HT (4,6 x 50 mm, 1,8 µm) riscaldata a 30 °C. La corsa cromatografica avviene in isocratica con una fase mobile composta al 99% di una soluzione acquosa 5 mM di acido formico (A) e all'1% di ACN (B), con un *rinsing step* al 10% per 2 min. il flusso è fisso a 0,4 ml/min ed il volume di iniezione è di 10 µl. L'acquisizione in modalità MRM con ionizzazione negativa, avviene sfruttando le seguenti transizioni: EtG, 221→75, 85 m/z; EtG-d5, 226→75, 85 m/z.

La misurazione dell'alcolemia viene effettuata su un campione di 1 ml di sangue intero aggiunto di SI, 2-butanolo, e successivamente analizzato tramite HS-GC (Agilent 7697A Headspace, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Il forno è settato a 60 °C e l'iniezione avviene dopo 30 min di incubazione. Il sistema GC è rappresentato da un Agilent 7890 B GC system (Agilent Technologies) equipaggiato con detector a ionizzazione di fiamma. La colonna utilizzata è una Alltech Superox II (lunghezza: 10 m; Ø: 0.54 mm; film: 1,2 mm; Alltech Associates INC., Deerfield, IL, USA). La corsa cromatografica dura 4,5 min ed avviene ad una temperatura di 60 °C.



### 3.2.2. Procedure analitiche per l'accertamento dell'uso di sostanze stupefacenti o psicotrope

Come descritto in precedenza e riassunto in tabella 5, le matrici e le sostanze da rilevare cambiano a seconda della tipologia di accertamento.

L'analisi della matrice cheratinica viene svolta su un'aliquota di 50 mg di capelli, lavati con MeOH e successivamente sminuzzati e sottoposto ad incubazione *o.n.* a 45 °C in presenza di 1 ml di HCl 0,1 N. Il campione risultante è composto da una fase liquida dalla quale verranno poi estratte le amfetamine, i cocainici, la ketamina, gli oppiacei e gli oppioidi, ed una solida in cui verranno rilevati i cannabinoidi, secondo le seguenti procedure:

- Amfetamine, cocainici, ketamina, oppiacei ed oppioidi: la fase liquida viene prelevata ed aggiunta di 1 ml di tampone fosfato (0,1 M, pH 6-7), 1-2 gocce di NaOH 1 N e 10 µl di una soluzione di SI (nalorfina, 1 ng/ml in MeOH). Viene quindi eseguita una estrazione SPE utilizzando colonnine Bond Eluit LCR-certify 130 mg condizionate con 2 ml di MeOH e 2 ml di tampone fosfato (0,1 M, pH 6-7). La fase di lavaggio è svolta tramite 2 ml di H<sub>2</sub>O, 3 ml di HCl 0,1 N e 5 ml di MeOH. Gli analiti sono poi eluiti con una miscela 8:2 di DCM/ISO al 2% di ammoniaca. La miscela risultante è porta a secco sotto flusso di azoto, ripresa con 25 µl di MSTFA e posta in stufa a 75 °C per 15 min. Vengono poi aggiunti 25 µl di toluene ed un'aliquota di 1 µl è iniettata nel sistema GC-MS che consiste in un Agilent 7890A GC equipaggiato con un autocampionatore Agilent 7683B series ed interfacciato tramite un una sorgente ad impatto elettronico ad un MS a singolo quadrupolo Agilent 5975C. Il gas carrier utilizzato è l'elio e le colonne e le programmate di temperatura variano in base agli analiti. Per le amfetamine viene adottata una colonna Alltech H46 (10 m, 0.53 mm, 1.20 mm) termostata inizialmente a 100 °C. Gli step di temperatura sono fissati a 125 °C (25 °C/min) e a 180 °C (15 °C/min). La separazione cromatografica per i cocainici, la ketamina, gli oppiacei e gli oppioidi viene effettuata tramite una colonna Agilent HP-5 (30 m, 0.32 mm, 0.25 mm). La programmata parte dai 100 °C per poi salire a 300 °C (20 °C/min) con isoterma di 1 min. L'acquisizione avviene per tutte le sostanze in SIM: 6-MAM, 399, 340, 287 m/z;

amfetamina, 91, 116, 192 m/z; benzoilecgonina, 240, 82, 361 m/z; buprenorfina, 450, 482, 506 m/z; cocaina, 182, 82, 303 m/z; EDDP, 277, 276, 220 m/z; ketamina, 180, 152, 209 m/z; MDA, 116, 135, 236 m/z; MDEA, 144, 135, 264 m/z; MDMA, 130, 250, 91 m/z; metadone, 72, 294, 223 m/z; metamfetamina, 130, 91, 206 m/z; morfina, 429, 414, 401 m/z; nalorfina, 455, 414, 440 m/z; nor-buprenorfina, 468, 557, 542 m/z; nor-ketamina, 166, 195, 138 m/z;

- Cannabinoidi: la parte solida, costituita da capelli, viene aggiunta di 50  $\mu$ l di  $\alpha$ -colestano (1 ng/ml, SI) e sottoposta ad idrolisi con 1 ml di NaOH 2 N a 45 °C per 30 min. La miscela risultante è estratta con 4 ml di una miscela 9:1 di HEX/AcOEt e la fase organica viene raccolta e portata a secco sotto flusso di azoto. Il residuo è poi derivatizzato tramite l'aggiunta di 25  $\mu$ l di MSTFA a 75 °C per 15 min. La miscela risultante viene poi diluita con 25  $\mu$ l di toluene ed iniettata nel sistema GC-MS. Viene adottata una colonna Alltech H46 (10 m, 0.53 mm, 1.20 mm) termostata a 100 °C. La temperatura viene portata a 325 °C (30 °C/min) con isoterma di 3 min. Gli ioni per l'acquisizione in SIM sono: THC, 386, 371, 315 m/z; THC-COOH, 371, 473, 488 m/z;  $\alpha$ -colestano, 217, 357, 372 m/z.

Per la quantificazione delle sostanze stupefacenti nel campione urinario, questo viene suddiviso in due aliquote che verranno successivamente sottoposte a due differenti procedure estrattive:

- Amfetamine, cocainici, ketamina, oppiacei ed oppioidi: 1 ml di urina viene sottoposta ad idrolisi tramite 1 ml di HCl 36% a 110 °C per 1 h. Vengono poi aggiunti 1 ml di tampone fosfato (0,1 M, pH 6), 10  $\mu$ l di nalorfina (50 ng/ $\mu$ l, SI) e poche gocce di NaOH 5 M (fino al raggiungimento di un pH 6-7). La miscela viene quindi estratta tramite SPE con colonnine Bond Elut LCR-certify preconizionate con 2 ml di MeOH. L'eluizione avviene con una doppia aggiunta di 2 ml di una miscela 8:2 di DCM/ISO al 2% di ammoniaca. La soluzione è portata a secco sotto flusso di azoto e derivatizzata con MSTFA a 75 °C per 15 min. Il sistema GC-MS e le condizioni analitiche (colonne, programmate e SIM) sono le medesime su riportate;

- Cannabinoidi: 500 µl di campione vengono idrolizzati a 60 °C per 15 min in presenza di 1 ml di KOH. Successivamente, vengono aggiunti 10 µl di α-colestano (1 ng/µl, SI) e di 100 µl di tampone ammonio acetato (pH 4,5). Viene poi eseguita una estrazione SPE con l'impiego di colonnine Stepbio Isolute HAX SPE condizionate con 6 ml di una miscela 1:1 di MeOH/H<sub>2</sub>O. L'eluizione avviene con 5 ml di una soluzione 75:25 di HEX/AcOEt con l'1% di acido acetico glaciale. L'estratto è portato a secco sotto flusso di azoto e derivatizzato con BSTFA all'1% di TMCS a 60°C per 20 min. Le condizioni operative del sistema GC-MS sono le stesse descritte in precedenza per l'analisi dei cannabinoidi nella matrice cheratinica.

Per quel che riguarda l'analisi della matrice ematica ai fini degli accertamenti previsti dall'art. 187, le metodiche impiegate per la quantificazione delle sostanze stupefacenti sono le medesime descritte per l'analisi della matrice urinaria, ad eccezion fatta per lo step di idrolisi che è eseguito solo nel caso dei cannabinoidi. Qui di seguito riporto le procedure adottate per la quantificazione degli antidepressivi/ansiolitici e delle NSP:

- Antidepressivi ed ansiolitici: 200 µl di sangue vengono aggiunti con 60 µl di SI (halazepam, 0,5 ng/ml) e 500 µl di tampone fosfato (pH 8). Viene poi eseguita una estrazione liquido-liquido con 2 ml di una miscela 1:1 di AcOEt/Et<sub>2</sub>O. La fase organica è portata a secco sotto flusso di azoto e ripresa con 200 µl di H<sub>2</sub>O ed analizzata in LC-MS/MS. La colonna impiegata è una Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 column (2,1 x 50 mm, 1,8 µm) riscaldata a 30 °C. La fase mobile iniziale consiste in 99:1 di A/B che, dopo 6 min arriva a 90:10, dopo 4 min a 75:25, dopo 2 min a 30:70 e dopo un altro minuto a 0:100 per 4 min. L'acquisizione è in MRM in ionizzazione positiva (v. APPENDICE, tabella A1)
- NSP, amfetaminici e ketamina: 200 µl di sangue vengono aggiunti di 600 µl di ACN e 20 µl di SI (mefedrone-d3 e JWH-210-d9 1 ng/µl). La fase liquida viene poi portata a secco sotto flusso di azoto, ricostituita con 100 µl di H<sub>2</sub>O e sottoposta ad analisi tramite LC-MS/MS. Viene impiegata una colonna Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (2.1 × 50 mm, 1.8 µm). La fase mobile iniziale è

99:1 A/B. Il gradiente di eluizione è operato aumentando B fino al 30% in 6 min, fino al 50% in 2 min e fino al 100% in 4 min, con isocratica finale di 3 min. L'acquisizione avviene in modalità positiva ed in MRM (v. APPENDICE, tabella A2)

## **4. RISULTATI E DISCUSSIONE**

Durante lo svolgimento dell'attività di ricerca ho avuto modo di studiare tre differenti protocolli per la gestione degli accertamenti tossicologico-forensi per la valutazione dell'uso/abuso di alcol e sostanze stupefacenti o psicotrope in risposta a specifici dettami di legge. Da tale studio ho potuto individuare i punti cardine e gli aspetti critici da considerare nella stesura di procedure caratterizzate da trasparenza e sicurezza per ogni aspetto e fase di movimentazione del campione (partendo dal prelievo fino alla conservazione post-analisi), e certezza e qualità del dato analitico e della relativa interpretazione cosicché possano essere da esso posseduti tutti i requisiti necessari affinché possa avere validità di prova scientifica in ambito forense.

L'applicazione dei protocolli adottati presso la Struttura di Tossicologia Forense, ha permesso di effettuare una valutazione dell'impatto del fenomeno DUID, permettendo di studiarne le caratteristiche negli ultimi 3 anni (2018-luglio 2020).

### **4.1. Considerazioni sui protocolli studiati**

La diversità di fattispecie descritte agli articoli del CdS impone differenti approcci non soltanto analitici, ma anche sul piano dell'organizzazione di tutti gli aspetti e processi legati al campione, partendo in primis dalla scelta della opportuna matrice. Possiamo tuttavia suddividere i protocolli qui studiati sulla base della finalità dell'accertamento:

- Accertamento di uso/abuso pregresso di sostanze (art. 119)
- Accertamento della "attualità d'uso" (artt. 186, 186-bis e 187 del CdS e artt. 589-bis e 590-bis del CP)

Nel primo caso, l'indagine ha lo scopo di verificare se il soggetto ha fatto uso/abuso di una o più sostanze in un determinato periodo di tempo (scelto a discrezione della CML) al fine di valutare il possesso dei requisiti in casi di nuovo rilascio o di riottenimento, in seguito a periodo di sospensione

o revoca, della patente di guida. In questo caso non è ravvisabile un carattere di urgenza dell'analisi che può essere quindi programmata nel tempo. Non esiste un vincolo temporale entro il quale l'accertamento deve essere svolto al fine di non pregiudicarne validità. Ciò nonostante, avendo comunque carattere forense, deve ovviamente presentare tutti i requisiti propri di questo ambito di applicazione come ad esempio l'espressione del consenso informato da parte del soggetto sottoposto all'accertamento, tracciabilità del campione tramite puntuale e trasparente catena di custodia, scelta delle opportune matrici e così via. Come già più volte espresso, quest'ultimo aspetto è fondamentale in quanto l'erronea indicazione del campione biologico da prelevare può portare a conclusioni aberranti con forti ricadute sull'individuo interessato. Infatti, l'utilizzo di fluidi biologici con una ridotta finestra di rilevazione, come ad esempio il sangue e la saliva, non permette una valutazione corretta dell'uso/abuso pregresso, in quanto la permanenza delle sostanze è piuttosto breve (nell'ordine delle ore, a seconda delle caratteristiche farmacocinetiche della molecola). Per tal motivo si predilige la matrice cheratinica che ha la capacità di conservare per lunghi periodi le sostanze e/o metaboliti (anche per più mesi, a seconda della lunghezza del capello o del pilizio), consentendo così di stimare un consumo precedente. Anche l'urina potrebbe essere indicata in tali accertamenti purché, come già affermato, l'analisi sia estesa a più campioni raccolti in giorni diversi e a "sorpresa" (con un preavviso non superiore alle 24 ore). Per i protocolli oggetto di studio, soltanto la CML #1 prende in esame la matrice urinaria, senza tuttavia rispettare le indicazioni descritte nelle Linee Guida GTFI.

Hanno invece carattere di emergenza le indagini eseguite per la valutazione dell'"attualità d'uso" a seguito di incidente stradale con richiesta di cure mediche, emergenza ovviamente non di natura clinica, ma forense. Infatti risulta evidente che il carattere di urgenza risiede nella tempestività del prelievo e non nella produzione della risposta: minore è il lasso di tempo intercorso tra accadimento e prelievo, e più precisa sarà la correlazione tra evidenze analitiche e l'eventuale stato di alterazione al momento del sinistro. Il campione biologico raccolto a distanza di tempo dall'evento può "negativizzarsi" per effetto dei normali processi farmacocinetici, così da non permettere la rilevazione dell'eventuale sostanza presente. Per garantire una rapida esecuzione dei prelievi, il protocollo

oggetto di studio prevede un percorso dedicato presso il reparto di Pronto Soccorso, così da consentire una rapida accettazione del soggetto anche qualora non versasse in gravi condizioni. Come detto in precedenza, la matrice d'elezione per questa tipologia di accertamenti è quella ematica, in quanto rappresenta il tessuto tramite il quale le sostanze si distribuiscono in tutto l'organismo e raggiungono i propri siti di azione. L'eliminazione dal torrente ematico, dovuto alla metabolizzazione (se porta a metaboliti inattivi) o l'escrezione diretta, porta quindi alla progressiva scomparsa degli effetti. Si può facilmente concludere che le sostanze esogene esplicano un effetto sull'organismo che è correlato alla loro concentrazione ematica; onset e durata di azione, volume di distribuzione, emivita e *clearance*, sono tutti parametri farmacocinetici che permettono di descrivere il "comportamento" dello xenobiotico una volta introdotto nell'organismo, da non confondersi con la farmacodinamica che invece descrive il meccanismo di azione responsabile degli effetti farmacologici e/o tossici delle varie sostanze. Diversi studi hanno anche dimostrato la correlazione tra concentrazione ematica e quella salivare e per questo motivo, anche il fluido del cavo orale può essere utilizzato per la valutazione dell'"attualità d'uso" [31-33]. La matrice urinaria invece, non si presta a questo tipo di interpretazioni in quanto è una matrice di escrezione nella quale le sostanze vanno a concentrarsi una volta eliminate dal torrente ematico, così da non poter più indurre alcuna azione farmacologica. Inoltre, l'urina ha una finestra di rilevazione più ampia rispetto al sangue, che permette di rilevare sostanze anche a distanza di diversi giorni dall'assunzione e quindi dall'effetto. Da un punto di vista forense, la presenza di una sostanza e/o dei suoi metaboliti nell'urina è indicativa solo di un consumo nel recente passato, senza possibilità di definire con precisione l'intervallo di tempo trascorso; ne consegue dunque che l'urina non può essere utile ad accertare l'esistenza di uno stato di alterazione psicofisica.

La raccolta del campione è una delle fasi più importanti in quanto se effettuata in modo errato può pregiudicare l'intera procedura accertativa. Il prelievo ematico ai fini dell'alcolemia, ad esempio, deve essere eseguito senza l'utilizzo di disinfettanti alcolici al fine di non falsare il risultato, inoltre, al campione devono essere aggiunti un preservante (sodio fluoruro), al fine di evitare l'instaurarsi di

possibili fenomeni degradativi che possano favorire la neoformazione di alcol etilico, ed un anticoagulante prestando attenzione ad evitare la sierazione. Questi ultimi accorgimenti sono necessari in quanto la valutazione dell'alcolemia deve obbligatoriamente essere condotta su sangue intero, dato che se effettuata su derivati del sangue (plasma, siero), produce una sovrastima fino anche del 26%. Il fluido del cavo orale, altra matrice utile nella stima della "attualità d'uso", deve essere prelevato senza la stimolazione della salivazione. Nel caso del prelievo urinario, devono essere predisposti vari accorgimenti atti a verificare la tentata o avvenuta adulterazione del campione. Come descritto dalle linee guida GTFI, e recepito dai protocolli qui studiati, è necessario che:

- prima di accedere al luogo di prelievo il soggetto è tenuto a depositare qualunque oggetto, borsa, indumento tale da poter occultare materiale utile ad adulterare o manomettere il campione urinario;
- il soggetto è tenuto a lavarsi accuratamente le mani e ad asciugarle;
- il personale consegna al soggetto il materiale per la raccolta urinaria, lo informa del quantitativo di urina che deve essere approssimativamente raccolto e lo invita a entrare nel locale di prelievo;
- il locale di prelievo deve poter garantire la possibilità di osservazione diretta o indiretta (telecamera a circuito chiuso, della cui presenza il soggetto deve essere preventivamente informato) e in esso (ad eccezione del caso di osservazione diretta) non devono essere presenti fonti o materiali utilizzabili per la diluizione o l'adulterazione del campione (sanitari o altre sorgenti d'acqua, contenitori di sapone, di disinfettanti, di detergenti ecc.).

Oltre a ciò, vengono predisposti ulteriori controlli sul campione successivamente alla raccolta, come ad esempio la rilevazione della temperatura, della gravità specifica, della creatinuria e del pH.

Il prelievo del capello avviene previa verifica da parte dell'operatore della lunghezza (che deve essere corrispondente a quella richiesta dalla CML) e di eventuali trattamenti estetici visibili. L'addetto deve poi isolare una ciocca di capelli del diametro di circa 0,5-0,7 cm, possibilmente nella zona del vertice posteriore del capo, attorcigliarla con le dita e tagliare tramite lama affilata o forbici il più possibile vicino alla cute. È fondamentale la segnalazione inequivocabile della estremità



prossimale della ciocca così da rendere a prova di errore la misurazione della lunghezza del segmento da sottoporre all'esame. Qualora la quantità di capelli presente nella zona del vertice posteriore non fosse sufficiente, l'operatore può effettuare il prelievo da diverse zone del capo sino a raggiungere il quantitativo richiesto. Come già discusso in sede di descrizione dei protocolli, può essere predisposta la raccolta delle formazioni pilifere. È in ogni caso necessario predisporre anche il prelievo di un secondo campione (detto controcampione) e del tutto identico al primo, al fine di dare facoltà all'interessato di richiedere l'esecuzione di una analisi di revisione. Data la complessità e la specificità di questi prelievi, risulta essenziale la continua e puntuale formazione del personale addetto.

Per tutte le fattispecie di prelievi, dato il carattere forense dell'attività accertativa per cui vengono effettuati, è obbligatorio:

- la verifica da parte del soggetto che il materiale necessario al prelievo sia integro, nuovo, sigillato;
- l'esecuzione di tutte le operazioni di suddivisione, confezionamento ed etichettatura del campione e del controcampione in presenza dell'interessato che controfirma il modulo di campionamento, nonché l'etichetta del campione e del controcampione;
- preservare correttamente i campioni da qualsivoglia adulterazione, inquinamento, o dispersione di parte mediante l'utilizzo di materiale idoneo, a perfetta chiusura, inviolabile o comunque sigillabile, non suscettibile di rotture in caso di urto durante il trasporto, o per shock termico durante il congelamento ove questo sia necessario;
- annotare sulla modulistica relativa alla catena di custodia ogni fase dell'iter del campione.

Proprio la catena di custodia riveste un ruolo fondamentale per questi tipi di accertamenti data la loro natura forense. Essa è la procedura documentata atta a garantire l'autenticità, l'integrità e la tracciabilità di un campione biologico dal momento del prelievo/raccolta sino al suo smaltimento; essa deve permettere di ricostruire l'iter del campione all'interno del laboratorio, di documentarne le condizioni di conservazione in tutte le fasi, di preservarlo da manomissioni e adulterazioni volontarie

o involontarie, nonché di individuarne tutte le movimentazioni e lavorazioni con registrazione della data e dell'operatore che le ha effettuate.

Altro aspetto da non sottovalutare è quello della conservazione del campione al fine di evitare eventuali adulterazioni che possano inficiare la qualità e la validità dell'analisi. Sangue e saliva devono essere conservati nei range di temperatura di +2/+8 e di -18/-22°C qualora la loro analisi avvenga entro o dopo le 24 h dal prelievo. Nel caso dell'urina, gli stessi intervalli vengono applicati se l'accertamento viene eseguito entro o dopo le 12 h. Per quel che riguarda la matrice cheratinica, la tecnica di conservazione deve garantire la protezione dei campioni dall'umidità e della luce.

Come su descritto, l'analisi strumentale richiede tecnologie all'avanguardia e di sicuro affidamento. Infatti, i risultati sono ottenuti tramite l'utilizzo di sistemi cromatografici quali l'HS-GC (valido solo per l'alcolemia) GC-MS ed LC-MS/MS in quanto sono gli unici caratterizzati da selettività e sensibilità analitiche tali da fornire al dato finale il carattere di prova scientifica in ambito forense (come da linee guida GTFI). Tutte le metodiche presentate in questo studio, e routinariamente applicati nei protocolli descritti, sono stato oggetto di ampia ed approfondita validazione atta a certificare l'assoluta qualità sia del processo che del risultato finale.

#### **4.2. Risultati degli accertamenti tossicologico-forensi.**

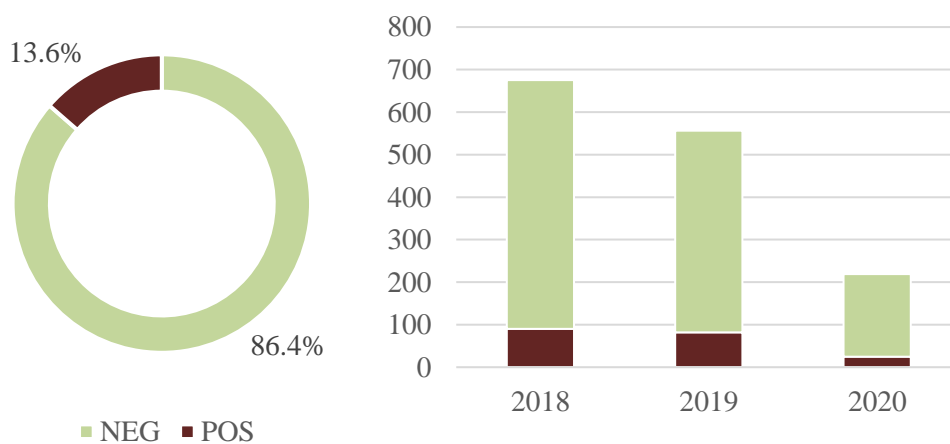
Dal 2018 al luglio 2020, sono state svolte 2295 analisi ai fini dell'art. 119 e 610 riscontri per gli artt. 186,186-bis e 187, con un trend pressoché identico tra i diversi anni, fatta eccezione per il 2020 dove le restrizioni imposte dalla pandemia da COVID-19 ha determinato una drastica diminuzione sia delle attività delle CML, che della circolazione stradale, generando così anche una minore richiesta di accertamenti da parte degli organi di PS. L'applicazione dei protocolli accertativi ha permesso di avere una visione, seppur limitata geograficamente, del fenomeno DUID basata su dati scientifici. Data la diversità delle procedure adottate, è possibile pervenire a differenti conclusioni sulle caratteristiche del legame tra uso/abuso di sostanze e guida.

#### 4.2.1. Risultati degli accertamenti ai fini dall'art. 119 del CdS

Come già descritto in precedenza, la Struttura di Tossicologia Forense ha attualmente in vigore due protocolli con due diverse CML dell'area toscana che si differenziano sia sulla base delle matrici utilizzate sia sulle sostanze da ricercare. I casi analizzati sono rispettivamente 1445 per la CML #1 e 850 per la CML #2.

La CML #1 richiede di evidenziare la presenza delle sole sostanze stupefacenti sul segmento 0-6 cm di capello e, qualora questo non sia presente per condizioni fisio-patologiche, su pilizio corporeo (toracico, ascellare, pubico). Questa matrice cheratinica alternativa non viene prelevata allorché il soggetto presenti capelli con lunghezza inferiore a quanto indicato; in tal caso gli verrà chiesto di ripresentarsi. In 175 casi (12,1%) è stata effettuata anche l'analisi della matrice urinaria.

Il numero di positività ad almeno una sostanza è pari al 13,6% (figura 6), con un trend costante tra i differenti anni (2018, 13,3%; 2019, 14,7%; 2020, 11,7%; v. APPENDICE, tabella A3).

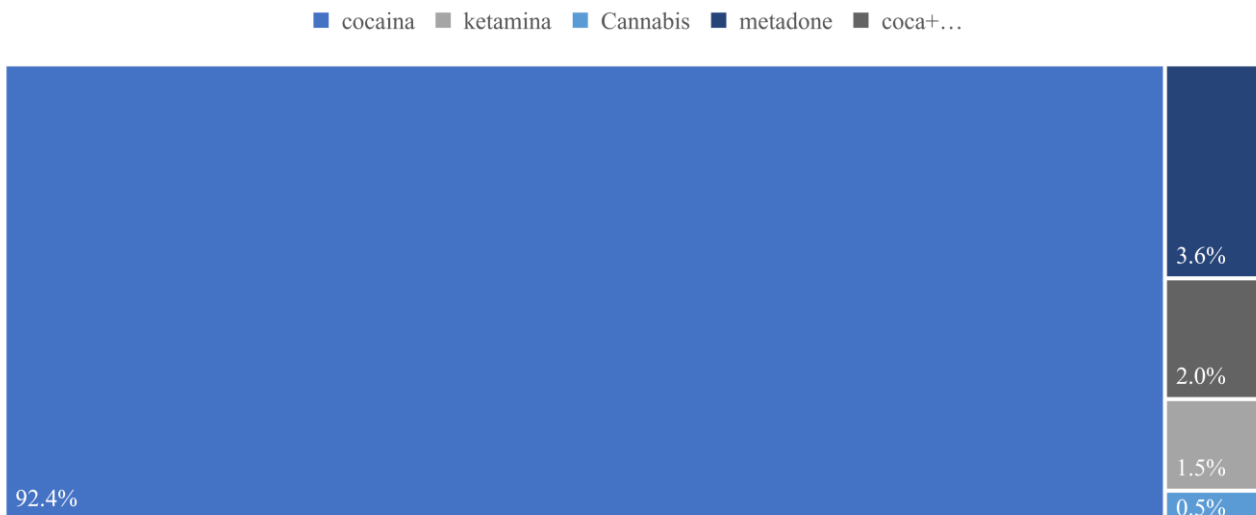


**Figura 6.** Positività totali e distribuzione per anno (CML #1).

Dal confronto dei risultati derivanti dalle due matrici, si osserva che solo in tre casi è stata riscontrata la positività urinaria, confermata anche nella matrice cheratinica; non sono stati registrati invece casi di positività urinaria e negatività al capello/pilizio. Ciò è indice di quanto effettivamente

la matrice urinaria, se non prelevata a “sorpresa” ed in momenti differenti, sia poco efficace per questo tipo di accertamenti, dato che il soggetto è a conoscenza della data di esecuzione del prelievo e quindi può astenersi dall’eventuale assunzione per tempo.

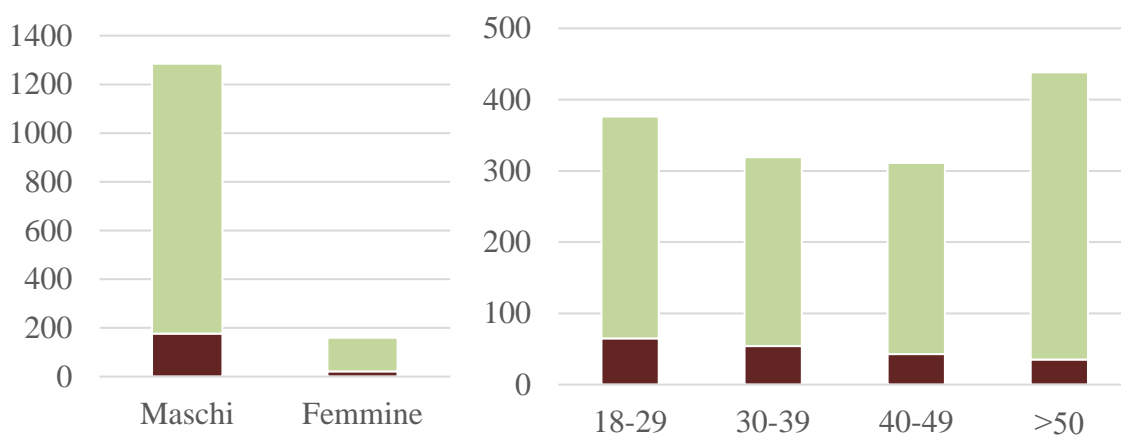
La cocaina risulta essere la sostanza stupefacente più rilevata (92,4% da sola, 2,0% in associazione, v. APPENDICE, tabella A4), segue il metadone (3,6%) e la ketamina (1,5%). Le positività alla Cannabis contano soltanto per lo 0,5% dei casi (figura 7). Tale dato è particolarmente interessante se si considera che la Cannabis è la seconda sostanza per consumo in Italia (4,4 mld di euro, 28,8% del mercato) dopo la cocaina (6,5 mld di euro, 42,5% del mercato) [34].



**Figura 7.** Sostanze stupefacenti rilevate durante gli accertamenti disposti dalla CML #1.

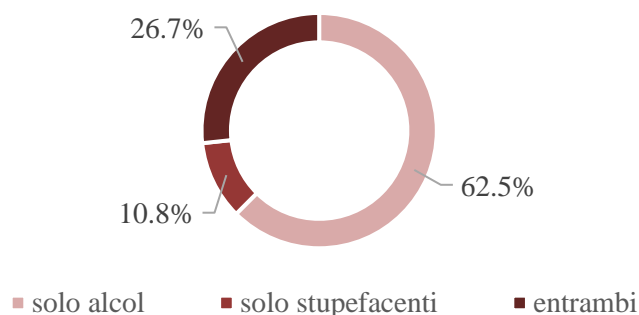
Per quel che riguarda i due sessi (figura 8), possiamo notare come non ci sia alcuna differenza tra di essi in termini di percentuali di positivi: il 13,7% per i maschi ed il 13,2% per le femmine (v. APPENDICE, tabella A5). Tra i maschi viene osservata una maggior variabilità delle sostanze riscontrate, tuttavia questo dato è affetto da scarsa significatività data l’enorme differenza nel numero di casi per i due sessi (v. APPENDICE, tabella A6).

Tra le quattro fasce di età prese in considerazione possiamo notare come tra i 18-39 anni, la percentuale di positivi si aggira intorno al 17%, mentre risulta essere più bassa negli over 40 (40-49 anni, 13,8%;  $\geq 50$ , 8,0%). La quantità di positivi alla cocaina diminuisce con l'età (18-29 anni, 34,1%; 30-39 anni, 26,9%; 40-49 anni, 20,9%;  $\geq 50$  anni, 18,1%), mentre l'unico caso di Cannabis è riconducibile ad un soggetto di età inferiore ai 29 anni. Tutti i casi di positività al metadone sono stati osservati nei soggetti di età  $> 40$  anni (v APPENDICE, tabella A6).



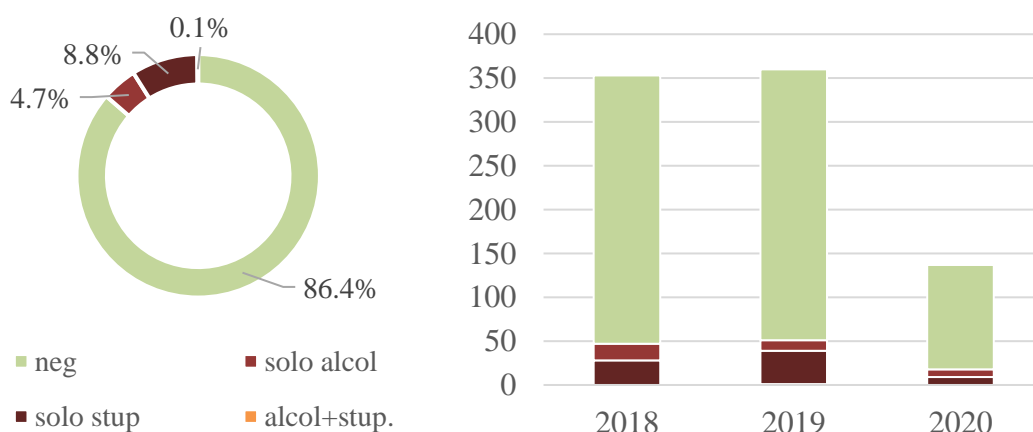
**Figura 8.** Casi di positività ad almeno una sostanza stupefacente per sesso e per fasce di età (CML #1)

Secondo quanto previsto dal protocollo stilato con la CML #2, oltre alla presenza di sostanze stupefacenti, viene richiesta anche l'analisi quantitativa del marker di uso/abuso alcolico EtG. Il segmento del capello sottoposto agli accertamenti è quello 0-3 cm (corrispondente agli ultimi 3 mesi di "storia di consumo") con eventuale richiesta di integrazione con il segmento 3-6 cm. Tale supplemento è stato richiesto solo nel 13,4 % dei soggetti analizzati e i positivi o negativi al secondo segmento erano sempre positivi o negativi anche al primo. Non sono stati infatti rilevati casi di discordanza tra i risultati ottenuti per le due aliquote. I casi totali per la CML #2 sono 850 (figura 9): 531 (62,5%) per la sola rilevazione dell'uso/abuso alcolico, 92 (10,8%) per la valutazione dell'uso di sostanze stupefacenti e 227 (26,7%) per entrambe le tipologie di indagine.



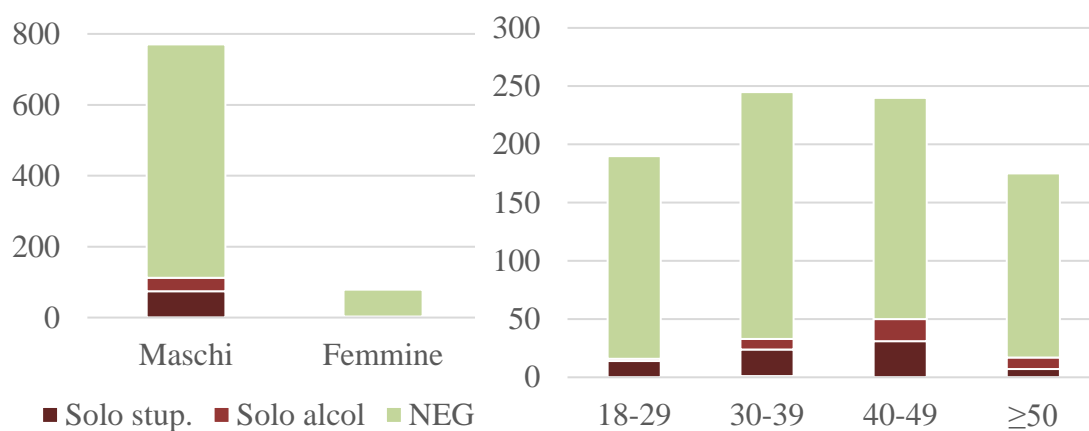
**Figura 9.** Distribuzione degli accertamenti eseguiti per la CML #2 sulla base della tipologia di richiesta

Il numero totale di positività riscontrate è di 116 (13,6 %, figura 10): 40 (4,7%) al solo marker EtG ( $\geq 30$  pg/mg); 75 (8,8%) ad almeno una sostanza stupefacente; 1 (0,1%) all'EtG e ad almeno una sostanza stupefacente (v. APPENDICE, tabella A7). Quest'unico caso è relativo ad un uomo di 57 positivo alla cocaina. I trend di positività, come dimostra la figura 10, sono piuttosto altalenanti e senz'altro il numero ridotto di analisi eseguite nel 2020 non permette una stima attendibile.



**Figura 10.** Positività per tipologia di sostanza e loro distribuzione per anno (CML #2)

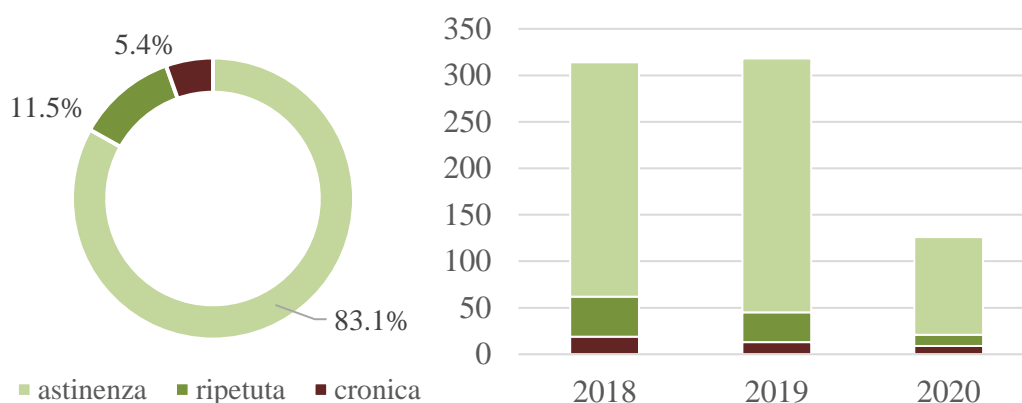
Il 14,6% dei maschi è risultato positivo contro il 3,8% delle femmine (figura 11, v. APPENDICE, tabella A8). Nelle donne si riscontra una maggiore positività all'EtG rispetto a quella delle sostanze stupefacenti, dato questo opposto a quello del sesso maschile (figura 11). Per quel che riguarda le fasce di età, al di sotto dei 29 anni si osserva una percentuale di positività più bassa (8,4%) rispetto alle altre fasce, con il picco nel range di 40-49 anni (20,8%). Non si evidenziano differenze nella tipologia di positività sulla base dell'età (sostanze stupefacenti > EtG) ad eccezione dei soggetti  $\geq$  50anni.



**Figura 11.** Casi di positività e loro tipologia per sesso e per fascia di età (CML #2)

Sulla base della concentrazione di EtG rilevata è possibile effettuare una stima dell'entità del consumo pregresso di alcol. Infatti, come descritto nel Consensus della SoHT [30], concentrazioni di EtG misurate in capelli di lunghezza compresa tra i 3 e i 6 cm possono suggerire: l'astensione del soggetto dal consumo di alcol nel periodo considerato se inferiori ai 5 pg/mg; consumo ripetuto se comprese tra 5 e 30 pg/mg; consumo cronico eccessivo (> 60 g/die) qualora superiori ai 30 pg/mg. Tali range possono essere applicati anche per segmenti di capello inferiori ai 3 o superiori ai 6 cm, con le dovute precauzioni ed il dovuto giudizio in sede di interpretazione. Ciò vale anche nel caso dell'analisi del pilizio, dove non viene effettuata una misurazione della lunghezza in quanto la crescita

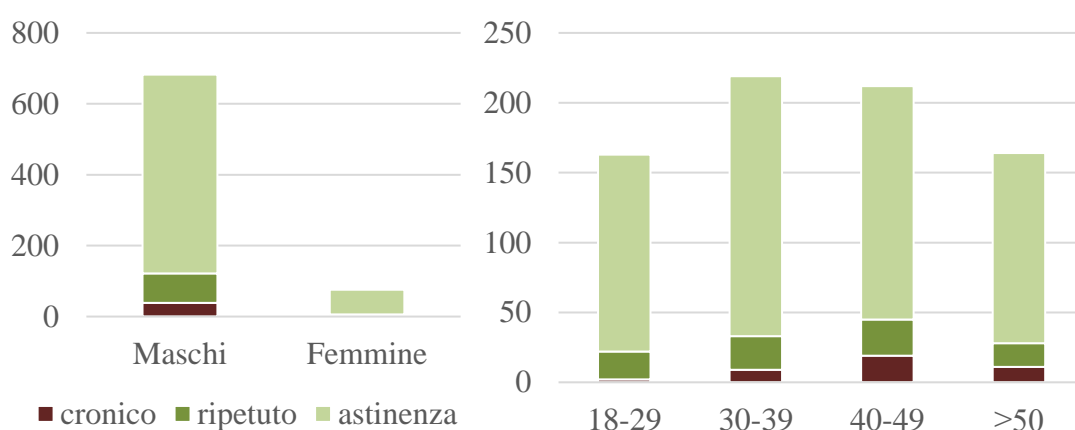
non è costante come per il capello (all'incirca 1 cm al mese). Inoltre esistono particolari criticità legate al distretto corporeo dal quale il campione viene prelevato. Ad esempio il pilizio pubico è esposto alla contaminazione da parte dell'urina dove i livelli di EtG sono molto elevati e pertanto possono generare una sovrastima della sua concentrazione nel pilizio anche nell'ordine del 400% [35-37]. Ad ogni modo, come indicato dalla SoHT, il pilizio pubico può essere utile nella stima dell'eventuale astinenza da alcol di un soggetto, ma non di una sua positività. Per tal motivo, il suo prelievo è limitato solo a casi particolari ed eventuali positività devono essere confrontate con i risultati di altre matrici cheratiniche. Altro pilizio che può portare ad errate conclusioni è quello ascellare. I peli ascellari sono soggetti alla contaminazione da parte del sudore, all'attività batterica e a trattamenti (es. lavaggi frequenti, uso di deodoranti a base alcolica, ecc.), tutte circostanze che possono alterare, sia in senso positivo che negativo, la concentrazione di EtG. Ne deriva quindi che l'uso del pilizio ascellare è sempre sconsigliato in quanto non permette una stima attendibile dell'uso/abuso alcolico. In questo studio, in totale sono stati sottoposti alla quantizzazione dell'EtG 758 soggetti (89,2%, figura 12): 41 (5,4%) sono risultati assuntori cronici eccessivi di alcol, con un valore minimo riscontrato nel 2019, pari al 4,1% (v. APPENDICE, tabella A9).



**Figura 12.** Distribuzione dei casi per tipologia di assunzione di alcol stimata (CML#2)

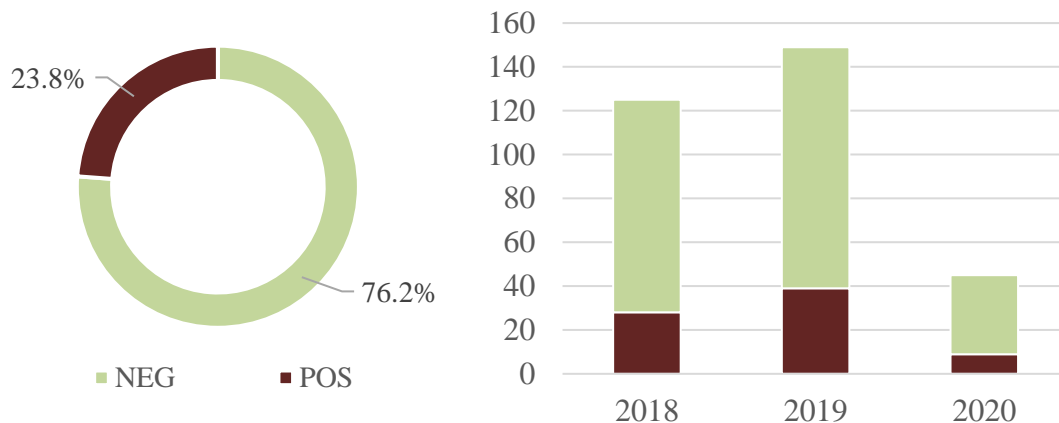


Sono risultati consumatori cronici di alcol soltanto due soggetti di sesso femminile (2,6%) rispetto ai 39 di sesso maschile (5,7%, v. APPENDICE, tabella A10). Anche per quel che riguarda il consumo ripetuto, la percentuale di uomini è maggiore rispetto a quella delle donne (12,2% vs 5,3%, figura 13). La distribuzione per fasce di età ha mostrato una più alta presenza di assuntori cronici tra i 40-49 anni (9,0%;  $\geq 50$ , 6,7%; 30-39, 4,1%;  $\leq 29$  anni, 1,2%, figura 13, v. APPENDICE, tabella A10).



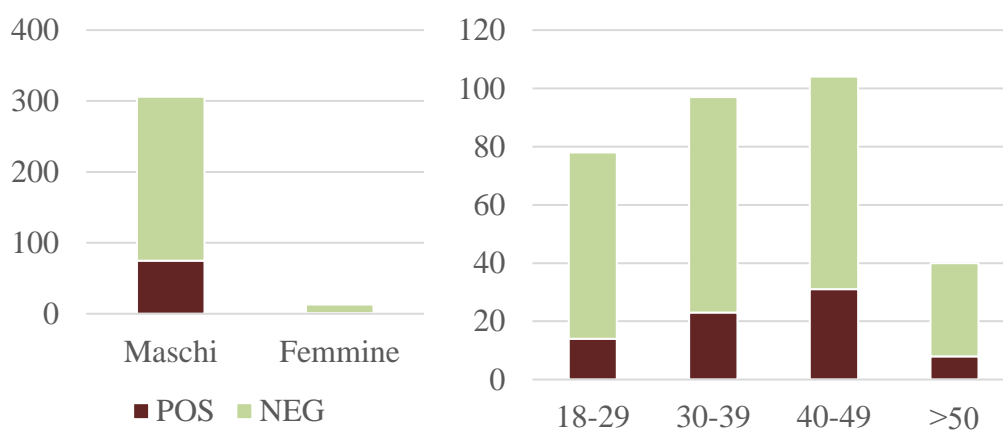
**Figura 13.** Consumi di alcol registrati per sesso e fasce di età (CML#2)

La rilevazione del consumo di pregresso di sostanze stupefacenti è stata richiesta nel 37,5% dei casi e, come si evince dalla figura 14, il 23,8% dei soggetti sottoposti a tale indagine ha consumato nell'intervallo di tempo considerato (ultimi 3 mesi) almeno una sostanza (il 10,2% in più rispetto alla CML #1) con un picco di positività registrato nel 2019 (26,2%; 2018, 22,4%; 2020, 20,0% v. APPENDICE, tabella A11).



**Figura 14.** Positività a sostanze stupefacenti e loro distribuzione negli anni di osservazione (CML#2)

Soltanto una donna (di anni 40) è risultata positiva ad almeno una sostanza (cocaina), contro i 75 casi per il sesso maschile (24,5%, figura 15, v. APPENDICE, tabella A12). Il minor numero di positivi è stato registrato nella fascia di età < 29 anni (17,9%), mentre i maggiori consumi sono stati riscontrati nei soggetti con età compresa tra i 40 e i 49 anni (29,8%, figura 15, v. APPENDICE, tabella A15).



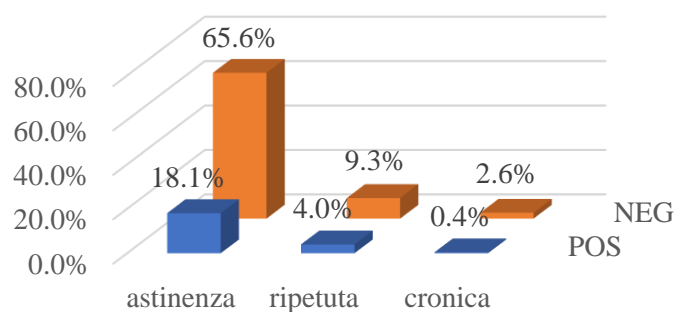
**Figura 15.** Positività ad almeno una sostanza stupefacente per sesso e fasce di età (CML#2)

Anche per la CML #2 (figura 16), la principale sostanza rilevata è la cocaina (da sola 80,3%, in associazione, 6,6% v. APPENDICE, tabella A13). Si evidenziano però percentuali di positività alla ketamina ed alla Cannabis maggiori rispetto alla CML #1 (ketamina, 9,2% CML #2 vs 1,5% CML #1; Cannabis, 2,6% CML #2 vs 0,5% CML #1). Il metadone è rilevato con una frequenza minore di quasi un terzo rispetto a quanto osservato per la CML #1 (1,3% vs 3,6%). Il 42,6% dei soggetti positivi alla cocaina ha età compresa tra i 30 e i 39 anni, mentre la totalità dei consumatori di Cannabis ha meno di 29 anni.



**Figura 16.** Sostanze rilevate durante gli accertamenti disposti dalla CML #2

È possibile ottenere un quadro del concomitante consumo pregresso di alcol e di almeno una sostanza stupefacente per quei soggetti sottoposte ad entrambe le fattispecie di analisi (figura 17, v. APPENDICE, tabella A14).



**Figura 17.** Consumo di alcol vs consumo di almeno una sostanza stupefacente (CML#2)

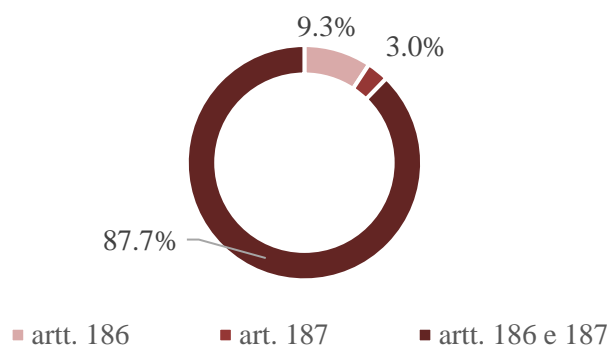
Seppur il concomitante consumo cronico eccessivo di alcol e di almeno una sostanza stupefacente è stato rilevato in un singolo caso, come su descritto, è possibile notare che il 4,0% dei soggetti assume regolarmente alcol e droghe, in particolare cocaina (92,1%).

È importante sottolineare che questi dati, derivanti dagli accertamenti ai fini dell'art. 119 CdS, non sono descrittivi del fenomeno DUID, in quanto derivanti da analisi predisposte per il conseguimento o il riottenimento della patente e non su soggetti sospettati di guida in stato di alterazione da sostanze. Tuttavia acquisiscono significatività alla luce del fatto che i soggetti sottoposti a queste indagini sono a conoscenza della data di svolgimento del prelievo con largo anticipo e, quindi, hanno a disposizione tutto il tempo e tutto l'interesse di risultare negativi. Nonostante ciò, come visto dalle statistiche presentate, esiste un ampio numero di individui positivi e che, presumibilmente, non riesce ad astenersi dal consumare alcol o altre sostanze, neppur per il tempo necessario alla “negativizzazione” dei campioni biologici oggetto di analisi (3-6 mesi nel caso del capello). Tutto ciò quindi può essere indicativo del grado di dipendenza di questi soggetti visto che è in gioco la loro possibilità di avere o riottenere la patente e che il costo degli accertamenti è tutto a carico dell'utente.

#### *4.2.2. Risultati degli accertamenti ai fini degli art. 186, 186-bis e 187 del CdS*

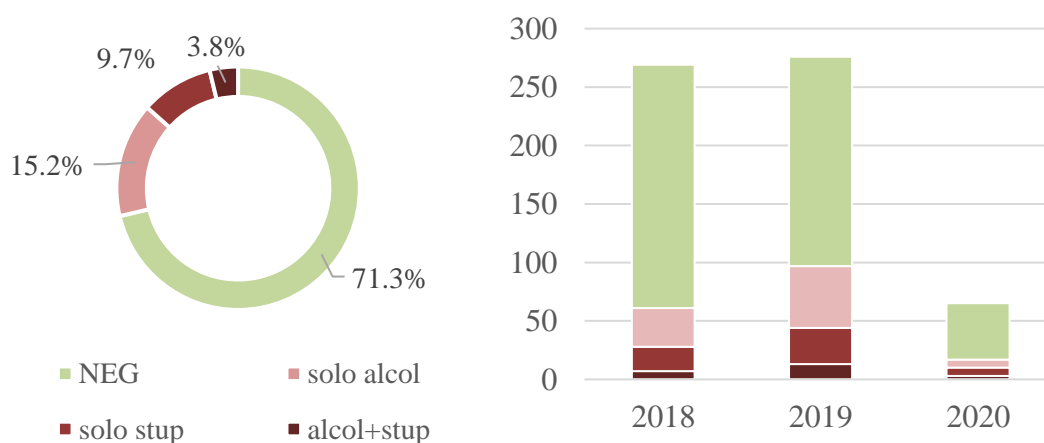
Di altro valore interpretativo sono invece i risultati derivanti dagli accertamenti predisposti dagli organi di PS ai fini degli artt. 186, 186-bis e 187 del CdS e degli artt. 589-bis e 590-bis del CP. In questo caso, infatti, viene richiesta la verifica della cosiddetta “attualità d'uso” di una sostanza (alcol o molecola stupefacente o psicotropa). Per tal motivo, come spiegato in precedenza, la matrice d'elezione per questa tipologia di accertamenti è quella ematica.

Nel corso dello studio, sono pervenute in totale 610 richieste di accertamenti, 56 per la verifica dell'ebbrezza alcolica (9,2%), 18 per l'alterazione psicofisica da assunzione di sostanze stupefacenti (3,0%) e 532 per entrambe le fattispecie (87,2%, figura 10).



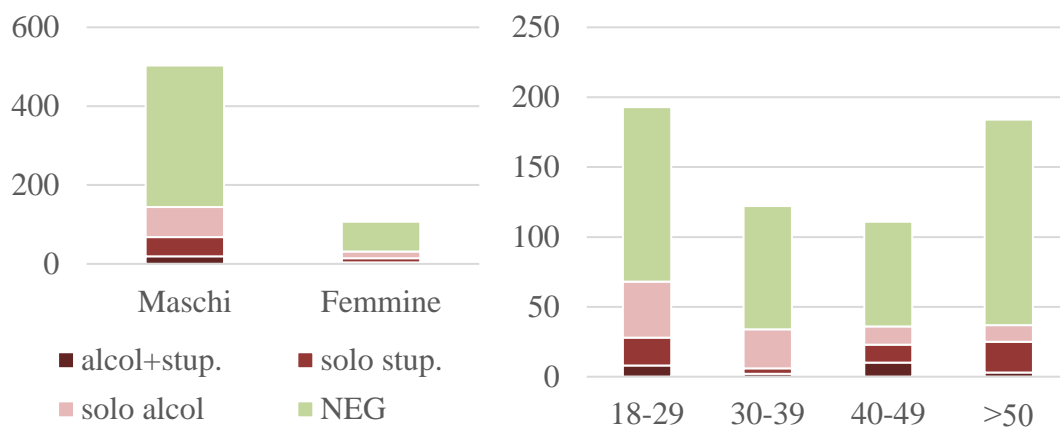
**Figura 18.** Distribuzione degli accertamenti eseguiti sulla base della tipologia di richiesta effettuata dalla PS.

I positivi sono in totale il 28,7%, ovvero poco meno di un soggetto su tre (v. APPENDICE, tabella A15). Il 15,2% degli analizzati ha consumato alcol (alcolemia >0,5 g/l), il 9,7% almeno una sostanza stupefacente o psicotropa ed il 3,8% una loro associazione (figura 19). Anche se non è possibile trarre conclusioni significative per quel che riguarda il trend nel periodo considerato, è possibile notare un numero di richieste pressoché invariato tra il 2018 ed il 2019 (269 vs 276), mentre si osserva un maggior numero di positività nel 2019 (2018, 22,7%; 2019, 35,1%, 2020, 26,2%).



**Figura 19.** Positività per tipologia di sostanza e loro distribuzione per anno per agli accertamenti su richiesta della PS

Dai dati, si può osservare una sostanziale sovrapposibilità tra la distribuzione dei casi tra i due sessi (figura 20, v. APPENDICE, tabella A16). Per quel che riguarda invece le fasce di età, la più alta percentuale di positivi si è registrata nei soggetti con età inferiore ai 29 anni (35,2%) e con età compresa tra i 40 e i 49 anni (32,4%). Inoltre, proprio in questo range di età si è registrata la più alta incidenza di positivi sia ad alcol che ad almeno una sostanza stupefacente che, in valore assoluto di casi, è di poco inferiore alla somma di quelli registrati in tutte le altre fasce di età: 40-49 anni, 10 casi (9,0%); 18-29 anni, 8 casi (4,1%); 30-39 anni, 2 (1,6%); ≥50 anni, 3 (1,6%, figura 20).

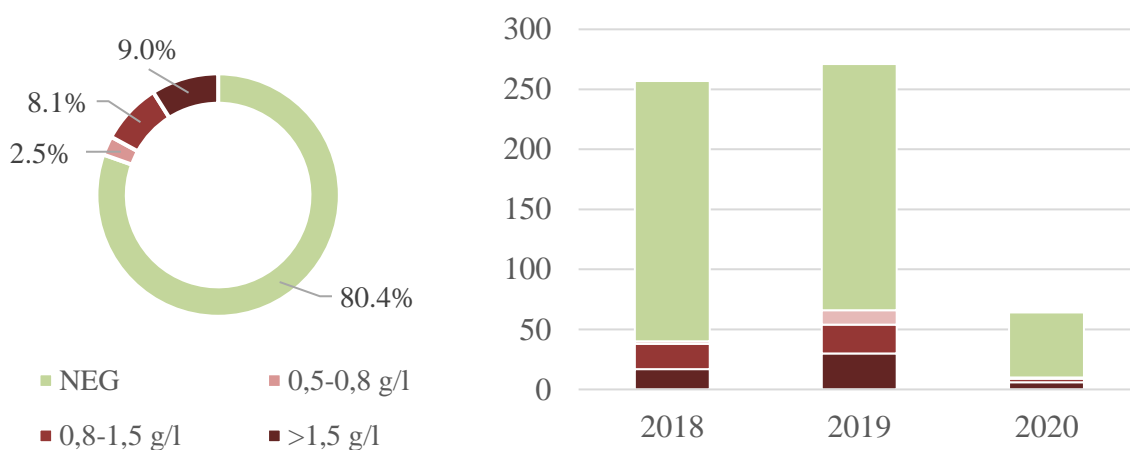


**Figura 20.** Casi di positività registrati per sesso e fasce di età per gli accertamenti su richiesta della PS

L'art. 186 descrive tre differenti range di alcolemia ai quali corrispondono differenti sanzioni, di natura solo amministrativa per concentrazioni comprese tra i 0,5 e 0,8 g/l, anche penali per livelli più elevati. Come si evince dalla figura 21, nel 9,0% dei casi l'alcolemia era superiore ad 1,5 g/l a cui corrisponde la pena massima comminabile. È da evidenziare come la percentuale di positivi nel range di 0,5-0,8 g/l (2,5%), passibile di sola sanzione amministrativa, sia effettivamente più bassa rispetto agli altri limiti descritti dalla legge (v. APPENDICE, tabella A17). Ciò potrebbe essere dovuto al maggior *impairment* alla guida conseguente all'assunzione di elevate dosi di alcol che può portare, con più elevata probabilità, a provocare incidenti stradali. Infatti, gli effetti dell'etanolo sulla guida sono dose correlati, per cui ad elevate dosi assunte corrispondono più gravi deficit che di conseguenza

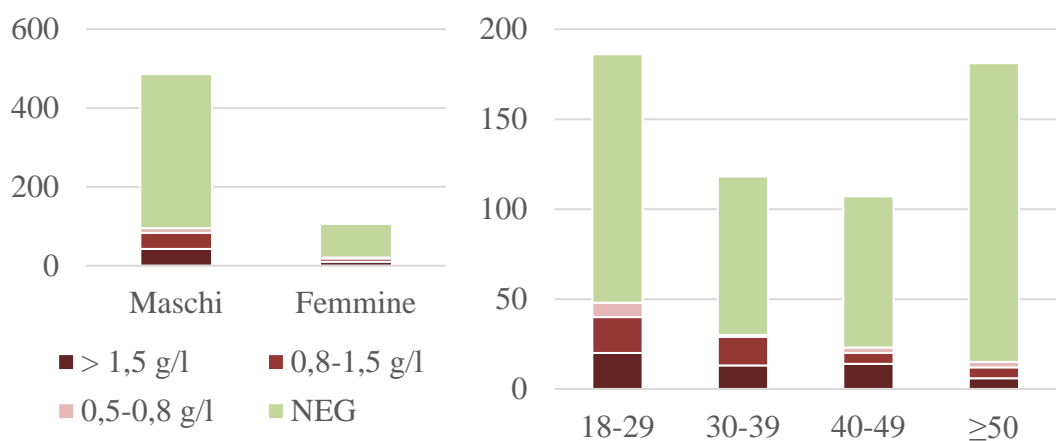
espongono il soggetto assuntore ad un più alto rischio di essere coinvolto in un sinistro e quindi di essere sottoposto a questo tipo di accertamenti.

La maggior percentuale di positivi si osserva nel 2019, con il valore del 24,4% (2018, 15,6%; 2020, 15,5%).



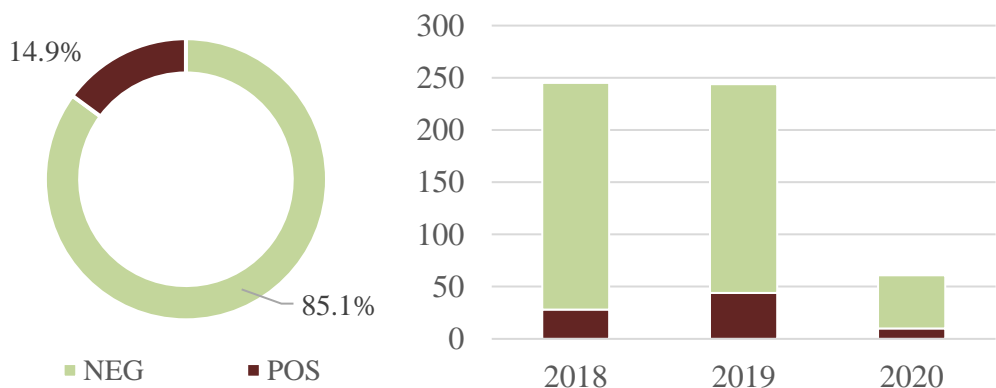
**Figura 21.** Distribuzione dei casi per livelli alcolemici riscontrati e loro distribuzione per anno per agli accertamenti su richiesta della PS

I due sessi presentano una distribuzione comparabile per range alcolemico, con una percentuale con concentrazioni > 1,5 g/l leggermente maggiore nel sesso femminile (9,4% vs 8,8%, figura 22). Tra i 18 e i 49 anni non si rilevano particolari differenze nelle positività (18-29, 25,8%, 30-39, 25,4%; 40-49, 21,5%), mentre sorprende il dato relativo ai soggetti con età  $\geq 50$  anni, dove le positività sono nettamente inferiori e pari all'8,3% (v. APPENDICE, tabella A18).



**Figura 22.** Distribuzione per alcolemia riscontrata per sesso ed età per agli accertamenti su richiesta della PS

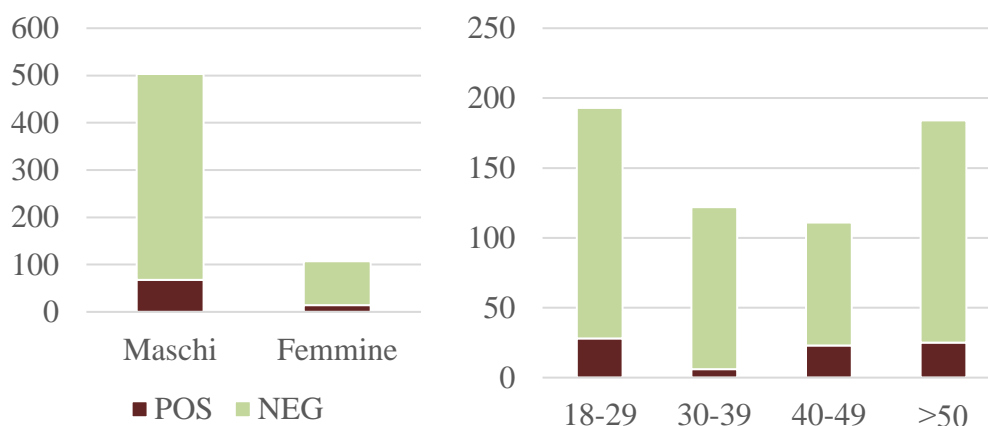
Il numero di soggetti positivi ad almeno una sostanza stupefacente o psicotropa è di 82, pari al 14,9% (figura 23, v. APPENDICE, tabella A19). Il trend annuo vede il minimo delle positività riscontrate nel 2018 (11,4%; 2019, 18,0%; 2020, 16,4%).



**Figura 23.** Casi di positività agli accertamenti ai fini dell'art. 187 del CdS e loro distribuzione annua



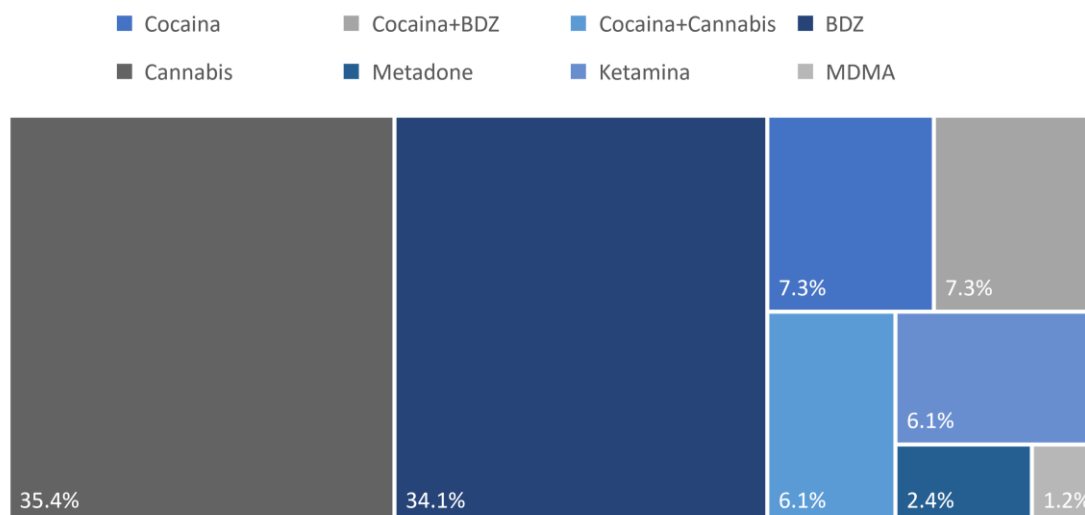
Percentuali di positivi del tutto sovrapponibili sono osservabili tra i due sessi (POS: maschi, 14,8%; femmine, 14,9%; figura 24). Il picco di positività si ha tra i 40-49 anni (23,2%), mentre il valore minimo è tra i 30-39 anni (5,3%, figura 24, v. APPENDICE, tabella A20).



**Figura 24.** Casi di positività alle sostanze stupefacenti o psicotrope e loro distribuzione per sesso e fasce di età per gli accertamenti su richiesta della PS

A differenza di quanto osservato per gli accertamenti ai fini dell'art. 119 del CdS, è il THC e non la cocaina la sostanza stupefacente maggiormente rilevata (v. APPENDICE, tabella A21). Infatti i casi di positività a questa molecola contano per il 41,5% (35,4% da sola; 6,1% in associazione con la cocaina, figura 25). Tale prevalenza è concorde con i dati derivanti dal progetto europeo DRUID [38], dai cui risultati emerge che la Cannabis è la sostanza più rilevata nella totalità della popolazione dotata di patente di guida con (1,32%). Come ci si aspettava, la Cannabis è maggiormente consumata nei giovani, con il 62,1% delle positività riscontrate nei soggetti di età inferiore ai 29 anni. La cocaina risulta essere il secondo stupefacente per numero di rilevazioni pari al 20,7% (7,3% da sola e al 13,4% in associazione con altre sostanze). Tuttavia, un dato interessante e preoccupante è l'elevata rilevazione di molecole della classe delle BDZ, che sono state riscontrate nel 41,4% dei casi (34,1% da sola; 7,3% in associazione con la cocaina). Queste sostanze sono degli ansiolitici con diversi profili farmacologici che possono provocare seri gradi di *impairment* alla guida [39]. La maggior incidenza di queste sostanze (da sole o in associazione) è tra i soggetti di sesso femminile (75,0% delle

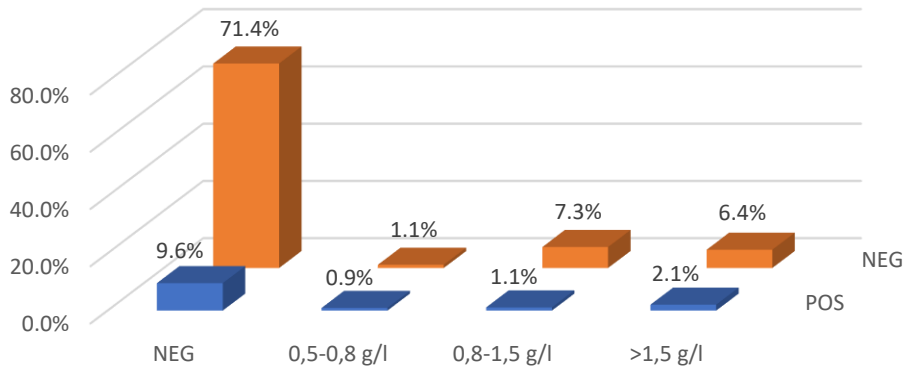
positività) e con età  $\geq 50$  (l'81,0% di questi soggetti è risultato assuntore di almeno un composto benzodiazepinico, v. APPENDICE, tabella A22). Le principali sostanze riscontrate sono il lorazepam, l'alprazolam ed il diazepam. Ovviamente, sono state escluse dal conteggio le positività dovute alla somministrazione di questi farmaci in sede di trattamento del soggetto in PS. Preoccupa l'elevato riscontro dell'associazione delle BDZ con la cocaina in quanto può portare anche ad esiti fatali. Tale pratica di poli-assunzione è ben nota ai tossicologi forensi in quanto le BDZ vengono ampiamente utilizzate per ridurre l'effetto eccitatorio della cocaina e la conseguente insonnia. Esiste un solo caso osservato di assunzione di MDMA, in un maschio di 48 anni.



**Figura 25.** Sostanze rilevate durante gli accertamenti disposti dalla PS

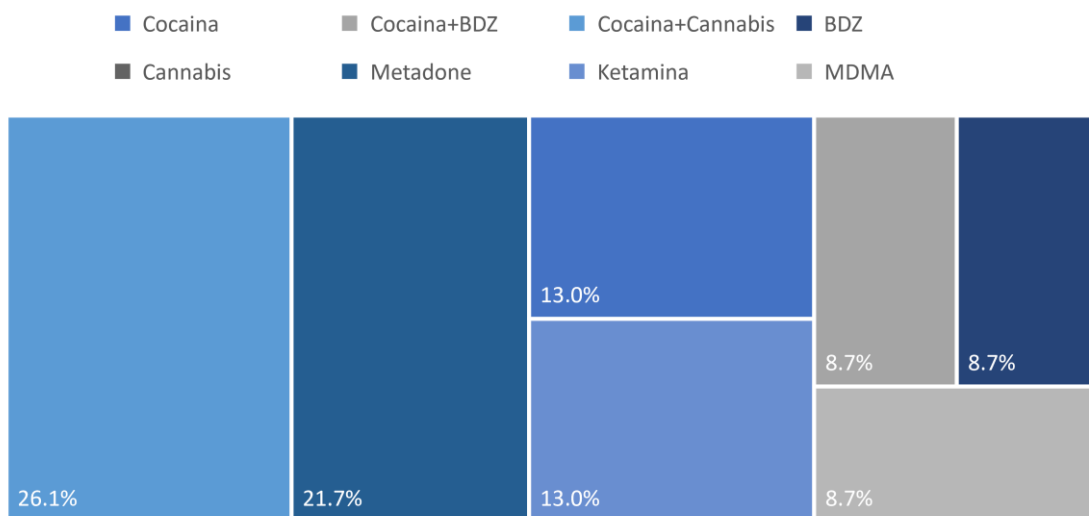
Incrociando i dati delle alcolemie con quello delle positività alle sostanze psicoattive o psicotrope è possibile osservare che il 71,4% dei soggetti sottoposti agli accertamenti ai fini degli artt. 186 e 187 del CdS sono risultati del tutto negativi (v. APPENDICE, tabella A23). I casi di positività sono invece così distribuiti: il 14,8% al solo alcol; il 9,6% ad almeno una sostanza stupefacente o psicoattiva; il 4,1% ad entrambe le fattispecie di analisi (figura 26). Anche in questo caso si può evidenziare un

maggior numero di positivi con alcolemia > 1,5 g/l rispetto agli altri livelli alcolemici (0,5-0,8 g/l, 0,9%; 0,8-1,5 g/l, 1,1%; > 1,5 g/l, 2,1%) che da soli rappresentano il 51,2% delle positività.



**Figura 26.** Alcolemia vs positività almeno una sostanza psicoattiva per accertamenti disposti dalla PS

Anche in questi casi, la Cannabis è la principale sostanza stupefacente rilevata (13,0% da sola, 13,0% in associazione alla cocaina, v. APPENDICE, tabella A24), ma aumentano in percentuale i casi di assunzione di metadone (21,7%). Le BDZ risultano essere le molecole più riscontrate (26,1% da sole, 8,7% in associazione con la cocaina).



**Figura 27.** Sostanze rilevate in associazione ad alcolemia positiva durante gli accertamenti disposti dalla PS

## 5. CONCLUSIONI

Tema centrale del mio progetto di ricerca è quello della sicurezza stradale ed in particolare il suo legame con l'uso/abuso di sostanze e quindi la Tossicologia Forense. A tale scopo sono stati presi in considerazione tre distinti protocolli di gestione degli accertamenti ai fini degli artt. 119, 186, 186-bis e 187 del CdS e degli artt. 589-bis e 590-bis del CP, instaurati dalla Struttura di Tossicologia Forense dell'Università degli Studi di Firenze e l'AOU-Careggi con due CML del territorio toscano e gli organi di PS. L'implementazione di questi protocolli mi ha permesso di ottenere piena consapevolezza di tutti quegli aspetti che sono alla base della loro validità sia analitica, ma soprattutto forense. Infatti va ricordato che gli accertamenti in capo ai protocolli hanno una ricaduta legale, ovvero i risultati emergenti sono utilizzati dagli enti preposti al fine di giungere ad un verdetto di conseguimento o meno della patente di guida per l'art. 119, oppure di assoluzione o di condanna a sanzioni amministrative e/o penali per gli artt. 186, 186-bis e 187. Proprio per questo motivo, i protocolli devono possedere una serie di requisiti necessari ed inderogabili. La scelta dell'opportuna matrice è tra gli aspetti più importanti da tener conto in quanto ogni campione biologico può fornire diversi elementi utili ai fini interpretativi. Centrale per questa decisione risulta la finalità dell'accertamento. Nel caso di valutazione di uso/abuso pregresso (art. 119) deve essere privilegiata la matrice cheratinica (capelli e con opportune limitazioni il pilizio); l'urina può essere una alternativa solo con prelievi effettuati a "sorpresa" e ripetuti nel tempo. Qualora invece debba essere valutata la cosiddetta "attualità d'suo" è necessario ricorrere alla matrice ematica o, eventualmente, a quella salivare. Come visto, anche il prelievo deve rispondere a specifiche stringenti onde evitare gravi ripercussioni sull'esito delle indagini. La catena di custodia, e la relativa documentazione, giocano un ruolo determinante nell'allestimento di un protocollo efficace e di qualità. Oltre a ciò, per effetto delle analisi effettuate in ottemperanza ai protocolli studiati, mi è stato possibile stimare il fenomeno della guida in stato di alterazione da sostanze, seppur limitatamente al territorio fiorentino. In

particolare, gli accertamenti ai fini degli artt. 186, 186-bis e 187 del CdS, permettono di avere una misurazione diretta del fenomeno basata su evidenze scientifiche. In questo modo è stato possibile osservare come quasi un soggetto su tre (28,7%) è risultato positivo, ovvero si era posto alla guida di un veicolo dopo aver assunto alcol o sostanze stupefacenti o psicotrope ed era rimasto poi coinvolto in un sinistro. Mi preme ribadire che questo dato è reale ed è basato su indagini caratterizzate da elevata qualità e specificità, nonché valutate da professionisti pienamente preparati su questo tipo di analisi. Dallo studio è emerso che le sostanze più presenti, in caso di incidente stradale con necessità di cure mediche, non sono i “classici” stupefacenti quali la Cannabis (33,3%) o la cocaina (23,5%), ma le BDZ (41,4%), una classe di farmaci ampiamente prescritta per il trattamento dell’insonnia, dell’ansia e della depressione. Tale evidenza potrebbe fare da base ad un’attenta riflessione sull’impiego di questi farmaci e le eventuali limitazioni per i guidatori. Gli accertamenti eseguiti ai fini dell’art. 119 del CdS, seppur non abili alla misura diretta del DUID, possono comunque permettere una stima del consumo di sostanze e soprattutto della dipendenza dei soggetti ad essi sottoposti.

I principi cardine individuati in questo lavoro possono essere alla base di protocolli accertativi futuri caratterizzati da una condivisione più ampia, anche nazionale, e non limitati quindi alle singole realtà territoriali (CML, aziende ospedaliere, Strutture di Tossicologia Forense). In questo modo verrebbero superate quelle differenze procedurali (es. scelta delle sostanze e dei marker, delle matrici e delle loro caratteristiche) che generano inevitabilmente delle discriminazioni, pervenendo quindi ad una armonizzazione ed una uniformità delle varie procedure. A mio avviso, tali aspetti risultano essere essenziali per l’implementazione di strategie e di strumenti efficaci per la rilevazione ed il contrasto al DUID, insieme all’adozione di un approccio scientifico, quello proprio della Tossicologia Forense.

## APPENDICE

**Tabella A1.** Molecole antidepressive/ansiolitiche rilevate e loro transizioni MRM (quantificatore in grassetto).

Molecola	Categoria Farmacologica	Transizioni (m/z)
7-aminonitrazepam	Metabolita nitrazepam (BDZ)	252: <b>121</b> , 208
Alprazolam	BDZ	309: <b>281</b> , 205
<i>α-idrossialprazolam</i>	<i>metabolita</i>	325→ <b>297</b> , 216
Amitriptilina	Antidepressivo triciclico	278→ <b>91</b> , 105
Bromazepam	BDZ	316→ <b>182</b> , 209
Brotizolam	BDZ	393→ <b>314</b> , 279
Clonazepam	BDZ	316→ <b>270</b> , 214
<i>7-aminoclonazepam</i>		286→ <b>121</b> , 222
Clordiazepossido	BDZ	300→ <b>283</b> , 282
Delorazepam	BDZ	305→ <b>140</b> , 165
Diazepam	BDZ	285→ <b>154</b> , 193
Duloxetina	Antidepressivo – SSRI	298→ <b>154</b> , 157
Escitalopram	Antidepressivo – SSRI	325→ <b>109</b> , 262
Flunitrazepam	BDZ	314→ <b>268</b> , 239
<i>3-idrossiflunitrazepam</i>	<i>metabolita</i>	330→ <b>284</b> , 312
<i>7-aminoflunitrazepam</i>	<i>metabolita</i>	284→ <b>135</b> , 227
Fluoxetina	Antidepressivo – SNRI	310→ <b>148</b> , 117
Flurazepam	BDZ	388→ <b>315</b> , 317
Halazepam (SI)	BDZ	353→ <b>241</b> , 222
Levomepromazina	Neurolettico fenotiazinico	329→ <b>148</b> , 130
Lorazepam	BDZ – metabolita attivo	321→ <b>275</b> , 303
Lormetazepam	BDZ	335→ <b>289</b> , 317
Midazolam	BDZ	326→ <b>291</b> , 223
<i>α-idrossimidazolam</i>	<i>metabolita</i>	342→ <b>168</b> , 203
Mirtazapina	Antidepressivo NaSSA	266→ <b>195</b> , 72
Nordiazepam	BDZ – metabolita attivo	271→ <b>140</b> , 165
Oxazepam	BDZ – metabolita attivo	287→ <b>241</b> , 269
Oxcarbazepina	Antiepilettico/anticonvulsivante	253→ <b>236</b> , 208
Paroxetina	Antidepressivo - SSRI	330→ <b>70</b> , 192
Pinazepam	BDZ	309→ <b>241</b> , 269
Prazepam	BDZ	325→ <b>271</b> , 140
Promazina	Neurolettico fenotiazinico	285→ <b>86</b> , 58
Quetiapina	Antipsicotici atipici	384→ <b>253</b> , 221
Temazepam	BDZ – metabolita attivo	301→ <b>255</b> , 283
Trazodone	Antidepressivo piperazinico	372→ <b>176</b> , 148
Triazolam	BDZ	343→ <b>308</b> , 315
Zolpidem	Sedativo/ipnotico	308→ <b>235</b> , 236
Zopiclone	Sedativo/ipnotico	389→ <b>245</b> , 217

**Tabella A2.** NSP rilevabili e loro transizioni MRM (quantificatore in grassetto).

Molecola	Classe	Transizioni (m/z)	Molecola	Classe	Transizioni (m/z)
1-Nafirone	Cat. Sint.	282→ <b>126</b> , 141	JWH-073	Cann. Sint.	328→ <b>155</b> , 127
25D-NBOMe	Fenciclidina	316→ <b>121</b> , 91	JWH-081	Cann. Sint.	372→ <b>185</b> , 157
25H-NBOMe	Fenciclidina	302→ <b>121</b> , 91	JWH-098	Cann. Sint.	386→ <b>185</b> , 157
2-AI	Indano	134→ <b>117</b> , 115	JWH-122	Cann. Sint.	356→ <b>169</b> , 141
2C-E	Fenciclidina	210→ <b>193</b> , 178	JWH-147	Cann. Sint.	382→ <b>155</b> , 127
2C-N	Fenciclidina	227→ <b>210</b> , 151	JWH-200	Cann. Sint.	385→ <b>155</b> , 114
2-Fluorometcatinone	Cat. Sint.	182→ <b>164</b> , 149	JWH-203	Cann. Sint.	340→ <b>125</b> , 238
3.4-DMMC	Cat. Sint.	192→ <b>174</b> , 159	JWH-210	Cann. Sint.	370→ <b>183</b> , 155
3-MeO-PCP	Fenciclidina	274→ <b>86</b> , 121	JWH-210-d9 (SI)	Cann. Sint.	379→ <b>183</b> , 155
3-MMC	Cat. Sint.	178→ <b>160</b> , 145	JWH-250	Cann. Sint.	336→ <b>121</b> , 91
4-FA	Fenetilamina	154→ <b>109</b> , 137	JWH-251	Cann. Sint.	320→ <b>105</b> , 144
4-Fluoromecatinone	Cat. Sint.	182→ <b>164</b> , 149	JWH-302	Cann. Sint.	336→ <b>121</b> , 214
4-MeO-PCP	Fenciclidina	274→ <b>189</b> , 121	JWH-307	Cann. Sint.	386→ <b>155</b> , 127
4-Metiletcatinone	Cat. Sint.	192→ <b>174</b> , 144	JWH-398	Cann. Sint.	376→ <b>189</b> , 161
4-OH-DiPT	Triptamina	261→ <b>160</b> , 114	Ketamine <i>Nor-ketamina</i>	Fenciclidina <i>metabolita</i>	238→ <b>125</b> , 179 224→ <b>125</b> , 207
5F-APINACA	Cann. Sint.	384→ <b>135</b> , 93	<i>m</i> -CPP	Piperazina	197→ <b>154</b> , 118
5-IAI	Indano	260→ <b>116</b> , 243	MDA	Amfetamina	180→ <b>163</b> , 105
5-MeO-DiPT	Triptamina	275→ <b>114</b> , 174	MDAI	indano	178→ <b>103</b> , 161
AB-FUBINACA	Cann. Sint.	369→ <b>324</b> , 109	MDEA	Amfetamina	208→ <b>163</b> , 105
ADB-PINACA	Cann. Sint.	345→ <b>215</b> , 300	MDMA	Amfetamina	194→ <b>105</b> , 163
AM-2201	Cann. Sint.	360→ <b>155</b> , 127	MDPV	Cat. Sint.	276→ <b>126</b> , 135
AM-2233	Cann. Sint.	459→ <b>98</b> , 112	Mefedrone	Cat. Sint.	178→ <b>145</b> , 160
AM-694	Cann. Sint.	436→ <b>190</b> , 272	Mefedrone-d3 (SI)	Cat. Sint.	181→ <b>148</b> , 163
Amfetamina	Amfetamina	136→ <b>91</b> , 119	Metamfetamina	Amfetamina	150→ <b>91</b> , 119
Bufedrone	Cat. Sint.	178→ <b>160</b> , 131	Metcatinone	Cat. Sint.	164→ <b>146</b> , 131
Butilone	Cat. Sint.	222→ <b>174</b> , 204	Metedrone	Cat. Sint.	194→ <b>176</b> , 161
BZP	piperazina	177→ <b>91</b> , 65	Metoxetamina	Fenciclidina	248→ <b>203</b> , 121
CB-13	Cann. Sint.	369→ <b>155</b> , 127	Metilone	Cat. Sint.	208→ <b>160</b> , 132
Dimetilcatinone	Cat. Sint.	178→ <b>105</b> , 133	Nafirone	Cat. Sint.	282→ <b>141</b> , 211
Etcatinone	Cat. Sint.	178→ <b>160</b> , 132	Pentedrone	Cat. Sint.	192→ <b>174</b> , 132
Etilone	Cat. Sint.	222→ <b>174</b> , 204	Pentilone	Cat. Sint.	236→ <b>188</b> , 218
JWH-007	Cann. Sint.	356→ <b>155</b> , 127	Pravadolina	Cann. Sint.	379→ <b>135</b> , 114
JWH-016	Cann. Sint.	342→ <b>155</b> , 127	RCS-4	Cann. Sint.	322→ <b>135</b> , 77
JWH-018	Cann. Sint.	342→ <b>155</b> , 127	RCS-8	Cann. Sint.	376→ <b>121</b> , 91
JWH-019	Cann. Sint.	356→ <b>155</b> , 127	WIN 55,212-2	Cann. Sint.	427→ <b>155</b> , 127

**Tabella A3.** Numero di analisi effettuate per la CML #1 e positività riscontrate.

	2018	2019	2020	Totale
<b>Negativi</b>	585 (86,7%)	475 (85,3%)	188 (88,3%)	1248 (86,7%)
<b>Positivi</b>	90 (13,3%)	82 (14,7%)	25 (11,7%)	197 (13,6%)
<b>Casi totali</b>	675	557	213	1445

**Tabella A4.** Sostanze stupefacenti rilevate durante gli accertamenti predisposti dalla CML #1.

	2018	2019	2020	Totali
<b>Cocaina</b>	85 (94,4%)*	72 (87,8%)	25 (100,0%)	182 (92,4%)
<b>Ketamina</b>	2 (2,2%)	1 (1,2%)	-	3 (1,5%)
<b>Cannabis</b>	-	1 (1,2%)	-	1 (0,5%)
<b>Metadone</b>	2 (2,2%)	5 (6,1%)	-	7 (3,6%)
<b>Cocaina+ketamina</b>	-	1 (1,2%)	-	1 (0,5%)
<b>Cocaina+Cannabis</b>	1 (1,1%)	1 (1,2%)	-	2 (1,0%)
<b>Cocaina+metadone</b>	-	1 (1,2%)	-	1 (0,5%)

\*Percentuale rispetto alla totalità dei casi positivi.



**Tabella A5.** Distribuzione in base al sesso ed alle fasce di età dei risultati degli accertamenti eseguiti per la CML #1.

	Sesso		Fasce di età			
	Maschi	Femmine	18-29 anni	30-39 anni	40-49 anni	≥50 anni
<b>Negativi</b>	1110 (86,3%)	138 (86,8%)	311 (82,7%)	265 (83,1%)	268 (86,2%)	404 (91,8%)
<b>Positivi</b>	176 (13,7%)	21 (13,2%)	65 (17,3%)	54 (16,9%)	43 (13,8%)	35 (8,2%)
<b>Totale</b>	1286 (89,0%)*	159 (11,0%)	376 (26,0%)	319 (22,1%)	311 (21,5%)	439 (30,4%)

\* Percentuale relativa rispetto al numero totale di casi.

**Tabella A6.** Distribuzione delle sostanze stupefacenti rilevate in base al sesso ed alle fasce

	Sesso		Fasce di età			
	Maschi	Femmine	18-29 anni	30-39 anni	40-49 anni	≥50 anni
<b>Cocaina</b>	162 (92,0%)*	20 (95,2%)	62 (34,1%)+	49 (26,9%)	38 (20,9%)	33 (18,1%)
<b>Ketamina</b>	3 (1,7%)	-	1 (33,3%)	2 (66,7%)	-	-
<b>Cannabis</b>	1 (0,6%)	-	1 (100,0%)	-	-	-
<b>Metadone</b>	6 (3,4%)	1 (4,8%)	-	-	5 (71,4%)	2 (28,6%)
<b>Cocaina+ ketamina</b>	1 (0,6%)	-	-	1 (100,0%)	-	-
<b>Cocaina+ Cannabis</b>	2 (1,1%)	-	1 (50,0%)	1 (50,0%)	-	-
<b>Cocaina+ metadone</b>	1 (0,6%)	-	-	1 (100,0%)	-	-

\*Percentuali relative alle positività totali per sesso

+Percentuali relative alle positività totali per quella sostanza

**Tabella A7.** Numero di analisi effettuate per la CML #2 e relative positività riscontrate.

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totale</b>
<b>Negativi</b>	306 (86,7%)	309 (85,8%)	119 (86,9%)	734 (86,4%)
<b>Alcol</b>	19 (5,4%)	12 (3,3%)	9 (6,6%)	40 (4,7%)
<b>Positivi</b> <b>Stupefacenti</b>	28 (7,9%)	38 (10,6%)	9 (6,6%)	75 (8,8%)
<b>Entrambe</b>	-	1 (0,3%)	-	1 (0,1%)
<b>Casi totali</b>	353	360	137	850

**Tabella A8.** Distribuzione in base al sesso ed alle fasce di età dei risultati degli accertamenti eseguiti per la CML #2.

	<b>Negativi</b>	<b>Positivi</b>			<b>Totale</b>
		<b>Alcol</b>	<b>Stupefacenti</b>	<b>Entrambi</b>	
<b>Maschi</b>	658 (85,3%)	38 (4,9%)	74 (9,6%)	1 (0,1%)	771 (90,7%)*
<b>Femmine</b>	76 (96,2%)	2 (2,5%)	1 (1,3%)	-	79 (9,3%)
<b>18-29 anni</b>	174 (91,6%)	2 (1,1%)	14 (7,4%)	-	190 (22,4%)
<b>30-39 anni</b>	212 (86,9%)	9 (3,7%)	23 (9,4%)	-	244 (28,7%)
<b>40-49 anni</b>	190 (79,2%)	19 (7,9%)	31 (12,9%)	-	240 (28,2%)
<b>≥50</b>	158 (89,8%)	10 (5,7%)	7 (4,0%)	1 (0,6%)	176 (20,7%)

\*Percentuale rispetto al numero totale di casi.

**Tabella A9.** Stima del consumo alcolico basato sulla quantizzazione dell'EtG (CML #2).

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totale</b>
<b>Astinenza</b>	252 (80,3%)	273 (85,8%)	105 (83,3%)	630 (83,1%)
<b>Ripetuto</b>	43 (13,7%)	32 (10,1%)	12 (9,5%)	87 (11,5%)
<b>Cronico eccessivo</b>	19 (6,1%)	13 (4,1%)	9 (7,1%)	41 (5,4%)
<b>Casi totali</b>	314 (89,0%)*	318 (88,3%)	126 (92,0%)	758 (89,2%)

\*Percentuale dei casi in cui è stata richiesta la quantizzazione dell'EtG rispetto al totale.

**Tabella A10.** Tipologie di consumo di alcol riscontrate e distribuzione in base al sesso ed all'età.

	<b>Astinenza</b>	<b>Ripetuto</b>	<b>Cronico eccessivo</b>	<b>Totale</b>
<b>Maschi</b>	560 (82,1%)	83 (12,2%)	39 (5,7%)	682 (90,0%)*
<b>Femmine</b>	70 (92,1%)	4 (5,3%)	2 (2,6%)	76 (10,0%)
<b>18-29 anni</b>	141 (86,5%)	20 (12,3%)	2 (1,2%)	163 (21,5%)
<b>30-39 anni</b>	186 (84,9%)	24 (11,0%)	9 (4,1%)	219 (28,9%)
<b>40-49 anni</b>	167 (78,8%)	26 (12,3%)	19 (9,0%)	212 (28,0%)
<b>≥50</b>	136 (82,9%)	17 (10,4%)	11 (6,7%)	164 (21,6%)

\*Percentuale relativa al totale degli individui sottoposti alla quantizzazione dell'EtG.

**Tabella A11.** Numero di soggetti sottoposti a rilevazione di uso pregresso di sostanze stupefacenti (CML #2)

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totale</b>
<b>Negativi</b>	97 (77,6%)	110 (73,8%)	36 (80,0%)	243 (76,2%)
<b>Positivi</b>	28 (22,4%)	39 (26,2%)	9 (20,0%)	76 (23,8%)
<b>Casi totali</b>	125 (35,4%)*	149 (41,4%)	45 (32,8%)	319 (37,5%)

\*Percentuale dei casi in cui è stata richiesta la rilevazione delle sostanze stupefacenti rispetto al totale.

**Tabella A12.** Distribuzione dei casi e delle positività a sostanze stupefacenti in base al sesso ed all'età (CML #2)

	<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Totale</b>
<b>Maschi</b>	231 (75,5%)	75 (24,5%)	306 (95,9%)
<b>Femmine</b>	12 (92,3%)	1 (7,7%)	13 (4,1%)
<b>18-29 anni</b>	64 (82,1%)	14 (17,9%)	78 (24,5%)
<b>30-39 anni</b>	74 (76,3%)	23 (23,7%)	97 (30,4%)
<b>40-49 anni</b>	73 (70,2%)	31 (29,8%)	104 (32,6%)
<b>≥50</b>	32 (80,0%)	8 (20,0%)	40 (12,5%)

\*Percentuale relativa al totale degli individui sottoposti alla rilevazione delle sostanze stupefacenti.

**Tabella A13.** Sostanze stupefacenti rilevate durante gli accertamenti predisposti dalla CML #2.

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totali</b>
<b>Cocaina</b>	27 (96,4%)	26 (66,7%)	8 (88,9%)	61 (80,3%)
<b>Ketamina</b>	1 (3,6%)	6 (15,4%)	-	7 (9,2%)
<b>Cannabis</b>	-	2 (5,1%)	-	2 (2,6%)
<b>Metadone</b>	-	1 (2,6%)	-	1 (1,3%)
<b>Cocaina+ketamina</b>	-	3 (7,7%)	-	3 (3,9%)
<b>Cocaina+Cannabis</b>	-	1 (2,6%)	1 (11,1%)	2 (2,6%)

**Tabella A14.** Consumo di alcol vs consumo di almeno una sostanza stupefacente (CML #2)

	<b>Astinenza</b>	<b>Ripetuto</b>	<b>Cronico eccessivo</b>
<b>Negativi</b>	149 (65,6%)	21 (9,3%)	6 (2,6%)
<b>Positivi</b>	41 (18,1%)	9 (4,0%)	1 (0,4%)

**Tabella A15.** Numero di analisi effettuate su richiesta degli organi di PS e relative positività riscontrate.

	2018	2019	2020	Totale
<b>Negativi</b>	208 (77,3%)	179 (64,9%)	48 (73,8%)	435 (71,3%)
<b>Alcol</b>	33 (12,3%)	53 (19,2%)	7 (10,8%)	93 (15,2%)
<b>Positivi</b> <b>Stupefacenti</b>	21 (7,8%)	31 (11,2%)	7 (10,8%)	59 (9,7%)
<b>Entrambe</b>	7 (2,6%)	13 (4,7%)	3 (4,6%)	23 (3,8%)
<b>Casi totali</b>	269	276	65	610

**Tabella A16.** Distribuzione dei casi e delle positività a sostanze stupefacenti in base al sesso ed all'età.

	Negativi	Positivi			Totale
		Alcol	Stupefacenti	Entrambi	
<b>Maschi</b>	359 (71,4%)	76 (15,1%)	49 (9,7%)	19 (3,8%)	503 (82,5%)*
<b>Femmine</b>	76 (71,0%)	17 (15,9%)	10 (9,3%)	4 (3,7%)	107 (17,5%)
<b>18-29 anni</b>	125 (64,8%)	40 (20,7%)	20 (10,4%)	8 (4,1%)	193 (31,6%)
<b>30-39 anni</b>	88 (72,1%)	28 (23,0%)	4 (3,3%)	2 (1,6%)	122 (20,2%)
<b>40-49 anni</b>	75 (67,6%)	13 (11,7%)	13 (11,7%)	10 (9,0%)	111 (18,2%)
<b>≥50</b>	147 (79,9%)	12 (6,5%)	22 (12,0%)	3 (1,6%)	184 (30,2%)

\* Percentuale relativa al numero totale di casi.

**Tabella A17.** Distribuzione per livelli di alcolemia riscontrati nei soggetti sottoposti ad accertamento ai fini degli artt. 186 e 186-bis del CdS.

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totale</b>
<b>Negativi</b>	229 (84,4%)	210 (75,6%)	55 (84,5%)	494 (80,4%)
<b>0,5-0,8 g/l</b>	2 (0,8%)	12 (4,4%)	1 (1,6%)	15 (2,5%)
<b>0,8-1,5 g/l</b>	21 (8,2%)	24 (8,9%)	3 (4,7%)	48 (8,1%)
<b>&gt; 1,5 g/l</b>	17 (6,6%)	30 (11,1%)	6 (9,4%)	53 (9,0%)
<b>Casi totali</b>	257 (95,5%)*	271 (98,2%)	64 (98,5%)	592 (97,0%)

\*Percentuale dei casi in cui è stata richiesta la determinazione dell'alcolemia

**Tabella A18.** Distribuzione dei livelli alcolemici riscontrati in base al sesso ed all'età.

	<b>Negativi</b>	<b>0,5-0,8 g/l</b>	<b>0,8-1,5 g/l</b>	<b>&gt; 1,5 g/l</b>	<b>Totale</b>
<b>Maschi</b>	391 (80,5%)	12 (2,5%)	40 (8,2%)	43 (8,8%)	486 (82,1%)*
<b>Femmine</b>	85 (80,2%)	3 (2,8%)	8 (7,5%)	10 (9,4%)	106 (17,9%)
<b>18-29 anni</b>	138 (74,2%)	8 (4,3%)	20 (10,8%)	20 (10,8%)	186 (31,4%)
<b>30-39 anni</b>	88 (74,6%)	1 (0,8%)	16 (13,6%)	13 (11,0%)	118 (19,9%)
<b>40-49 anni</b>	84 (78,5%)	3 (2,8%)	6 (5,6%)	14 (13,1%)	107 (18,1%)
<b>≥50</b>	166 (91,7%)	3 (1,7%)	6 (3,3%)	6 (3,3%)	181 (30,6%)

\*Percentuale relativa al totale degli individui sottoposti alla quantizzazione dell'EtG.

**Tabella A19.** Numero di soggetti sottoposti agli accertamenti ai fini dell'art. 187 del CdS e relative positività.

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totale</b>
<b>Negativi</b>	217 (88,6%)	200 (82,0%)	51 (83,6%)	472 (85,1%)
<b>Positivi</b>	28 (11,4%)	44 (18,0%)	10 (16,4%)	82 (14,9%)
<b>Casi totali</b>	245 (91,1%)*	244 (88,4%)	61 (93,8%)	554 (90,2%)

\*Percentuale dei casi in cui è stato richiesto l'accertamento rispetto alla totalità.

**Tabella A20.** Distribuzione dei casi e delle positività a sostanze stupefacenti in base al sesso ed all'età per i soggetti sottoposti agli accertamenti ai fini dell'art. 187 del CdS.

	<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Totale</b>
<b>Maschi</b>	392 (85,2%)	68 (14,8%)	460 (83,0%)*
<b>Femmine</b>	80 (85,1%)	14 (14,9%)	94 (17,0%)
<b>18-29 anni</b>	145 (83,8%)	28 (16,2%)	173 (31,2%)
<b>30-39 anni</b>	107 (94,7%)	6 (5,3%)	113 (20,4%)
<b>40-49 anni</b>	76 (76,8%)	23 (23,2%)	99 (17,9%)
<b>≥50</b>	144 (85,2%)	25 (14,8%)	169 (30,5%)

\*Percentuale relativa alla totalità degli individui sottoposti all'accertamento.



**Tabella A21.** Sostanze rilevate durante gli accertamenti ai fini dell'art. 187 del CdS.

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totali</b>
<b>Cocaina</b>	2 (7,1%)	3 (6,8%)	1 (10,0%)	6 (7,3%)
<b>Ketamina</b>	-	3 (6,8%)	2 (20,0%)	5 (6,1%)
<b>Cannabis</b>	10 (35,7%)	16 (36,4%)	3 (30,0%)	29 (35,4%)
<b>Metadone</b>	-	2 (4,5%)	-	2 (2,4%)
<b>MDMA</b>	-	-	1 (10,0%)	1 (1,2%)
<b>BDZ</b>	10 (35,7%)	15 (34,1%)	3 (30,0%)	28 (34,1%)
<b>Cocaina+BDZ</b>	5 (17,9%)	1 (2,3%)	-	6 (7,3%)
<b>Cocaina+Cannabis</b>	1 (3,6%)	4 (9,1%)	-	5 (6,1%)

**Tabella A22.** Distribuzione delle sostanze stupefacenti rilevate in base al sesso ed alle fasce

	<b>Sesso</b>		<b>Fasce di età</b>			
	<b>Maschi</b>	<b>Femmine</b>	<b>18-29 anni</b>	<b>30-39 anni</b>	<b>40-49 anni</b>	<b>≥50 anni</b>
<b>Cocaina</b>	6 (9,2%)*	-	3 (50,0%)+	-	3 (50,0%)	-
<b>Ketamina</b>	3 (4,6%)	2 (12,5%)	1 (20,0%)	-	2 (40,0%)	2 (20,0%)
<b>Cannabis</b>	28 (43,1%)	1 (6,3%)	18 (62,1%)	2 (6,9%)	6 (20,7%)	3 (10,3%)
<b>Metadone</b>	2 (3,1%)	-	-	-	1 (50,0%)	1 (50,0%)
<b>MDMA</b>	1 (1,5%)	-	-	-	1 (100,0%)	-
<b>BDZ</b>	18 (27,7%)	10 (62,5%)	2 (7,1%)	2 (7,1%)	6 (21,4%)	18 (64,3%)
<b>Cocaina +BDZ</b>	3 (4,6%)	2 (12,5%)	2 (33,3%)	-	2 (33,3%)	1 (16,7%)
<b>Cocaina +Cannabis</b>	4 (6,2%)	1 (6,3%)	2 (40,0%)	1 (20,0%)	2 (40,0%)	-

\*Percentuali relative alle positività totali per sesso

+Percentuali relative alle positività totali per quella sostanza

**Tabella A23.** Livelli alcolemici vs positività ad almeno una sostanza stupefacente o psicotropa.

	<b>Negativi</b>	<b>0,5-0,8 g/l</b>	<b>0,8-1,5 g/l</b>	<b>&gt; 1,5 g/l</b>
<b>Negativi</b>	380 (71,4%)	6 (1,1%)	39 (7,3%)	34 (6,4%)
<b>Positivi</b>	51 (9,6%)	5 (0,9%)	6 (1,1%)	11 (2,1%)

**Tabella A24.** Sostanze stupefacenti e psicotrope rilevate durante gli accertamenti predisposti dagli organi di PS ai fini dell'art. 187 del CdS in soggetti con livelli alcolemici > 0,5 g/l.

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>Totali</b>
<b>Cocaina</b>	1 (14,3%)	1 (7,7%)	1 (33,3%)	3 (13,0%)
<b>Ketamina</b>	-	1 (7,7%)	1 (33,3%)	2 (8,7%)
<b>Cannabis</b>	3 (42,9%)	3 (23,1%)	-	6 (26,1%)
<b>Metadone</b>	-	2 (15,4%)	-	2 (8,7%)
<b>MDMA</b>	-	-	-	-
<b>BDZ</b>	-	4 (30,8%)	1 (33,3%)	5 (21,7%)
<b>Cocaina+BDZ</b>	2 (28,6%)	1 (7,7%)	-	3 (13,0%)
<b>Cocaina+Cannabis</b>	1 (14,3%)	1 (7,7%)	-	2 (8,7%)

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Buratta V. Esame delle proposte di legge recanti “Modifiche al codice della strada”, IX Commissione (Trasporti, poste e telecomunicazioni), Camera dei Deputati, Roma, 12 febbraio 2019.
- [2] ISTAT, Incidenti stradali in Italia, Anno 2019, <https://www.istat.it/it/archivio/245757>
- [3] Associazione Scientifica GTFI. Linee guida per le strutture dotate di laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente. Revisione n. 5 del 29 maggio 2017. [https://www.gtfi.it/wp-content/uploads/2017/06/LG\\_biologico\\_revisione\\_2017\\_29\\_05.pdf](https://www.gtfi.it/wp-content/uploads/2017/06/LG_biologico_revisione_2017_29_05.pdf)
- [4] Wall IF, Karch SB. Traffic Medicine. In: Stark MM, editor. Clinical Forensic Medicine. A Physician’s Guide. London: Humana Press; 2011. p. 423–58.
- [5] Peck RC, Gebers MA, Voas RB, Romano E. The relationship between blood alcohol concentration (BAC), age, and crash risk. *J Safety Res.* 2008;39(3):311–9.
- [6] Alonso F, Pastor JC, Montoro L, Esteban C. Driving under the influence of alcohol: frequency, reasons, perceived risk and punishment. *Subst Abuse Treat Prev Policy.* 2015;10:11. doi: 10.1186/s13011-015-0007-4.
- [7] Chow RM, Marascalchi B, Abrams WB, Peiris NA, Odonkor CA, Cohen SP. Driving Under the Influence of Cannabis: A Framework for Future Policy. *Anesth Analg.* 2019;128(6):1300-1308. doi: 10.1213/ANE.0000000000003575.
- [8] Smiley A. Marijuana: on-road and driving simulator studies. In: Kalant H, Corrigal W, Hall W, Smart, RG, eds. *The Health Effects of Cannabis.* Toronto: Centre for Addiction and Mental Health; 1999:173–191.

- [9] Lenné MG, Dietze PM, Triggs TJ, Walmsley S, Murphy B, Redman JR. The effects of cannabis and alcohol on simulated arterial driving: Influences of driving experience and task demand. *Accid Anal Prev*. 2010;42:859–866.
- [10] Ronen A, Gershon P, Drobiner H, et al. Effects of THC on driving performance, physiological state and subjective feelings relative to alcohol. *Accid Anal Prev*. 2008;40:926–934.
- [11] Ménétrey A, Augsburger M, Favrat B, et al. Assessment of driving capability through the use of clinical and psychomotor tests in relation to blood cannabinoids levels following oral administration of 20 mg dronabinol or of a cannabis decoction made with 20 or 60 mg Delta9-THC. *J Anal Toxicol*. 2005;29:327–338.
- [12] Arroyo A, Sánchez M, Barberia E, Barbal M, Marrón MT, Mora A. Drivers under the influence of drugs of abuse: quantification of cocaine and impaired driving. *Med Leg J*. 2013;81(Pt 3):135-43. doi: 10.1177/0025817213501782.
- [13] Hoppe JW, Karlsgodt KH, Adler CM, et al. Effects of acute cortisol and cocaine administration on attention recall and recognition task performance in individuals with cocaine dependence. *Hum Psychopharmacol* 2004; 19: 511–516.
- [14] Johnson B, Overton D, Wells L, et al. Effects of acute intravenous cocaine on cardiovascular function, human learning and performance in cocaine addicts. *Psychiatry Res* 1998; 77: 35–42.
- [15] Raes E, van den Neste T, Verstraete A, Lopez D, Hughes B, Griffiths P. Drug use, impaired driving and traffic accidents. Luxembourg: European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), 2008.
- [16] Musshoff F, Madea B. Driving under the influence of amphetamine-like drugs. *J Forensic Sci*. 2012;57(2):413-9. doi: 10.1111/j.1556-4029.2012.02055.x.
- [17] Chesher GB. The influence of analgesic drugs in road crashes. *Accid Anal Prev* 1985;17:303–9.
- [18] Walker DJ, Zacny JP. Subjective, psychomotor, and physiological effects of cumulative doses of opioid mu agonists in healthy volunteers. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289:1454–64.

- [19] Walker DJ, Zacny JP, Galva KE, Lichtor JL. Subjective, psychomotor, and physiological effects of cumulative doses of mixed-action opioids in healthy volunteers. *Psychopharmacology* 2001;155:362–71.
- [20] Walker DJ, Zacny JP. Subjective, psychomotor, and analgesic effects of oral codeine and morphine in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 1998;140:191–201.
- [21] Leung SY, BDZs, opioids and driving: An overview of the experimental research. *Drug Alcohol Rev.* 2011;30(3):281-6. doi: 10.1111/j.1465-3362.2011.00311.x.
- [22] Berghaus G, Friedel B. Methadone and Driver Fitness. *Euro-Methwork Newsletter.* 1998 February 1998;13.
- [23] Byas-SmithMG, Chapman SL, Reed B, Cotsonis G. The effect of opioids on driving and psychomotor performance in patients with chronic pain. *Clin J Pain.* 2005;21:345–352.
- [24] Fishbain DA, Cutler RB, Rosomoff H, Rosomoff RS. Can patients taking opioids drive safely? A structured evidence-based review. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 2002;16:9–28.
- [25] Mailis-Gagnon A, Lakha SF, Furlan A, NicholsonK, Yegneswaran B, Sabatowski R. Systematic review of the quality and generalizability of studies on the effects of opioids on driving and cognitive/psychomotor performance. *Clin J Pain.* 2012;28:542–555.
- [26] Brown TL, Milavetz G, Gaffney G, Spurgin A. Evaluating drugged driving: Effects of exemplar pain and anxiety medications. *Traffic Inj Prev.* 2018;19(sup1):S97-S103. doi: 10.1080/15389588.2017.1378814.
- [27] Leufkens TR, Vermeeren A, Smink BE, Van Ruitenbeek P, Ramaekers JG. Cognitive, psychomotor and actual driving performance in healthy volunteers after immediate and extended release formulations of alprazolam 1mg. *Psychopharmacology.* 2007;191:951–959.
- [28] Verster JC, Volkerts ER, Verbaten MN. Effects of alprazolam on driving ability, memory functioning and psychomotor performance: a randomized, placebo-controlled study. *Neuropsychopharmacology.* 2002;27:260–269.

- [29] Associazione Scientifica GTFI. Linee guida per le strutture dotate di laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente. Revisione n. 4 del 6 dicembre 2012. <https://www.gtfi.it/wp-content/uploads/2015/07/LG2012.pdf>
- [30] SoHT. 2019 Consensus for the use of alcohol markers in hair for supporting the assessment of abstinence and chronic alcohol consumption. 2019. [https://www.soht.org/images/pdf/Revision\\_2019\\_Alcoholmarkers.pdf](https://www.soht.org/images/pdf/Revision_2019_Alcoholmarkers.pdf)
- [31] Busardò FP, Pichini S, Pellegrini M, Montana A, Lo Faro AF, Zaami S, Graziano S. Correlation between Blood and Oral Fluid Psychoactive Drug Concentrations and Cognitive Impairment in Driving under the Influence of Drugs. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(1):84-96. doi: 10.2174/1570159X15666170828162057
- [32] Strand MC, Ramaekers JG, Gjerde H, Mørland J, Vindenes V. Pharmacokinetics of Single Doses of Methadone and Buprenorphine in Blood and Oral Fluid in Healthy Volunteers and Correlation With Effects on Psychomotor and Cognitive Functions. *J Clin Psychopharmacol.* 2019;39(5):489-493. doi: 10.1097/JCP.0000000000001077
- [33] Vandrey R, Herrmann ES, Mitchell JM, Bigelow GE, Flegel R, LoDico C, Cone EJ. Pharmacokinetic Profile of Oral Cannabis in Humans: Blood and Oral Fluid Disposition and Relation to Pharmacodynamic Outcomes. *J Anal Toxicol.* 2017;41(2):83-99. doi: 10.1093/jat/bkx012.
- [34] Presidenza del Consiglio dei Ministri, Dipartimento per le Politiche Antidroga. Relazione annuale al Parlamento sul fenomeno delle tossicodipendenze in Italia. Anno 2019. <http://www.politicheantidroga.gov.it/it/dpa-in-sintesi/relazioni-annuali-al-parlamento/relazione-annuale-al-parlamento-sul-fenomeno-delle-tossicodipendenze-in-italia-anno-2019-dati-2018/>

- [35] Sporkert F, Kharbouche H, Augsburg MP, Klemm C, Baumgartner MR. Positive EtG findings in hair as a result of a cosmetic treatment. *Forensic Sci Int.* 2012;218(1-3):97-100. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.10.009.
- [36] Kerekes I, Yegles M, Grimm U, Wennig R. Ethyl glucuronide determination: head hair versus non-head hair. *Alcohol Alcohol.* 2009;44(1):62-6. doi: 10.1093/alcalc/agn096.
- [37] Pirro V, Di Corcia D, Pellegrino S, Vincenti M, Sciutteri B, Salomone A. A study of distribution of ethyl glucuronide in different keratin matrices. *Forensic Sci Int.* 2011 Jul 15;210(1-3):271-7. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.03.026.
- [38] Schulze H, Schumacher M, Urmeew R, Auerbach K. Final Report: Work performed, main results and recommendations. DRUID Project Funded by the European Commission under the Transport RTD Programme of the 6th Framework Program.
- [39] Van der Sluiszen NNJMM, Vermeeren A, Verster JC, van de Loo AJAE, van Dijken JH, Veldstra JL, Brookhuis KA, de Waard D, Ramaekers JG. Driving performance and neurocognitive skills of long-term users of BDZ anxiolytics and hypnotics. *Hum Psychopharmacol.* 2019;34(6):e2715. doi: 10.1002/hup.2715.