

IJA

THE
ITALIAN JOURNAL
ON
ADDICTION

Volume 2, Numero 5-6, 2012

IJA Organo Ufficiale della:



 PRESIDENZA DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI
Ministro per la Cooperazione Internazionale e l'Integrazione
Dipartimento Politiche Antidroga

 *Ministero della Salute*

In collaborazione con:

 **unieri**
United Nations
Interregional Crime and Justice
Research Institute

 **Società Italiana
di Neuroscienze**



Italian Journal on Addiction

Rivista Bimestrale online sulle dipendenze

Volume 2, Numero 5-6, 2012

Tribunale di Roma - Registro n. 173/2011 del 26/05/2011

ISSN 2239-5652



L'Italian Journal on Addiction è il periodico ufficiale d'informazione scientifica del Dipartimento per le Politiche Antidroga della Presidenza del Consiglio dei Ministri e della Italian Scientific Community on Addiction,

che pubblica e diffonde i più attuali orientamenti della ricerca e della politica sanitaria a livello internazionale, sulle dipendenze ed i fenomeni correlati, per promuovere il dialogo tra i ricercatori e i professionisti impegnati sul campo e permettere agli operatori del settore di conoscere ed applicare gli interventi più efficaci riconosciuti a livello internazionale.

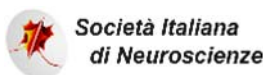
Direzione e Redazione:

Dipartimento Politiche Antidroga
Presidenza del Consiglio dei Ministri
Via Po, 16/A - 00198 Roma (Italy)
Telefono: +39 06 67796350 - Fax: +39 06 67796843
Email: dipartimentoantidroga@governo.it
Email: redazionejournaldpa@governo.it

Pubblicato in collaborazione con:



Ministero della Salute



Direzione:

Giovanni Serpelloni
Capo Dipartimento Politiche Antidroga - PCM
Direttore Responsabile
Fabrizio Oleari
Capo Dipartimento della sanità pubblica e dell'innovazione
Ministero della Salute

Elisabetta Simeoni
Dipartimento Politiche Antidroga - PCM

Alessandra Liquori O'Neil
United Nations Interregional Crime and Justice
Research Institute

Comitato Tecnico Scientifico:

Giovanni Serpelloni (Italia), Giovanni Addolorato (Italia),
Lucio Annunziato (Italia), Roberto Ciccocioppo (Italia),
Mario Cruciani (Italia), Maurizio Gomma (Italia), Woody
Hopf (USA), Samuel Kombian (Kuwait), Lorenzo Leggio
(USA), Enrico Malizia (Italia), Francesco Mari (Italia),
Marisa Roberto (USA), Fabrizio Schifano (Italia).

Segreteria di Redazione:

Eugenio Francesco Valenzi, *coordinatore editoriale*
Sonia Amelio, Arianna Gioffi

Comunicazione Istituzionale:

Fiorella Calò

Si ringraziano per la collaborazione:

Gianmaria Battaglia, Manuela Licata, Tiziana Mattioni,
Roberto Mollica, Fabrizio Schifano, Monica Zermiani

Sito web:

L'IJA è disponibile online gratuitamente all'indirizzo:
www.italianjournalonaddiction.it

Copyright:

La proprietà letteraria è riservata alla rivista. I testi pubblicati non possono essere riprodotti senza l'autorizzazione scritta dell'Editore.

In questo numero

Call for Papers

4

Editoriale

5

Ultimo numero 2012, IJA guarda al nuovo anno
Giovanni Serpelloni

Contributi Originali

6

Exploring components and correlates of satisfaction in an outpatient drug addiction service
Congia P., Tarantini F., Pani P.P., Loi A.

13

Droghe e internet. Risultati di un'indagine sul mercato online italiano
Serpelloni G., Rimondo C., Candio D.

19

Studio degli effetti acuti e cronici e delle proprietà d'abuso del cannabinoide sintetico JWH-018: un approccio multidisciplinare
De Luca M.A., Marti M.

28

GHB: farmaco, sostanza d'abuso e droga da stupro: diverse tipologie di uso, differenti problematiche analitico-forensi
Argo A., Vaiano F., Sortino C., Mari F., Bertol E.

Linee Guida

34

Linee Guida indirizzate alle Strutture dotate di Laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente. Aggiornamento 4, 2012
Bertol E., Borriello R., Caligara M., Favretto D., Gagliano Candela R., Stramesi C., Saligari E., Strano Rossi S., Chiarotti M., Mari F.

Eventi e Formazione

48

Scuola Nazionale sulle Dipendenze - Regolamento e Programma didattico – Edizione 2013
Dipartimento Politiche Antidroga

Norme per gli Autori

54

Italian Journal on Addiction Call for Papers

Neuroscienze e Dipendenze

Tutte le droghe e l'alcol possono causare anomalie, anche gravi, nel funzionamento neuro-psichico dell'individuo.

Comprendere esattamente la fisiopatologia e l'eziopatogenesi della dipendenza è fondamentale per poter avere le giuste basi interpretative dei fenomeni di massa e dei comportamenti individuali di chi usa sostanze stupefacenti.

Le neuroscienze rappresentano un ambito della ricerca scientifica in cui si integrano competenze diverse (mediche, psicologiche, educative, sociali e neurobiologiche), grazie alle quali è possibile effettuare studi delle strutture cerebrali, delle funzioni neuropsichiche coinvolte nella dipendenza e dei comportamenti. Questo riteniamo possa contribuire a definire la corretta interpretazione diagnostica e quindi le scelte terapeutiche di questa patologia, ed essere di supporto ai professionisti del settore delle dipendenze anche nel livello strategico, programmatico ed organizzativo.

L'Italian Journal on Addiction intende mettere a fuoco, con un numero monografico dedicato, l'importante contributo che questa disciplina può dare nel campo dell'*addiction* ed invita quindi gli autori a presentare ricerche originali, revisioni della letteratura e casi clinici che affrontino temi legati agli effetti delle droghe sul cervello e l'impiego delle neuroscienze nella comprensione delle alterazioni cerebrali ma anche dei comportamenti che ne derivano.

Inoltre si desidera fornire informazioni ai lettori, in merito al normale funzionamento del sistema nervoso e a come l'uso di sostanze stupefacenti sia in grado di alterarlo con particolare attenzione allo sviluppo cerebrale degli adolescenti; saranno apprezzati: la presentazione di tecniche d'indagine, i vari trattamenti in fase di studio nell'ambito delle neuroscienze, nonché le ricerche scientifiche in corso in Italia sull'argomento sia in ambito neurocognitivo che neurobiologico.

Saranno considerati per la valutazione, a cura degli esperti indipendenti dalla redazione, tutti i contributi redatti secondo le norme per gli autori IJA e che presentino conoscenze di elevato spessore scientifico e attuali rispetto al dibattito nazionale ed internazionale sul tema.

Gli Abstract e gli Articoli potranno essere inviati alla Redazione dell'Italian Journal on Addiction tramite l'indirizzo di posta elettronica redazionejournaldpa@governo.it, entro e non oltre il 27 maggio 2013.



Ultimo numero 2012, IJA guarda al nuovo anno

Con la pubblicazione dell'ultimo numero di quest'anno, l'Italian Journal on Addiction completa il suo secondo anno di pubblicazione con la speranza di essere stato utile nell'accrescere le conoscenze professionali dei suoi lettori. Il nostro impegno resta quello di mettere a disposizione uno strumento basato sulle evidenze scientifiche, efficace e affidabile, valido per divulgare i risultati delle ricerche più recenti e le buone pratiche della comunità scientifica italiana ed internazionale. A tal fine, l'IJA prevede, per il prossimo anno, una serie di iniziative per aumentare la propria visibilità, inclusa l'indicizzazione nelle principali banche dati scientifiche, come PubMed, Scopus, PLoS ONE, anche al fine di aumentare la visibilità, sulla scena internazionale, degli articoli pubblicati nella nostra rivista. In questo numero è di particolare rilievo la pubblicazione della quarta edizione delle "Linee Guida indirizzate alle Strutture dotate di Laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente" appena pubblicata dal Gruppo Tossicologi Forensi Italiani. Insieme a queste, proponiamo due interessanti articoli che si occupano di questioni legali e medico-legali: uno che tratta il GHB come medicina, sostanza d'abuso e droga dello stupro, secondo diversi approcci analitici in casi forensi; l'altro che riporta i risultati di una ricerca, attuata nel contesto del Sistema Nazionale di Allerta Precoce, sui siti internet italiani che vendono farmaci e droghe online. Inoltre sono lieto di portare all'attenzione dei nostri lettori uno studio sugli effetti acuti e cronici e le proprietà di abuso del cannabinoide sintetico JWH-018, che è stato presentato da Anna Maria De Luca e Matteo Marti, come test di valutazione finale nell'ambito del programma formativo della Scuola Nazionale sulle Dipendenze 2012, invitando tutti gli interessati a visitare il sito www.dpaschool.it per scoprire i termini e le condizioni per partecipare alla prossima edizione. Ultimo ma non meno importante, il sondaggio condotto presso il Servizio Tossicodipendenze della ASL N°. 8 di Cagliari, su un campione di 512 pazienti per verificare le determinanti della soddisfazione per il trattamento fornito. Da parte mia e della redazione un augurio di buone feste.

Last 2012 issue, IJA looking into the new year

With the publication of its last volume for this year, the Italian Journal on Addiction completes its second year of publication with the hope to have been useful in increasing the knowledge of its professional readers.

Our commitment remains that of putting at disposal of our readers an evidence-based, effective and reliable tool to disseminate the latest research results and working practices of the Italian and International scientific community.

To this purpose, the IJA is planning, for the coming year, a series of initiatives to increase its visibility, including the inclusion in the main scientific databases, such as PubMed, Scopus, PLoS One etc.). This will highly increase the visibility, on the international arena, of the articles published in our Journal.

Particularly relevant in this volume is the publication of the Fourth Edition of the "Guidelines for Laboratories performing analysis of drugs of abuse in specimens collected from living subjects for forensic toxicological and medico-legal purposes" just released by the Italian Forensic Toxicology Group. Together with them, we propose in this volume some interesting articles also dealing with forensic and medico-legal issues such as a review of GHB as a medicine, a substance of abuse and a date rape drug and its different analytical approaches in forensic cases, as well as a survey of the Italian internet sites selling drugs, in the context of the National Alert System.

I am proud to also bring to the attention of our readers a study of the acute and chronic effects and abuse properties of the synthetic cannabinoid JWH-018, which was carried out by Anna Maria De Luca and Matteo Marti as a final evaluation test envisaged by the National School on Addiction curriculum for this year. I invite the readers to go to the website to see the terms and conditions for attendance in the next year.

Last but not least, the team of the drug addiction public service at the Health District n. 8 in Cagliari, Italy, conducted a survey on a sample of 512 clients to verify the determinants of satisfaction with the treatment provided, that included adequacy of opening hours, number of dedicated professionals and multidisciplinary interventions. The highest degree of satisfaction was, as expected, met by the offer for integrated treatment options.

Best season greetings,

Giovanni Serpelloni

Capo Dipartimento Politiche Antidroga - PCM

Contributi originali

Exploring components and correlates of satisfaction in an outpatient drug addiction service

Pierpaolo Congia¹, Franca Tarantini¹, Pier Paolo Pani², Anna Loi¹

1 - Servizio per le Tossicodipendenze (ASL 8), Cagliari, Italia

2 - Direzione dei Servizi Sociosanitari (ASL 8), Cagliari, Italia

Studies performed in drug addiction treatment settings have indicated that patient satisfaction correlates with quality of services, retention in treatment and effectiveness of interventions. To verify determinants of satisfaction with treatment provided, a sample of 512 patients attending a drug addiction service managed by the Local Health District n. 8 in Cagliari, Italy, was asked to express their degree of satisfaction in services provided by filling in an anonymous questionnaire. Questions on sociodemographic, clinical, and service-related variables were also included. Clarity of information, adequacy of hours of opening of the service and delivery of interventions, number of operators involved in the program and multidisciplinary of intervention constituted the major predictors of patient satisfaction. In particular, patients undergoing integrated treatments expressed the highest degree of satisfaction. Consistent with the results of previous investigations on program attributes, particular attention should be focused on the above components in the organization of services for substance use disorders.

Correlati della soddisfazione in un campione di tossicodipendenti in trattamento

Gli studi condotti in contesti di trattamento della tossicodipendenza hanno indicato che la soddisfazione del paziente è correlata con la qualità dei servizi, la ritenzione in trattamento e l'efficacia degli interventi. Per verificare i determinanti della soddisfazione rispetto al trattamento ricevuto, ad un campione di 512 pazienti che frequentavano il Servizio Tossicodipendenze della ASL N° 8 di Cagliari, è stato chiesto di esprimere il grado di soddisfazione attraverso la compilazione di un questionario anonimo. Sono state raccolte informazioni riguardanti le caratteristiche socio-demografiche e cliniche del campione, la tipologia e la qualità dei servizi offerti.

La chiarezza delle informazioni, l'adeguatezza delle ore di apertura del servizio, la modalità di erogazione dei trattamenti, il numero di operatori coinvolti nel programma e la multidisciplinarietà degli interventi, costituivano i fattori predittivi più importanti della soddisfazione.

In particolare, i pazienti sottoposti a trattamenti integrati hanno espresso il grado più alto di soddisfazione. Coerentemente con i risultati di analoghe ricerche riguardanti le caratteristiche dei programmi, i risultati suggeriscono che nell'organizzazione dei servizi per il trattamento dei disturbi da uso di sostanze, dovrebbe essere dedicata una particolare attenzione agli aspetti sopra citati.

Parole chiave: *Soddisfazione, TPQ, tossicodipendenza, efficacia*

Keywords: *Satisfaction, TPQ, addiction, effectiveness*

Date: *inviato: 19/03/2012 - accettato: 04/12/2012*

Contatti: **Dott. Pierpaolo Congia**

Ser.D. 2, ASL 8 Cagliari

Via Liguria, Cagliari, Italia

tel.: +39 07047444296

fax: +39 070 47444272

e-mail: pierpaolo.congia@gmail.com

Introduction

While efficacy refers to the functioning of a specific intervention under ideal conditions, effectiveness refers to its functioning in routine clinical care, in which numerous determinants of the outcome of intervention are involved. In the field of addiction, increasing attention has been focused on the concept of effectiveness. Indeed, in addition to

medication and psychotherapeutic techniques, considered the main tools underlying intervention, other variables (theoretical model, organization, program, acceptance, etc.) have been shown to influence the results of treatment.^{1,7}

Accordingly, methadone maintenance programs, representing the gold standard for efficacy in the treatment of opioid addiction, have provided evidence that the final impact on patient health and quality of life depends not only on the

content of the therapeutic proposal, but also on how the proposal is presented and delivered. Factors including availability of services, flexibility, opening hours, take-home policies, respect, courtesy, etc., produce a marked impact on patients' willingness to undergo and comply with treatment, promoting compliance with treatment, therapeutic alliance, and session attendance.^{1,2,8-14}

Moreover, treatment compliance has been found to be correlated with patient satisfaction¹⁵⁻¹⁷ which, in turn, has been related with therapeutic success, being associated with at least two strong indicators of positive outcome in drug addiction interventions, namely retention in treatment and negative urinalyses for substances of abuse^{15,16,18-20}.

Thus, on the one hand it would seem that to some extent an association indeed exists between satisfaction and effectiveness of treatment, whilst on the other emphasizing how both patient satisfaction and effectiveness of treatment are affected by the quality of services and interventions received^{16,19-22}. However, while numerous studies have focused on the outcome of treatment and determinants involved, to date the evaluation of client satisfaction with services provided and its determinants has received scarce attention both on a clinical and research level^{23,24}.

Based on these premises, our study was performed to investigate: a) the level of satisfaction expressed by patients for the different aspects of the therapeutic program; b) the existence of a correlation between satisfaction expressed by patients and program components associated in previous research with "compliance" (therapeutic relationship, organization of the program, integration of intervention, interference with daily routine of patients).

Contrary to previous studies performed to investigate satisfaction in specific populations, e.g. patients undergoing experimental clinical trials or embarking on specific treatment,^{17,20} the purpose of the present study was to evaluate satisfaction expressed by a regular population attending Italian services for the treatment of addiction.

Methods

The present study was carried out at the Drug Addiction Service (Servizio Tossicodipendenze, SER.T.) of health district No. 8 (Azienda Unità Sanitaria Locale, AUSL 8), in Cagliari, Italy. The latter is an outpatient service comprising three separate units serving an urban and suburban area of approximately 560,000 inhabitants according to geographical location. The service opened in 1980 as a single unit and to date has assisted approximately 10,000 patients. Two service units are located in Cagliari and one in a suburban area (Quartu Sant'Elena). The service is funded by the regional health services at no charge to patients. It offers different types of treatment for addictive disorders and related problems (detoxification, opioid agonists and antagonist-maintenance, counselling, general medical care, specific medical care for HIV-related conditions, psychological-psychiatric care and rehabilitative interventions).

Drug addiction service opens from 8 AM to 8 PM on weekdays and from 8 AM to 1 PM on Saturday and Sunday. An on demand reception is active on site and information is available from all operators, although for specifications regarding individual programs patients are referred to their consultant member of staff. The premises have been arranged to provide comfort to both operators and patients, including waiting rooms, bathrooms, medical, psychological and social offices, etc.

Immediate access is guaranteed with no waiting list and the service policy is to promote prolonged retention of patients in treatment. Staying in treatment is not confined to the maintenance of a drug-free status or compliance with the range of interventions available (pharmacological and otherwise). New patients and patients re-entering a therapeutic program at the service represent on an average 13 % of subjects attending the service yearly.

Stabilized patients (with negative urine specimens for drug use and good social adjustment) are allowed to take medication home and attend the service less frequently (up to once at week).

Service staff includes general physicians, psychiatrists, psychologists, nurses, social workers, educators and administrative personnel. Service policies are aimed at encouraging teamwork whenever appropriate. Although no case manager is assigned to patients, a preferential relationship, usually with professional with expertise in specific needs, is established.

The present study is based on data originating from a survey carried out in 2005 aiming to verify the possibility of introducing routine evaluation of patient satisfaction in the treatment program. Participants were not paid. All required institutional authorizations were obtained.

During the month in which the survey was undertaken, 1,230 patients were in treatment at the service, of which 91.2% were in treatment for heroin, 7.2% for cocaine, 0.9% for cannabis, and 0.5% for other substance-related problems.

1,127 patients (86%) were on pharmacological treatment; of these, 77.6% were on methadone (maintenance for 72.8%), 15.9 % on buprenorphine, 2% on naltrexone and 4.6% on other medications.

With the aim of guaranteeing an adequate representation of the patient population, the study intended to recruit at least one third of patients attending the service. Recruitment was carried out over six working days (Monday through Saturday) throughout the opening hours of the units. Participants were contacted and recruited in order of arrival, up to reach the targeted dimension of the sample. Participation in the study was illustrated to patients by trained personnel not involved in routine clinical activities (practicing psychologists). By means of anonymous questionnaires patients were asked to express their degree of satisfaction in services provided while in treatment.^{25,26} After explaining the aims of the study and providing instructions on the use of instruments and the confidentiality of information to be collected, interviewers handed out the questionnaires, requesting that they be returned within one week. Refusal to participate or delay in the returning of filled-in questionnaires was taken as a refusal. We did not collect any data about reasons for refusal to participate.

The sample study included 512 patients (out of 1,230 attending the three service units during the survey month): 155 (35.1% of the sample) from the via Liguria Ser.T. in Cagliari, 152 (34.5% of the total sample) from the Via dei Valenzani Ser.T. in Cagliari, and 134 (30.4% of the total sample) from the Quartu S.Elena Ser.T.

A questionnaire aimed at collecting sociodemographic and clinical information of participating subjects was administered. We collected informations about gender, age, employment status, imprisonment, type and length of previous or current treatment (residential-, outpatient-, in parole-treatment), kind of current medical and psychosocial interventions, staff member supervising treatment and frequency of attendance (daily, weekly, etc.).

Moreover, two specific instruments were applied to assess satisfaction, the first of which was the Treatment Perception

Questionnaire (TPQ), already used in similar studies 23,24. TPQ was preferred over other measures of general satisfaction or satisfaction related to defined treatment approaches, 13,27 having been constructed to specifically measure satisfaction in the field of addiction. TPQ has the advantage of collecting information on relevant areas not assessed by other instruments applied in the field of addiction, such as therapeutic relationship, aims of treatment, and time devoted to the patient²³.

TPQ is made up of 10 items on a five-point Likert scale (from strong agreement to strong disagreement) examining two distinct areas: the first focusing on the perception of clients towards the nature and extent of contacts with program staff (5 items); the second concerning aspects of the treatment service, its operation and rules and regulations (5 items). The instrument scores satisfaction on a scale ranging from 0 to 40. Cronbach's Alpha was 0.77.

The second purpose-constructed instrument, "Multilevel Satisfaction Evaluation" (MSE), was used to collect information pertaining to the following areas:

- Treatment received - satisfaction with different components of treatment provided: medical, nursing, psychological, social and educational;
 - Premises, reception and orientation - evaluation of the suitability of places and structures, hours of opening and providing of different services: pharmacy, laboratory analyses, medical visits, psychological interviews, educational and social interventions; clarity of information and ease of access to services;
 - Multidisciplinarity of intervention - number of different operators (physician, psychologist, etc.) involved in treatment.
- All questions were specifically aimed at obtaining patient evaluation of aspects of the service program not specifically covered by TPQ.

In providing information, with the exception of ease of access to treatment and professionals involved in treatment, patients were required to choose the appropriate score on a four rank scale (0 = not at all satisfied; 1 = scarcely satisfied; 2 = satisfied, 3 = highly satisfied). Ease of access to treatments and services was assigned an average satisfaction score, calculated from scores assigned for individual services/treatments by each patient (ranging from 0 to 5). Ease of access to individual interventions (medical, psychological, etc.) was coded as a categorical variable (yes/no) and professionals involved was rated as the effective number of staff working with the patient concerned.

Data collected were used to describe the sample in terms of sociodemographic-, clinical-, and satisfaction related-variables.

Using MSE, four subscales aimed at assessing homogeneity of items, were identified: satisfaction in treatments provided (Cronbach's Alpha 0.75), suitability of places and spaces (Cronbach's Alpha 0.78), suitability of service opening hours (Cronbach's Alpha 0.83), ease of access to treatment and services (Cronbach's Alpha 0.79).

Subsequent to sample description, the association between patient satisfaction and other sociodemographic and clinical characteristics was analyzed.

To verify the impact of multiplicity of operators on satisfaction, two indices were used: the number of professionals involved in patients' treatment, and the number of professionals preferentially chosen by patients as referents.

To evaluate the association between type of treatment and patient satisfaction, the sample was divided into three groups: medical-nursing treatment (where only physician and nurse were involved in the treatment); psychosocial treatment

(where only psychologist and/or social worker and/or educator were involved in treatment); integrated treatment (in which medical and psychosocial professionals were involved simultaneously in treatment).

All items, with the exception of age, frequency of attending the service, adherence to residential treatment and imprisonment, were measured on an ordinal scale.

The following statistical tests were used: Pearson's correlation coefficient, partial correlation, ANOVA, ANCOVA, multiple regression analysis. Tests were carried out using Statistica 7.0 package (Statsoft Inc., 2004). Significance was set at $p = 0.05$.

Results

Eighty-six percent of patients contacted agreed to take part in the study (441 out of 512). Proportion of patients who refuse to participate was significantly higher among those attending Via dei Valenzani Ser.T ($X^2 = .22.6$, $df = 2$, $p < .001$). We did not find significant differences among participants attending the three units, except for age, length of current treatment, that were higher among participants recruited in Via dei Valenzani Ser.T. and proportion of daily attendance of service, higher among participants recruited in Quartu Unit. At the time of interview, 79.8% of patients reported ongoing medical treatment, 29.5% nursing services, 38.3% psychological, 16.1% educational, and 17.7% social services (not exclusively). Table 1 and 2 show sociodemographic, treatment-related characteristics and principal statistics regarding satisfaction level rated using TPQ and MSE.

Correlation between TPQ and sociodemographic variables was not statistically significant for sex, age, employment status, presence and length of imprisonment. Regarding treatment-related variables, correlation was not statistically significant for the presence of previous residential treatment. However, a statistically significant inverse correlation of TPQ with the length of staying in current treatment and frequency of attendance was found ($r = 0.13$, $p < 0.05$, and $r = 0.12$, $p < 0.001$, respectively).

Since duration of treatment may affect the relationship between satisfaction and other variables, further correlation coefficients between TPQ and variables related to the quality and quantity of services provided were calculated, taking into account the length of the period of treatment spent at the service (partial correlation).

Looking at correlation between TPQ and MSE, total TPQ scores correlated significantly with clarity of information received ($r = 0.45$; $p < 0.001$), evaluation of adequacy of hours of opening and services provided ($r = 0.35$; $p < 0.001$), quality of premises ($r = 0.33$; $p < 0.001$), ease of access to treatments ($r = 0.14$; $p < 0.001$), number of professional figures involved in treatment program ($r = 0.14$; $p < 0.01$) and number of operators available for information or to address problems ($r = 0.18$; $p < 0.001$).

To verify whether satisfaction was influenced by the degree of integration of treatment, a covariance analysis on TPQ score, using the type of treatment (exclusively medical treatment; exclusively psychosocial treatment; integrated treatment) as categorical predictor, was carried out. The three groups thus identified did not differ significantly for age, employment status, length of imprisonment, frequency of attending the service. The only significant difference found focused on the length of period spent in residential treatment (months spent in therapeutic community; ANOVA, $F(2, 41) = 3.24$, $p < 0.05$; post hoc LSD $p < 0.05$). Covariates applied included age of patient, duration of treatment and length of residen-

	Service Units											
	V. Liguria			. V. Valenzani			Quartu			Tot		
	%	M	DS	%	M	DS	%	M	DS	%	M	DS
Refusal to participate	6,6%			24,0%			12,4%			15,0%		
Gender (male)	82,1%			84,7%			83,2%			83,3%		
Any "in parole" treatment												
49,7%			46,6%			50,4%			48,8%			
Previous residential treatment	46,3%			44,0%			43,4%			44,6%		
In jail for more than two months	53,5%			57,1%			52,7%			54,5%		
Employed	50,7%			45,8%			58,4%			51,4%		
Daily attendance of service	39,6%			54,1%			18,0%			38,1%		
Treatment												
Only medical	42,0%			45,3%			55,3%			47,0%		
Only psychosocial	16,0%			7,4%			11,4%			11,6%		
Integrated	42,0%			47,3%			33,3%			41,3%		
Age		35.1	6.85		37.3	7.10		35.5	6.58		36.0	6.93
Length of current treatment (months)		57.8	46.8		77.3	43.9		69.5	42.4		68.7	45.03
Number of operators involved in treatment		1.9	1.14		1.8	.87		2.0	1.03		1.9	1.03

Table 1. Sociodemographic and treatment-related characteristics

tial treatment. Patients enrolled in an integrated treatment program displayed a significantly higher level of satisfaction than patients undergoing exclusively medical treatment [ANCOVA, $F(2,35) = 6.03$, $p < 0.005$; post-hoc Fisher LSF: Integrated > Medical, $p < 0.001$].

A further evaluation was carried out using satisfaction on the treatment scale derived from MSE as dependent variable. Once again, age, length of current treatment and time spent in residential treatment were included as covariates. The results revealed that subjects undergoing integrated or psychosocial treatment expressed a higher level of satisfaction than those on medical treatment alone (ANCOVA, $F(2,33) = 7.21$, $p < 0.001$, post Hoc Fisher LSF: Integrated > Medical, $p < 0.05$; Psychosocial > Medical, $p < 0.0005$).

Finally, a backward regression analysis performed using variables significantly correlated with TPQ scores (clarity of information; integration of treatment, adequacy of premises and hours of opening, provision of services, ease of access to treatments, number of workers involved in the program and frequency of attendance) was undertaken. Variables predicting satisfaction, included: clarity of information ($\beta =$

0.35 ; $t = 7.03$; $p < 0.001$); frequency of attendance ($\beta = -0.16$; $t = -3.35$; $p < 0.001$); adequacy of premises and hours ($\beta = 0.21$; $t = 4.19$; $p < 0.001$; $R^2 = .27$; Adjusted $R^2 = 0.26$, $F(3,35) = 42.90$, $p < 0.001$; SE 0.54).

By replicating backward regression with the same determinants applying satisfaction in current treatment as investigated by MSE as dependent variable, the variables predictive of satisfaction were: adequacy of premises ($\beta = 0.15$, $t = 3.24$, $p < 0.001$) and integration of treatment ($\beta = -0.24$, $t = -4.86$, $p < 0.001$; $R^2 = 0.09$; Adjusted $R^2 = 0.09$; $F(2,39) = 19.41$; $p < 0.001$; SE 0.90).

Discussion

The present study was performed to investigate the relationship between the degree of satisfaction expressed by patients undergoing treatment at substance use outpatient clinics and factors involved in the promotion of compliance with the program.

The study differed from previous work carried out on the

	Service Units									
	V. Liguria		. V. Valenzani		Quartu		Tot			
	M	DS	M	DS	M	DS	M	DS	M	DS
TPQ total score	24.3	5.23	23.8	5.83	27.0	7.02	25.1	6.23		
TPQ Staff perception	12.3	2.75	12.1	3.06	13.6	3.57	12.7	3.20		
TPQ Program perception	11.6	3.33	11.0	3.96	13.5	4.08	12.0	3.92		
Satisfaction with current treatment	2.4	.67	2.3	.70	2.7	.64	2.4	.69		
Clarity of information	1.6	1.45	1.6	1.41	2.0	1.38	1.7	1.43		
Satisfaction score for places and spaces	1.7	.76	1.7	.67	1.8	.81	1.7	.74		
Adequacy of hours of opening	1.7	.83	1.6	.71	2.0	.73	1.8	.77		
Ease of access to treatments	3.5	1.76	3.4	1.72	2.9	1.69	3.3	1.74		

Table 2 - Descriptive Statistics. Satisfaction expressed by participants

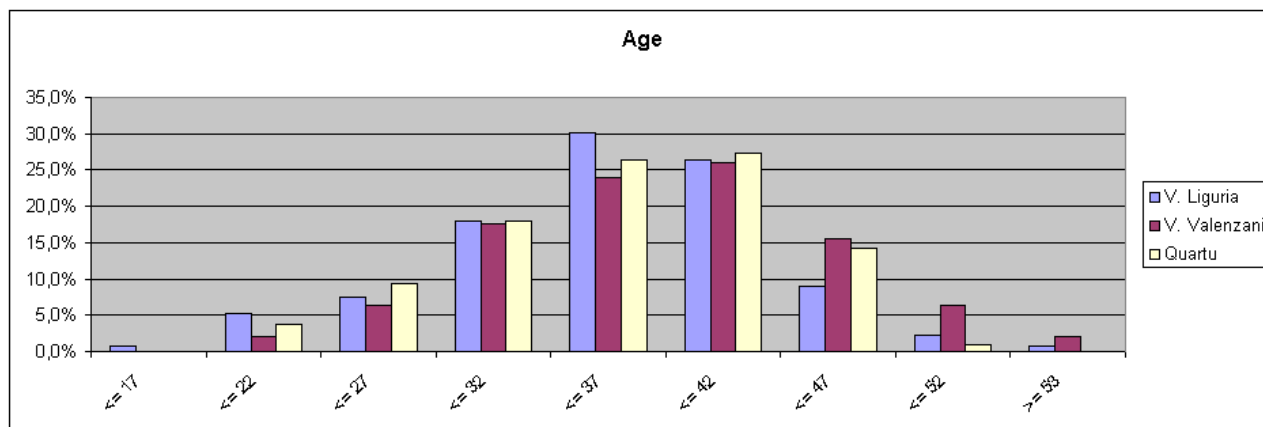


Fig. 1. Age distribution.

subject as it focused mainly on patients enrolled in regular programs, whilst the majority of published studies have investigated patients undergoing experimental clinical trials or starting on a treatment program^{17,20}. Since data were collected by anonymous questionnaires administered to a representative sample of treated patients, evaluations expressed may be considered reliable indicators of the actual degree of satisfaction and approval.^{25,26,28}

The average degree of satisfaction expressed by interviewed patients on TPQ (24.52; SD 6.5) does not differ substantially from values reported in the only study available in the Italian context, carried out on a smaller sample (25.3; SD 6.2).^{3,24} Moreover, TPQ results were similar to those obtained by Mardsen in several European Countries (Spain, England, etc.).²⁴

Regarding the correlation between satisfaction expressed by patients and specific components of the program, the results obtained reveal the existence of statistically significant associations with clarity of information received, ease of access to the program (adequacy of hours of service and quality of premises), degree of interference of program requirements with everyday life of patients (frequency of attending the service), degree of integration of treatments.

The clarity of information received by patients is certainly related to the quality of interpersonal relationship, which, in turn, plays a key role in promoting therapeutic alliance and compliance with the program. Simple availability of treatment does not automatically imply an adequate use of services, and compliance with treatment program may be enhanced by im-

proved acceptance/welcome information and advice.

In line with findings reported in other studies carried out in the field of mental health²⁹⁻³² also in the present study patients opinion on clarity of information proved to be the most important predictive factor of satisfaction, correlating with global satisfaction, as measured by TPQ, irrespective of the duration of treatment, frequency of attendance and other aspects considered for the treatment population. Consistent with the results obtained here, other authors have suggested the development and use of instruments aimed at testing the expectations of patients with regard to information on treatments and their different aspects.³³

Another area evaluated in the context of this study focused on ease of access to the service. The results obtained showed a significant correlation between adequacy of premises and hours of opening and level of satisfaction assessed at TPQ, irrespective of duration of treatment and frequency of attendance (partial correlation r 0.32, $p < 0.000$). Ease of access to the service is a factor largely capable of conditioning treatment outcome, in particular treatments implying a frequent attendance at the service. Accordingly, several studies have underlined the association between accessibility and factors related to success of treatment, such as drop-out rate or motivation to stay in treatment.⁸ Therefore, the results obtained in the present study on the association between adequacy of premises and hours of opening and level of satisfaction, further emphasize the correlation between satisfaction and effectiveness of treatment. Notably, given that TPQ tests overall aspects related to the perception of quality of the

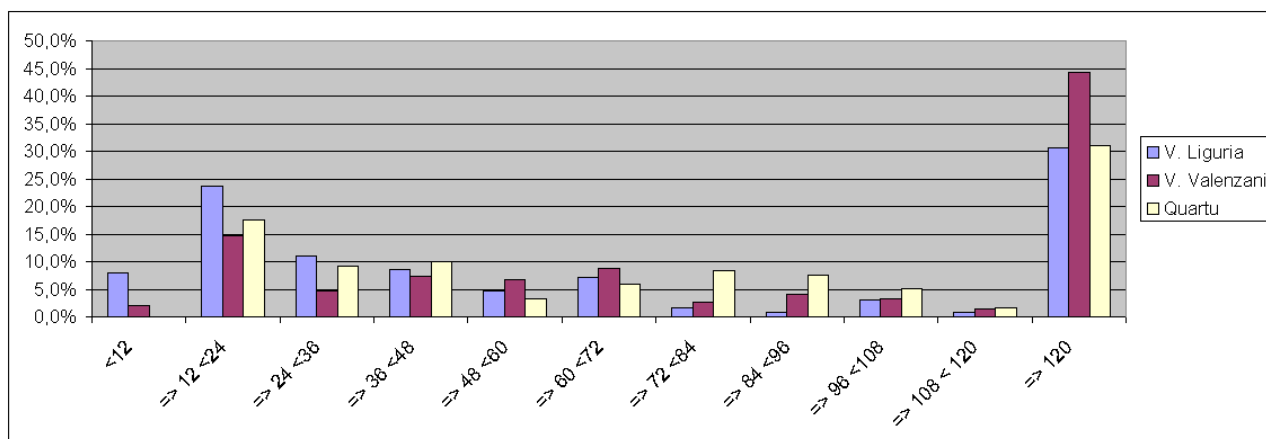


Fig. 2. Length of current treatment distribution (months)

relationship between patients and staff, patients likely view organization of service, and its impact on accessibility, as a sign of attention towards his or her specific needs.

Another indicator of the association between satisfaction and degree of interference of program requirements with everyday life of patients, is represented by the negative correlation between frequency of service attendance and level of satisfaction. This association, which has been shown by other studies,^{13,27} may be explained in different ways. A first hypothesis is that correlation merely expresses a higher degree of discomfort deriving from the patient being obliged to adapt his own routine to the hours and regulations of access to the service. A further possibility is that patients required to attend the service more frequently do not agree with treatment staff to this regard, particularly as they may view indications provided as being scarcely efficacious or are less motivated towards undertaking treatment. However, even taking into account the strength of therapeutic relationship (expressed by the number of operators to whom patients refer and the number of operators collaborating in the program) the correlation remains negative (partial correlation - 0.17, $p < 0.000$), while satisfaction is positively correlated with the above variables. It should moreover be kept in mind that the majority of patients attending the service on a regular, even daily, basis were undergoing treatment with methadone or buprenorphine. Since the service units investigated permit patients to take their medication home once they are sufficiently stabilized, and risks related to active drug involvement and the correct management of medications are no longer an issue, the higher frequency of attendance may constitute an indirect indicator of the severity of clinical condition. However, frequency of attendance was not found to be correlated with other indicators of severity, such as the number of months spent in jail or in therapeutic community, nor was any relationship ascertained between frequency of attendance and type of treatments carried out or with the professional patients habitually refer to.

Finally, the high degree of satisfaction expressed for integrated treatments represents a further correlation between satisfaction and predictors of better outcome of the program, since comprehensive treatment programs, capable of providing both pharmacological and psychosocial services, have been repeatedly recognised for their effectiveness in retaining patients in treatment and reducing substance use.^{1,17,34,35}

The number of responders answering questions on certain types of treatment varies according to the number of patients undergoing the specific treatment concerned. Therefore, generalization of results may be lower for some domains, such as educational- and social-related services, in which approximately 1/3 of patients in the study were not involved.

Moreover, the possible attribution of an ambiguous meaning to key terms, such as "treatment" was not verified. However, it is reasonable to maintain that the term "treatment" is used by some individuals to imply a "set of preordained and finalized activities", while others construe it as the more generic provision of supportive, at times episodic, activities.

It should moreover be considered that in view of the specific design of the study, the probability of being included was higher for patients in long term treatment, while no information is available for patients dropping out of treatment.

Furthermore, as the present research was based on TPQ and MSE areas of investigation, other aspects of the treatment program such as theoretical models applied by clinical staff, attitude towards addicted persons, etc., which have previously been correlated with treatment outcome^{1,2,6,36,37} were not taken into consideration.

Finally, in the present study, the maintaining of patients anonymity was considered a priority issue, shown by previous research performed to assess patient satisfaction to have a specific influence on results.^{25,26} Conversely, this unfortunately prevented any further investigations of treatment characteristics and outcome, disallowing a more subtle correlation of treatment-linked variables with patient satisfaction.

Overall, the results obtained in this study emphasize how factors previously associated with treatment compliance and implicated in effectiveness of treatment for opioid addiction¹⁻⁷ are associated with the degree of satisfaction expressed by patients. Consistent with the results of previous investigations on program attributes,^{1,35} careful attention should be paid to correctness and completeness of patient information, easy access to services and integration of interventions, and low frequency of attending service premises. If applied, this strategy should constitute an excellent means of minimizing limitations to patients quality of life and maximizing treatment benefits, constituting an appropriate base for the implementation of therapeutic interventions supported by strong evidence of efficacy, such as methadone or buprenorphine.³⁸

Reference List

1. Broome KM, Flynn PM, Knight DK, Simpson DD. Program structure, staff perceptions, and client engagement in treatment. *J Subst Abuse Treat* 2007;33:149-58.
2. Caplehorn JR, Lumley TS, Irwig L. Staff attitudes and retention of patients in methadone maintenance programs. *Drug Alcohol Depend* 1998;52:57-61.
3. Greener JM, Joe GW, Simpson DD, Rowan-Szal GA, Lehman WEK. Influence of organizational functioning on client engagement in treatment. *J Subst Abuse Treat* 2007;33:139-47.
4. Sun AP. Program factors related to women's substance abuse treatment retention and other outcomes: A review and critique. *J Subst Abuse Treat* 2006;30:1-20.
5. McCaughrin WC, Price RH. Effective outpatient drug treatment organizations: program features and selection effects. *Int J Addict* 1992;27:1335-58.
6. Heinrich C, Lynn L. Improving the Organization, Management, and Outcomes of Substance Abuse Treatment Programs. *Am J Drug Alcohol Abuse* 2002;28:601.
7. Smith BD, Marsh JC. Client-service matching in substance abuse treatment for women with children. *J Subst Abuse Treat* 2002;22:161.
8. Ball JC, Ross A. The effectiveness of methadone maintenance treatment: Patients, programs, services, and outcome. New York, Springer-Verlag Publishing, 1991.
9. McLellan AT, Grissom GR, Brill P, Durell J. Private substance abuse treatments: Are some programs more effective than others? *J Subst Abuse Treat* 1993;10:243-54.
10. Simpson DD, Joe GW, Rowan-Szal GA, Greener JM. Drug abuse treatment process components that improve retention. *J Subst Abuse Treat* 1997;14:565-72.
11. Greener JM, Joe GW, Simpson DD, Rowan-Szal GA, Lehman WE. Influence of organizational functioning on client engagement in treatment. *J Subst Abuse Treat* 2007;33:139-47.
12. Fiorentine R, Nakashima J, Anglin MD. Client engagement in drug treatment. *J Subst Abuse Treat* 1999;17:199-206.
13. Barry DT, Moore BA, Pantalon MV, Chawarski MC, Sullivan LE, O'Connor PG, Schottenfeld RS, Fiellin DA. Patient satisfaction with primary care office-based buprenorphine/naloxone treatment. *J Gen Intern Med* 2007;22:242-5.
14. Guydish J, Woods WJ, Davis T, Bostrom A, Frazier Y. Does centralized intake improve drug abuse treatment outcomes? *J Subst Abuse Treat* 2001;20:265-73.
15. Dearing RL, Barrick C, Dermen KH, Walitzer KS. Indicators of

Client Engagement: Influences on Alcohol Treatment Satisfaction and Outcomes. *Psychol Addict Behav* 2005;19:71-8.

16. Chan M, Sorensen JL, Guydish J, Tajima B, Acampora A. Client Satisfaction with Drug Abuse Day Treatment Versus Residential Care. *J Drug Issues* 1997;27:367-77.
17. Hawkins EJ, Baer JS, Kivlahan DR. Concurrent monitoring of psychological distress and satisfaction measures as predictors of addiction treatment retention. *J Subst Abuse Treat* 2008;35:207-16.
18. Ries RK, Jaffe C, Comtois KA, Kitchell M. Treatment satisfaction compared with outcome in severe dual disorders. *Community Ment Health J* 1999;35:213-21.
19. Donovan DM, Kadden RM, DiClemente CC, Carroll KM. Client Satisfaction with Three Therapies in the Treatment of Alcohol Dependence: Results from Project MATCH. *Am J Addict* 2002;11:291-307.
20. Carlson MJ, Gabriel RM. Patient satisfaction, use of services, and one-year outcomes in publicly funded substance abuse treatment. *Psychiatr Serv* 2001;52:1230-36.
21. McLellan AT, Hunkeler E. Patient satisfaction and outcomes in alcohol and drug abuse treatment. *Psychiatr Serv* 1998;49:573-5.
22. Rosenheck R, Wilson NJ, Meterko M. Influence of patient and hospital factors on consumer satisfaction with inpatient mental health treatment. *Psychiatr Serv* 1997;48:1553-61.
23. Marsden J, Stewart D, Gossop M, Rolfe A, Bacchus L, Griffiths P, Clarke K, Strang J. Assessing Client Satisfaction with Treatment for Substance Use Problems and the Development of the Treatment Perceptions Questionnaire (TPQ). *Addict Res Theory* 2000;8:455-70.
24. Marsden J, Nizzoli U, Corbelli C, Margaron H, Torres M, Prada de Castro I, Stewart D, Gossop M. New European Instruments for Treatment Outcome Research: Reliability of the Maudsley Addiction Profile and Treatment Perceptions Questionnaire in Italy, Spain and Portugal. *Eur Addict Res* 2000;6:115-22.
25. Sabourin S, Laferrière N, Sicuro F, Coallier JC. Social desirability, psychological distress, and consumer satisfaction with mental health treatment. *J Couns Psychol* 1989;36:352-56.
26. Soelling ME, Newell TG. Effects of anonymity and experimenter demand on client satisfaction with mental health services. *Eval Program Plann* 1983;6:329-33.
27. Fiellin DA, Moore BA, Sullivan LE, Becker WC, Pantalon MV, Chawarski MC, Barry DT, O'Connor PG, Schottenfeld RS. Long-Term Treatment with Buprenorphine/Naloxone in Primary Care: Results at 2-5 Years. *Am J Addict* 2008;17:116-20.
28. Sabourin S, Bourgeois L, Gendreau P, Morval M. Self-deception, impression management, and consumer satisfaction with mental health treatment. *Psychol Assess* 1989;1:126-9.
29. Barak Y, Szor H, Kimhi R, Kam E, Mester R, Elizur A. Survey of patient satisfaction in adult psychiatric outpatient clinics. *Eur Psychiatry* 2001;16:131-3.
30. Gigantesco A, Picardi A, Chiaia E, Balbi A, Morosini P. Patients' and relatives' satisfaction with psychiatric services in a large catchment area in Rome. *Eur Psychiatry* 2002;17:139-47.
31. Alexius B, Berg K, berg-Wistedt A. Patient satisfaction with the information provided at a psychiatric emergency unit. *Patient Educ Couns* 2000;40:51-7.
32. Siponen U, Valimaki M. Patients' satisfaction with outpatient psychiatric care. *J Psychiatr Ment Health Nurs* 2003;10:129-35.
33. Perreault M, Rogers WL, Lechner P, Sabourin S. Patients' requests and satisfaction with services in an outpatient psychiatric setting. *Psychiatr Serv* 1996;47:287-92.
34. Joe GW, Simpson DD, Broome KM. Retention and patient engagement models for different treatment modalities in DATOS. *Drug Alcohol Depend* 1999;57:113-25.
35. Broome KM, Simpson DD, Joe GW. Patient and program attributes related to treatment process indicators in DATOS. *Drug Alcohol Depend* 1999;57:127-35.
36. Timko C, Moos RH. Determinants of the treatment climate in psychiatric and substance abuse programs: Implications for improving patient outcomes. *J Nerv Ment Dis* 1998;186:96-103.
37. Greener JM, Joe GW, Simpson DD, Rowan-Szal GA, Lehman WE. Influence of organizational functioning on client engagement in treatment. *J Subst Abuse Treat* 2007;33:139-47.
38. Mattick RP, Kimber J, Breen C, Davoli M. Buprenorphine maintenance versus placebo or methadone maintenance for opioid dependence. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;2:CD002207.

Droghe e internet. Risultati di un'indagine sul mercato online italiano

Giovanni Serpelloni¹, Claudia Rimondo², Diana Candio³

1 - Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

2 - Sistema Nazionale di Allerta Precoce – Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

3 - Dipartimento delle Dipendenze, Azienda ULSS 20 Verona

Obiettivi: Questo articolo descrive i risultati di un'indagine attraverso il web relativi ai siti italiani che commercializzano sostanze psicoattive illegali.

Metodi: La procedura utilizzata prevede l'individuazione sul web, attraverso il motore di ricerca Google™, di potenziali fornitori di sostanze stupefacenti; l'analisi dei contenuti del sito e la verifica della tipologia di sostanze acquistabili; la predisposizione di una segnalazione con descrittiva di quanto individuato; l'invio delle segnalazioni alle Forze dell'Ordine competenti; la verifica dell'esito delle segnalazioni; l'aggiornamento del report sull'attività di monitoraggio.

Risultati: Complessivamente in 9 mesi di attività sono stati individuati 34 siti in lingua italiana e sono state segnalate 237 pagine web. A seguito delle segnalazioni, sono stati rimossi il 44,3% degli annunci individuati e sono state chiuse il 36,7% delle pagine web segnalate, mentre il 16% dei siti è ancora visibile online. Sono ancora in corso di indagine 2 segnalazioni.

Conclusioni: Il monitoraggio web sulla vendita di sostanze stupefacenti illegali ha permesso l'individuazione e l'oscuramento di numerosi siti, contribuendo al contrasto del traffico illegale di stupefacenti in Italia.

Drugs on the net. Results of a survey on the italian web

Aims: This article describes the findings of a survey on the Italian web sites selling illegal drugs.

Methods: The methodology includes the identification of online drug retailers through the search engine Google™; the analysis of the site contents and the identification of the type of psychoactive substances offered; the preparation of a report describing the findings; the transmittal of such reports to law enforcement authorities; the verification of the outcome of the reports; the updating of the final report on the web monitoring activity.

Results: In 9 months a total of 34 Italian web sites were identified and 237 web pages were reported. 44.3% of advertisements were removed, 36.7% of the web pages were closed, while 16% of web sites are still online. Currently, 2 reported website are still under investigation.

Conclusions: The website monitoring of online drug retailers selling illegal drugs has brought to the identification and removal of several web sites and web pages, contributing to combat illegal drug trafficking in our country.

Parole chiave: Internet, cannabinoidi sintetici, vendita online, Sistema Nazionale di Allerta Precoce

Keywords: Internet, legal highs, designer drugs, synthetic cannabinoids, online drug retailer, National Early Warning System

Date: inviato: 19/06/2012 - accettato: 07/11/2012

Contatti: Dott.ssa **Claudia Rimondo**

Dipartimento delle dipendenze ULSS20 Verona

Via Germania 20 Verona – VR

Tel.: 0458076278

E-mail: crimondo@dronet.org

Background

Descrizione del fenomeno

Internet è utilizzato dal 58,7% degli italiani, mentre a livello europeo è utilizzato dal 71,5% dei cittadini¹. Un'indagine

della Commissione europea ha rilevato che Internet rappresenta una delle fonti più popolari di informazione sull'uso di droghe, in generale, e su quelle illecite tra i giovani di 15-24 anni². Ma oltre a fornire informazioni, Internet è diventato anche un mercato per la vendita di sostanze stupefacenti (le-

gali ed illegali). Il ruolo giocato da Internet come uno dei mercati principali in particolare per le nuove droghe sintetiche desta notevole preoccupazione, proprio per la capacità informativa e distributiva della rete^{3,4}.

Il fenomeno relativo alla vendita di sostanze illecite via web è balzato all'attenzione delle autorità giudiziarie americane per la prima volta verso la fine degli anni '90^{5,6}. Attualmente, le organizzazioni internazionali deputate al controllo in materia di droga (UNODC, INCB, EMCDDA) stanno monitorando le dinamiche del mercato illegale di sostanze su Internet, che offrono sostanze stupefacenti illegali, designer drugs, legal highs e prodotti farmaceutici contraffatti o contenenti sostanze psicotrope non autorizzate^{7,8,9}.

Secondo i monitoraggi dell'Osservatorio Europeo sulle Droghe e sulle Tossicodipendenze (OEDT), i siti online che commercializzano sostanze stupefacenti individuati a gennaio 2010 erano 170, a gennaio 2011 erano 314, a luglio 2011 sono raddoppiati passando a 638. A gennaio 2012 hanno raggiunto quota 690, quadruplicando il loro numero nel corso di soli 2 anni¹⁰. I principali paesi in cui si registra la maggiore concentrazione di questi siti online sono gli Stati Uniti (31,2%) e il Regno Unito (19,1%)⁸. Ad oggi, l'INCB ha registrato 12.000 segnalazioni di sequestri di sostanze stupefacenti controllate a livello internazionale, ordinate su Internet e inviate tramite posta¹¹.

Vantaggi di Internet

Internet è uno strumento che offre numerosi vantaggi e ben si presta alla commercializzazione di sostanze stupefacenti online. Infatti, fornisce l'accesso ad un gruppo potenzialmente infinito di clienti in tutto il mondo, non richiede particolari investimenti da parte dei fornitori che riescono a gestire le proprie operazioni in modo rapido e semplice, garantisce l'anonimato, è sempre aperto 24 ore su 24 e offre la possibilità ai consumatori di acquistare i prodotti in luoghi differenti (casa, lavoro, scuola, ecc.)¹². Internet fornisce, inoltre, una grande quantità di informazioni sulle sostanze psicoattive, anche se spesso sono imprecise, inaffidabili e fuorvianti¹³. I prodotti acquistati vengono spediti direttamente a casa, in confezioni che garantiscono l'anonimato non solo del contenuto, ma anche del mittente. Esistono inoltre sistemi di comunicazione anonima per Internet che tutelano la privacy di chi naviga e rendono impossibile per un osservatore esterno ricostruire a ritroso le connessioni¹⁴.

Svantaggi di Internet

In generale, l'acquisto di farmaci o sostanze psicoattive su Internet espone gli acquirenti ad un alto rischio per la salute, poiché non esiste virtualmente una garanzia sulla sicurezza dei prodotti acquistati¹⁵. Infatti, oltre alla nocività delle stesse sostanze psicoattive, spesso cambia la composizione degli ingredienti riferiti al medesimo prodotto. Davies e colleghi hanno esaminato la composizione biochimica di una serie di campioni di sostanze 'legal highs' reperibili via Internet nel Regno Unito, evidenziando come la quantità di principio attivo vari notevolmente da lotto a lotto¹⁶. Uno studio simile, condotto da Baron e colleghi, ha riscontrato che su 7 prodotti del tipo 'legal highs' acquistati via Internet, 6 non contenevano i principi attivi dichiarati e 5 contenevano una sostanza illegale e sotto controllo, la benzilpiperazina¹⁷. Ne consegue che l'acquisto sul web di prodotti che dovrebbero contenere solo sostanze legali non costituisce una garanzia in merito a ciò che si acquista e a ciò che è contenuto nel prodotto stesso¹⁸.

Secondo Schmidt il 40% dei prodotti disponibili online su siti inglesi omette di elencare gli ingredienti, il 92% non indica

gli effetti collaterali, l'82% omette le controindicazioni, l'86% omette le interazioni farmacologiche esponendo gli utilizzatori a gravi pericoli per la salute¹⁹. Secondo l'indagine di Hillebrand, il 40% dei siti non contiene informazioni sui potenziali effetti nocivi delle sostanze vendute, e circa il 50% fornisce avvertenze solo sull'uso concomitante con alcol e medicinali². Inoltre, l'acquisto online non fornisce alcuna sicurezza sull'effettiva consegna della merce e l'acquirente corre il rischio di spendere soldi senza ricevere il prodotto richiesto¹⁶.

Quali sostanze

I siti che vendono sostanze psicoattive, tra cui anche sostanze illegali, riportano spesso descrizioni poco chiare dei prodotti venduti, definiti come prodotti chimici di ricerca, cibo vegetale, sali da bagno, incensi, profumatori d'ambiente, fertilizzanti e, quindi, spacciati come innocui e legali^{8,20,21,22}. Nel 2011 tra le sostanze psicoattive individuate con maggiore frequenza sul web appaiono prodotti di origine vegetale (Kratom, salvia, funghi allucinogeni) o droghe sintetiche tabellate come i catinoni sintetici mefedrone e MDPV, i cannabinoidi sintetici AM-2201 e i JWH-018, JWH-122, JWH-250^{23,24}. Secondo il rapporto dell'INCB 2011, tra le sostanze illecite acquistate online con più frequenza figurano cannabis, khat, amfetamine, cocaina, eroina e il cannabinoide sintetico JWH-122¹¹.

Obiettivi dello studio

Anche in Italia sono aumentate le segnalazioni di intossicazioni riconducibili alla comparsa di miscele vegetali acquistabili via Internet e contenenti cannabinoidi e catinoni sintetici, molto più potenti del normale THC. Nell'ambito del Sistema Nazionale di Allerta Precoce del Dipartimento Politiche Antidroga della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dal 2010 sono stati registrati ben 36 casi di intossicazione acuta correlata alla loro assunzione^{25,26}. In questo contesto il Dipartimento Politiche Antidroga ha dunque attivato un'unità di monitoraggio del web nell'ambito del Sistema Nazionale di Allerta Precoce, che opera in collaborazione con la Direzione Centrale per i Servizi Antidroga e il Nucleo Antisofisticazioni di Roma²⁷. L'obiettivo è individuare i siti in lingua italiana o dall'Italia che commercializzano sostanze illegali inserite nella Tabella I delle sostanze stupefacenti (DPR 309/90 e s.m.i.), e segnalarli alle Forze dell'Ordine competenti al fine di attivare opportuni controlli che possano condurre alla chiusura di tali siti, riducendo quindi l'offerta di sostanze illecite e pericolose per la salute dei consumatori.

Metodi

Unità di monitoraggio web

Il monitoraggio dei siti che commercializzano sostanze psicoattive, a cadenza settimanale, è stato affidato ad una specifica unità di monitoraggio web, del Sistema Nazionale di Allerta Precoce del Dipartimento Politiche Antidroga. L'unità ha il compito di: individuare i siti su cui vengono commercializzate sostanze illecite e identificare i potenziali fornitori; analizzare i contenuti del sito e verificare la tipologia di sostanze acquistabili; predisporre la segnalazione relativa all'individuazione del sito per le Forze dell'Ordine; inviare la segnalazione agli uffici competenti; verificare l'esito delle segnalazioni (chiusura delle pagine web, rimozione delle offerte, ecc.); aggiornare il report sull'attività di monitoraggio del web.

Criteri di ricerca

Il monitoraggio della rete viene effettuato prendendo come target siti facilmente accessibili ad un qualsiasi utente interessato all'acquisto di sostanze stupefacenti. La ricerca viene

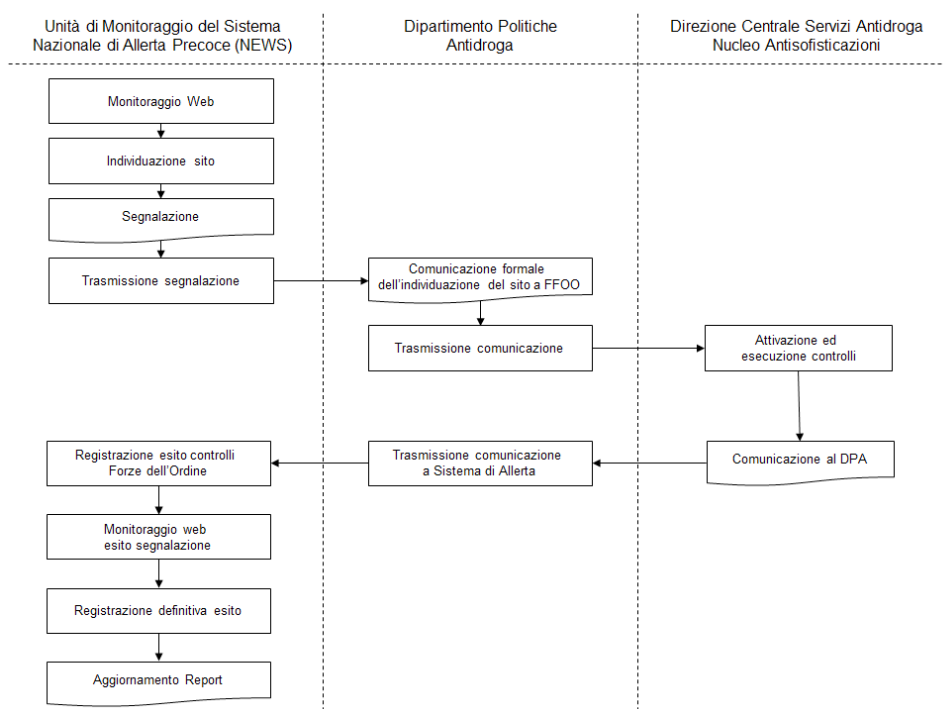


Fig.a 1- Flowchart della procedura di segnalazione di siti che commercializzano sul web sostanze stupefacenti illecite. Le attività sono ripartite in base alle competenze dell'unità di monitoraggio, del Dipartimento Politiche Antidroga e delle Forze dell'Ordine coinvolte.

effettuata attraverso Google™, in base alla sua rilevanza e diffusione. Google™ infatti è un motore di ricerca tra i più popolari per i navigatori del web, con una copertura pari ad oltre l'80% di tutti gli utenti Internet e fornisce un livello soddisfacente di rilevanza dei risultati²⁸. I termini di ricerca utilizzati sono i nomi delle sostanze psicoattive, ricercati sia in italiano che in inglese (ad esempio: “mefedrone” o “mephedrone”) oppure la combinazione di più termini come “compro+mefedrone”.

I criteri di inclusione dei risultati della ricerca prevedono che i siti siano in lingua italiana o siano localizzati su server italiani. Questo al fine di poter dare seguito alle segnalazioni, secondo quanto previsto dal Decreto Legislativo 9 aprile 2003 n.70 in materia di commercio elettronico. Stabilire la localizzazione geografica dei siti online non è sempre agevole, ma risulta possibile attraverso il recupero di informazioni come l'indirizzo, i contatti telefonici, il codice postale o l'estensione del dominio “.it”.

Segnalazione ed esito

Una volta individuato un sito di potenziale interesse ai fini del monitoraggio, ne vengono analizzati i contenuti e verificati i seguenti elementi: l'offerta di sostanze psicoattive illegali, la tipologia di sostanze in vendita, la presenza di eventuali descrizioni dei prodotti e di avvertenze sanitarie, la segnalazione dei costi, la presenza di un identificativo dell'offerente e di contatti e-mail, skype, indirizzo web, numeri di telefono. Si è provato inoltre a simulare l'acquisto di sostanze stupefacenti contattando l'inserzionista via e-mail, secondo il format di contatto fornito negli annunci di vendita, al fine di verificare l'effettiva disponibilità delle sostanze pubblicizzate. L'acquisto è stato interrotto al momento della richiesta degli estremi della carta di credito.

A questo punto viene predisposta una segnalazione dove sono riportate tutte le informazioni utili individuate: le sostanze illecite commercializzate, le caratteristiche del sito, i link dei potenziali fornitori individuati, la località riferita dove l'attiv-

ità pare abbia luogo e i contatti riportati. Una volta predisposta, la segnalazione viene indirizzata alla Direzione Centrale dei Servizi Antidroga e al Nucleo Antisofisticazioni e Sanità dell'Arma dei Carabinieri. Ricevuta la segnalazione, le Forze dell'Ordine competenti attivano i necessari accertamenti del caso, a seguito dei quali possono disporre la chiusura delle pagine web o la rimozione degli annunci segnalati. A conclusione degli accertamenti, le Forze dell'Ordine ne comunicano l'esito al Dipartimento Politiche Antidroga. L'Unità di monitoraggio verifica l'esito delle segnalazioni utilizzando come riscontro la comunicazione delle Forze dell'Ordine, l'oscuramento delle pagine sul web o la rimozione delle offerte online segnalate. L'attività si conclude con l'aggiornamento periodico del report che raccoglie i risultati ottenuti attraverso l'attività di monitoraggio (figura 1).

Risultati

Risultati del monitoraggio

Complessivamente in 9 mesi di attività (agosto 2011 – aprile 2012) sono stati individuati 34 siti web in lingua italiana e con server localizzato all'interno dei confini nazionali, e sono state segnalate 237 offerte commerciali di sostanze illecite sul web. Le segnalazioni alle Forze dell'Ordine dei siti che vendono sostanze poste sotto controllo hanno avuto come esito nel 44,3% dei casi la rimozione dell'annuncio e nel 36,7% dei casi la chiusura della pagina web. Ciò significa che nell'81% dei casi tali annunci sono stati interdetti alla consultazione web e resi inaccessibili ai potenziali acquirenti. In alcuni casi le Forze di Polizia non hanno potuto procedere sulla base delle segnalazioni fatte e le offerte commerciali risultano ancora visibili online (16%). Questo perché non c'erano elementi sufficienti tali da permettere un effettivo intervento, ad esempio quando il server del sito segnalato era localizzato fuori dai confini italiani, come nel caso di siti quali Wipeout (<http://www.ideabm.com/ita/>) o Etnogrow (<http://www.etnogrow.com>).

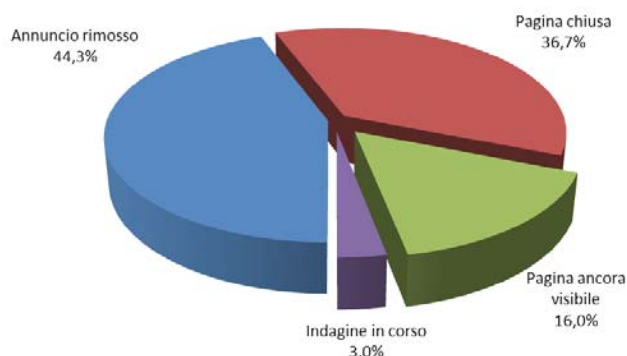


Grafico 1: Esito delle segnalazioni dei siti che commercializzano sul web sostanze stupefacenti illegali.

com/index.php). Infine, risultano in corso di indagine 2 segnalazioni (grafico 1).

Sostanze illegali individuate

Grazie all'attività di monitoraggio, sono state individuate complessivamente 29 differenti sostanze illecite e farmaci venduti senza prescrizione medica. Nella fattispecie, è stata riscontrata l'offerta di catinoni sintetici come mefedrone (4-metilmefcatinone), MDPV (3,4-metilendiospirovalerone) e butilone (bk-MBDB); di cannabinoidi sintetici (JWH-018,

JWH-073, JWH-122, JWH-203, JWH-250 e analoghi strutturali) e analoghi benzoil indoli (RCS-4, AM-2201, AM-694, Eric-4); di derivati fenetilamminici (2C-B, 2C-I, 2C-T-2, 2C-T-7, Bromo Dragon Fly, 4 metilamfetamina). Altre sostanze psicoattive note come Ketamina, cocaina, MDMA, LSD, marijuana, oltre a farmaci che non possono essere venduti senza prescrizione medica (Xanax, Valium, ossicodone, metadone, idrocodone, morfina).

Caratteristiche dell'annuncio

Il monitoraggio su web ha condotto a focalizzare l'attenzione su una particolare tipologia di siti che commercializzano sostanze psicoattive: le bacheche di inserzioni gratis. Si tratta di portali dove è possibile pubblicare annunci di diversa tipologia, spesso senza richiedere una registrazione obbligatoria dell'inserzionista. Gli inserzionisti sono i soli responsabili dei propri annunci e i siti declinano ogni responsabilità riguardo a prodotti o servizi offerti negli annunci. Le offerte commerciali, oltre a contenere un elenco delle sostanze psicoattive in vendita spesso riportano immagini rappresentative delle sostanze, al fine di stimolare la vendita e rendere l'offerta commerciale più accattivante (fig. 2). Raramente l'inserzione contiene indicazioni relative ai costi dei prodotti in vendita: per questi aspetti spesso si rimanda al contatto tramite e-mail con l'inserzionista. Inoltre, in alcuni casi vengono segnalati ulteriori indirizzi di siti Internet, generalmente in lingua inglese, presso i quali è possibile acquistare altre sostanze illecite.

Gli annunci raramente contengono una descrizione degli effetti

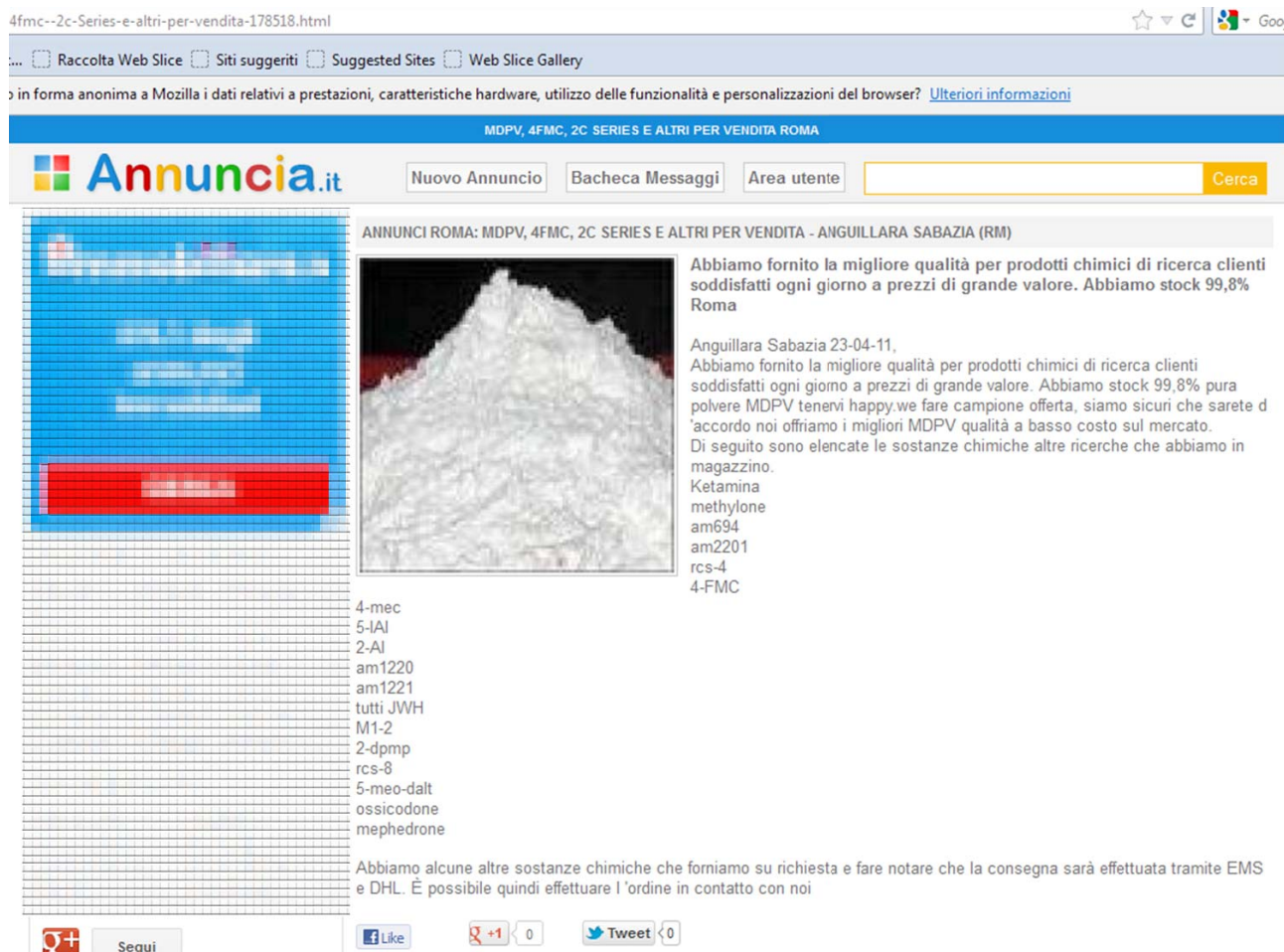


Fig. 2 - Screenshot di un'offerta commerciale per la vendita di sostanze illecite individuata sul web e segnalata alle Forze dell'Ordine.

di tali sostanze sull'uomo. Allo stesso modo, non sono presenti avvertenze di carattere sanitario che informino il potenziale acquirente degli effetti nocivi che possono derivare dall'assunzione. Più frequentemente, invece, si trovano rassicurazioni sull'affidabilità, la puntualità e la discrezione del fornitore.

Discussione

Aspetti legislativi

La fluidità che caratterizza il cyber-spazio rende Internet un luogo attrattivo per il traffico illecito di sostanze stupefacenti, dando vita ad una sfida sempre più complessa per le Forze dell'Ordine²⁹. Infatti, il traffico illecito di sostanze stupefacenti su web permette l'anonimato dei fornitori e riduce, di conseguenza, le probabilità di identificazione. Le bacheche di inserzioni gratis, ad esempio, spesso non richiedono una registrazione obbligatoria dell'inserzionista per pubblicare gli annunci, attirando quindi l'attenzione dei trafficanti online di sostanze illegali. Questi siti declinano ogni responsabilità legale, dichiarando che non possono essere inseriti annunci con scopi illeciti (ad esempio vendita di droghe) e che ogni inserzionista è responsabile degli eventuali illeciti in relazione ai propri annunci³⁰. In caso di violazione delle condizioni del servizio l'annuncio viene rimosso e l'inserzionista viene segnalato alle autorità competenti, se identificabile.

A ciò si aggiunge la rapidità con cui è possibile trasferire i server da un Paese all'altro, rendendoli quindi difficilmente localizzabili¹². Inoltre, risulta molto difficile applicare i controlli sui prodotti venduti su Internet, poiché i rivenditori online possono facilmente eludere la legislazione nazionale rifornendosi da altri Paesi dove tali sostanze non sono ancora illegali. La velocità con cui il mercato illecito delle droghe offre nuove sostanze per eludere la normativa in materia di droga suggerisce che i trafficanti abbiano a disposizione un assortimento di composti chimici sostitutivi^{31,32}. A seguito dell'alta richiesta di droghe sintetiche, questa viene soddisfatta immettendo sul mercato composti chimici non ancora vietati^{33,34}.

Acquisto online di droghe

In Italia gli accessi a siti dedicati alla vendita di droga sono aumentati del 40% negli ultimi sei mesi del 2009²⁵. Il fenomeno di acquisto di sostanze stupefacenti online si è accentuato, soprattutto in seguito alla diffusione di prodotti contenenti cannabinoidi e catinoni sintetici. Nel 2010, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce ha registrato nel nostro Paese ben 36 casi di intossicazione acuta correlati all'assunzione di queste sostanze^{25,26}. Casi analoghi sono stati riportati anche per altre sostanze acquistate online, tra cui il mefedrone, che nel Regno Unito è già stato correlato al decesso di oltre 20 soggetti^{21,24,35}. Monitorando forum, blog e chat, è emerso che gli utenti Internet preferiscono le nuove droghe sintetiche acquistabili online non solo per la ricerca dei loro effetti, ma anche per la difficoltà di rilevarle nei fluidi corporei, per l'elevata accessibilità, per la presunta legalità degli ingredienti e perché spesso vengono percepite dagli acquirenti come sostanze sicure^{22,36,37}.

I rischi per i giovani

Un altro aspetto che desta particolare preoccupazione riguarda la facilità con cui gli adolescenti possono acquistare sostanze stupefacenti su questi siti, facilitati dall'anonimato offerto dalla rete^{7,38}. Inoltre, non si deve sottovalutare la proliferazione online di informazioni relative alle droghe e la ricerca di tali informazioni da parte dei giovani, che in alcuni casi può anche indurre e incentivare la sperimentazione di tali sostanze^{5,13,38,39,40}. Secondo uno studio condotto su circa 1.600 siti che trattano l'argomento, il 18% ha un approccio

“pro droga”, il 10% offre la possibilità di acquistare droga o oggetti funzionali al consumo di sostanze, il 9% fornisce informazioni dettagliate sulle tecniche per sintetizzare i composti⁴¹. I giovani, quindi, risultano esposti a migliaia di siti che diffondono informazioni sulle droghe, che promuovono gli effetti piacevoli di sostanze psicoattive o, al contrario, diffondono messaggi di prevenzione^{42,43,44,45}. Secondo un'indagine nazionale americana circa il 10% dei giovani tra i 12-18 anni è stato esposto a siti pro e/o contro le droghe. I giovani che avevano visitato siti ‘pro droga’ avevano anche una percezione bassa o nulla del rischio di provare marijuana e spesso avevano già sperimentato la sostanza³⁹.

Problema di salute pubblica

La disponibilità su Internet di sostanze stupefacenti e farmaci senza prescrizione rappresenta un grave problema dal punto di vista sanitario. Innanzi tutto perché le sostanze psicoattive espongono i consumatori ad un alto rischio di sviluppare dipendenza^{38,46,47}. In secondo luogo perché, in caso di intossicazione, la mancanza di informazioni precise relative ai principi attivi contenuti nei prodotti acquistati online rende difficile per i medici formulare una diagnosi precisa e, quindi, provvedere ad un soccorso immediato del paziente salvandogli anche la vita⁴⁸.

Limiti dello studio

Alcuni limiti dell'indagine derivano dall'utilizzo di un unico motore di ricerca (Google™) per individuare potenziali fornitori che commercializzano attraverso il web sostanze stupefacenti illegali. Le statistiche relative ai motori di ricerca mostrano che Google è il motore più usato in rete (ore di utilizzo, numero di ricerche)²⁸. Tuttavia, l'impiego di altri motori di ricerca avrebbe potuto contribuire ad identificare un maggior numero di siti italiani.

La prossima indagine, che potrà avvalersi di un periodo di monitoraggio più esteso e dell'utilizzo di più motori di ricerca, potrebbe considerare anche la messaggistica contenuta in chat e forum nel caso in cui questa rimandasse a siti che rientrano nei criteri di inclusione ai fini dello studio. Sarebbe interessante, inoltre, poter condurre analisi tossicologiche regolari sui prodotti acquistati online al fine di stabilire gli ingredienti ed individuare eventuali rischi per la salute.

Conclusioni

Internet rappresenta ormai una fonte affermata attraverso la quale reperire sostanze psicoattive il cui controllo è molto difficile a causa delle caratteristiche stesse della rete, che pone grosse sfide sia di contrasto nella lotta alla droga che di carattere sanitario⁴⁹.

L'attività di monitoraggio su web inserita nell'ambito del Sistema Nazionale di Allerta Precoce del Dipartimento Politiche Antidroga, ha evidenziato come l'acquisto online di sostanze sia attuale e diffuso anche nel nostro Paese. Sulla base delle nostre informazioni, questo è il primo studio italiano che si propone di monitorare tale fenomeno su siti in lingua italiana. L'indagine ha permesso di individuare e oscurare un certo numero di siti e pagine online e di raccogliere una serie di informazioni che possono essere utili per i professionisti che operano nell'ambito della salute pubblica, poiché descrivono trend di consumo, tendenze emergenti e diffusione di nuove droghe per uso ricreazionale^{5,41}.

Il monitoraggio online, quindi, si rivela un utile strumento per esaminare i trend epidemiologici relativi al consumo di sostanze acquistate su Internet nel nostro Paese, per contrastare il traffico illecito di stupefacenti sul web e quindi, per preservare la

popolazione dei consumatori da possibili episodi di intossicazione acuta che potrebbero mettere a repentaglio la loro salute.

Bibliografia

1. Internet World Stats 2011 (consultato in data 01/03/2012, <http://www.internetworldstats.com/>).
2. Hillebrand J, Olszewski D, Sedefov R (2010) Legal Highs on the Internet, *Substance Use & Misuse*, 45:330–340.
3. Corazza O, Schifano F, Farre M et Al. (2011). Designer drugs on the internet: a phenomenon out-of-control? The emergence of hallucinogenic drug Bromo- Dragonfly. *Curr. Clin. Pharmacol.* 6,125–129.
4. Kelleher C, Christie R, Lalor K et Al. (2011) An Overview of New Psychoactive Substances and the Outlets Supplying them, Centre for Social and Educational Research, Dublin Institute of Technology.
5. Forman RF, Marlowe DB, McLellan AT (2006a) The Internet as a source of drugs of abuse. *Curr Psychiatry Rep.* Oct; 8(5):377-82.
6. International Narcotics Control Board (INCB), Globalization and new technologies: challenges to drug law enforcement in the twenty-first century, in: Report of the International Narcotics Control Board for 2001, UN 2002.
7. International Narcotics Control Board (INCB), Guidelines for Governments on Preventing the Illegal Sale of Internationally Controlled Substances through the Internet, New York 2009.
8. Osservatorio Europeo sulle Droghe e sulle Tossicodipendenze (2011a), Online sales of new psychoactive substances/'legal highs': summary of results from the 2011 multilingual snapshots, Lisbon.
9. Schifano F, Ricciardi A, Corazza O, & Gruppo di Ricerca Psychonaut Web Mapping (2010) Nuove sostanze d'abuso sul Web: il ruolo dello Psychonaut Web Mapping Project [New drugs and the role of the Web: Psychonaut Web Mapping Project]. *Riv Psichiatr Mar-Apr;45(2):88-93.*
10. EMCDDA–Europol 2011 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA–Lisbon, April 2012.
11. International Narcotics Control Board (2012), Illegal Internet pharmacies and seizures of licitly manufactured substances ordered via the Internet and delivered through the mail, in: Report of the International Narcotics Control Board for 2011.
12. Forman RF (2006b) Narcotics on the Net: The Availability of Web Sites Selling Controlled Substances, *Psychiatric Services* 57:24–26.
13. Wax PM (2002) Just a Click Away: Recreational Drug Web Sites on the Internet, *Pediatrics* 109:e96.
14. Murdoch SJ, Danezis G (2005) Low-cost traffic analysis of TOR, Symposium on Security and Privacy, May 8–11, Oakland, California, USA.
15. Liang BA, Mackey T (2009) Searching for Safety: Addressing Search Engine, Website, and Provider Accountability for Illicit Online Drug Sales, *American Journal of Law & Medicine*, 35:125-184.
16. Davies S, Wood DM, Smith G (2010) Purchasing 'legal highs' on the Internet—is there consistency in what you get? *Q J Med* 103:489–493.
17. Baron M, Elie M, Elie L. (2011) Analysis of legal highs – do they contain what it says on the tin? *Drug Testing and Analysis*.
18. Ramsey J, Dargan PI, Smyllie M (2010) Buying 'legal' recreational drugs does not mean that you are not breaking the law, *Q J Med* 103:777–783.
19. Schmidt MM, Sharma A, Schifano F (2011) "Legal highs" on the net—Evaluation of UK-based Websites, products and product information, *Forensic Science International*, 206:92–97.
20. Dennehy CE, Tsourounis C, Miller AE. (2005) Evaluation of herbal dietary supplements marketed on the internet for recreational use. *Ann Pharmacother*, 39:1634–9.
21. Winstock AR, Mitcheson LR, Deluca P et Al. (2010b) Mephedrone, new kid for the chop? *Addiction*, 106, 154–161.
22. Schifano F, Corazza O, Deluca P et Al (2009) Psychoactive drug or mystical incense? Overview of the online available information on Spice products, *International Journal of Culture and Mental Health* Volume 2, Issue 2.
23. Osservatorio Europeo sulle Droghe e sulle Tossicodipendenze (2011b), Relazione annuale 2011: evoluzione del fenomeno della droga in Europa, Lisbona.
24. Dipartimento Politiche Antidroga (2011), Sistema Nazionale di Allerta Precoce, in: Relazione annuale al Parlamento 2011 sull'uso di sostanze stupefacenti e sulle tossicodipendenze in Italia, 381-384.
25. Sistema Nazionale di Allerta Precoce (2011), Il fenomeno dei cannabinoidi sintetici e le azioni di contrasto e controllo degli smart shop, Dipartimento Politiche Antidroga, Roma.
26. Lonati D, Buscaglia E, Vecchio S et Al. (2012) Cannabinoidi e catinoni sintetici: aspetti clinici, 16° Congresso Nazionale della Società Italiana di Tossicologia, Giardini Naxos (consultato in data 02/05/2012, http://www.sitox.org/congresso_12/congresso_abs_view.php?id=132).
27. Dipartimento Politiche Antidroga 2012 (consultato in data 02/05/2012, <http://www.politicheantidroga.it/progetti-e-ricerca/progetti-dpa/sezione-6---sistema-di-allerta-e-innovazione-tecnologica/64-droga-in-internet--/presentazione.aspx>).
28. Search Engine Watch 2012 (consultato in data 13/03/2012, <http://searchenginewatch.com/>).
29. Winstock A, Ramsey J (2010a) Legal highs and the challenges for policy makers. *Addiction*, 105(10):1685- 1687.
30. Annunci gratuiti (2012), Condizioni del servizio (consultato in data 23/03/2012, <http://www.annunci-gratuiti.it/condizioni.html>).
31. Lindigkeit R, Boehme A, Eiserloh I et Al. (2009) Spice: a never ending story? *Forensic Sci. Int.* 191, 58–63.
32. Dargan PI, Hudson S, Ramsey J, Wood DM (2011), The impact of changes in UK classification of the synthetic cannabinoid receptor agonists in "spice", *Int. J. Drug Policy* 22, 274-277.
33. United Nations Office on Drugs and Crime (2011), World Drug Report, 2010.
34. Zawilska JB (2011), "Legal highs" – new players in the old drama. *Curr. Drug Abuse Rev.* 4, 122–130.
35. Newcombe R (2009), The Use of Mephedrone (M-cat, Meow) in Middlesbrough. Lifeline Publications and Research, Manchester UK.
36. Fattore L, Fratta W (2011) Beyond THC: the new generation of cannabinoid designer drugs, *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5(60):1-12.
37. Serpelloni G, Rimondo C (2012), Droghe online e monitoraggio del web, 16° Congresso Nazionale della Società Italiana di Tossicologia, Giardini Naxos (consultato in data 02/05/2012, http://www.sitox.org/congresso_12/congresso_abs_view.php?id=141).
38. Schepis TS, Marlowe DB, Forman RF (2008) The availability and portrayal of stimulants over the Internet, *J Adolesc Health.* May 42(5): 458–465.
39. Belenko S (2009) Online Illegal Drug Use Information: An Exploratory Analysis of Drug-Related Website Viewing by Adolescents. *Journal of Health Communication* 14(7).
40. Boyer EW, Shannon M, Hibberd PL (2005) The Internet and Psychoactive Substance Use Among Innovative Drug Users *Pediatrics* Vol. 115 No. 2 February 1, pp. 302 -305.
41. Schifano F, Deluca P, Baldacchino A (2006) Drugs on the web; the Psychonaut 2002 EU project, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30:640 – 646.
42. Vardakou I, Pistos C, Spiliopoulou Ch (2011) Drugs for youth via Internet and the example of mephedrone. *Toxicol Lett.* Mar 25;201(3):191-5.
43. Deluca P, Schifano F and the Psychonaut research group (2007) Searching the Internet for drug related websites; analysis of online available information on ecstasy (MDMA), *The American Journal on Addictions*, 16: 479–483.
44. Borzekowski D (2006) Adolescents' Use of the Internet: A Controversial, Coming-of-Age Resource, *Adolesc Med Clin*, 17:205-216.
45. Sun P, Unger JB, Palmer PH (2005) Internet Accessibility and Usage among Urban Adolescents in Southern California: Implications for Web-Based Health Research, *CyberPsychology & Behavior*, 8(5): 441-453.
46. Dargan PI, Wood DM (2010), Novel and emerging recreational drugs. *Toxicology Letters* 196, 16.
47. Linell M (2010), Case study. Use of mephedrone in a Northern Town. The Lifeline project. Oral evidence to the ACMD.
48. la Repubblica (25/03/2012), Donna morta a Barletta, tre indagati e ora è caccia al farmaco killer, (consultato in data 26/03/2012, http://www.repubblica.it/cronaca/2012/03/25/news/donna_morta_a_barletta_tre_indagati_e_ora_caccia_al_farmaco_killer-32203947/).
49. Gordon SM, Forman RF, and Siatkowski C (2006) Knowledge and use of the internet as a source of controlled substances. *J Subst Abuse Treat*, 30(3):271-274.

Studio degli effetti acuti e cronici e delle proprietà d'abuso del cannabinoide sintetico JWH-018: un approccio multidisciplinare*

Maria Antonietta De Luca¹, Matteo Marti²

¹ - Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Cagliari - INN, Istituto nazionale di Neuroscienze

² - Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Ferrara - INN, Istituto nazionale di Neuroscienze

Il cannabinoide sintetico JWH-018 è stato analiticamente individuato in miscele a base di erbe, commercializzate con differenti nomi, da fumare in alternativa alla Cannabis. In questo lavoro abbiamo voluto studiare le proprietà di gratificazione del JWH-018 mediante la microdialisi cerebrale in vivo ed il comportamento di autosomministrazione endovenosa (AS) in due diversi gruppi di ratti maschi Sprague-Dawley.

Negli studi di microdialisi abbiamo osservato che JWH-018, alla dose di 0,25 mg/kg ip, stimola il rilascio di dopamina (DA) extracellulare preferenzialmente nella shell del nucleo accumbens (NAc) rispetto al core e alla PFCX e l'effetto è bloccato dall'agonista inverso/antagonista del recettore CB1, SR 141716A (1 mg/kg ip 30 min prima di JWH-018). Negli studi di AS, i ratti impiantati con un catetere nella giugulare sono stati allenati ad autosomministrarsi JWH-018 (20 µg/kg/inf iv) in sessioni giornaliere di 1 ora ciascuna secondo una schema di rinforzo iniziale a rapporto fisso (Fixed Ratio) FR-1, successivamente aumentato a FR-3. Abbiamo osservato che i nose-pokes attivi effettuati per ottenere il JWH-018 erano significativamente maggiori rispetto a quelli inattivi (acquisizione) e che l'effetto di rinforzo era bloccato da SR 141716A. Quando il veicolo è stato sostituito al JWH-018 (estinzione), abbiamo osservato una sola una lieve riduzione nel comportamento di AS. Al contrario, il ripristino delle infusioni di JWH-018, ha aumentato significativamente il grado di risposta ed il numero di iniezioni (riacquisizione). Questi risultati suggeriscono che il JWH-018 mostra, in analogia con altre sostanze d'abuso, le proprietà di stimolare preferenzialmente il rilascio di DA nella shell del NAc e di essere autosomministrato dagli animali da esperimento. Inoltre, per una più completa caratterizzazione farmacologica, abbiamo effettuato degli studi comportamentali nel topo CD-1 per valutare gli effetti di JWH-018 nel controllo di alcuni parametri fisiologici. Gli studi hanno mostrato che il JWH-018 (0.1-3 mg/kg ip) riproduce anche nel modello murino la tipica tetraide di effetti che caratterizzano la sintomatologia acuta in seguito alla assunzione di cannabinoidi, quali l'ipotermia, l'innalzamento della soglia al dolore, la marcata catalessia ed ipocinesia dell'animale. Tutti gli effetti erano bloccati dall'antagonista selettivo dei recettori CB-1 AM251 (3 mg/kg ip).

Study of the acute and chronic effects and abuse properties of the synthetic cannabinoid JWH-018: a multidisciplinary approach.

The synthetic cannabinoid JWH-018 has been analytically identified in a smokable herbal mixture marketed under many brand names as alternatives to Cannabis. Here we investigated the rewarding properties of JWH-018 by in vivo microdialysis and intravenous self-administration behavior (SA) in separate groups of male Sprague-Dawley rats.

In microdialysis studies, we observed that JWH-018, at the dose of 0.25 mg/kg ip, preferentially stimulates extracellular dopamine (DA) release in the nucleus accumbens (NAc) shell with respect to core and PFCX and this effect was blocked by CB1 receptor antagonist/inverse agonist SR 141716A (1 mg/kg ip 30 min before JWH-018). In SA studies, rats implanted with a jugular catheter were trained to self-administer JWH-018 (20 µg/kg/inf iv) in single daily 1h session under an initial Fixed Ratio (FR) 1 schedule, then increased to FR-3. Active nose-poking significantly increased over inactive ones (acquisition phase) and the reinforcing effect was blocked by SR 141716A. When vehicle was substituted for JWH-018 (extinction phase), a low reduction of SA behavior was observed. The replacement of vehicle with JWH-018, significantly increased the rate responding and the number of injections (reacquisition phase). These results suggest that the JWH-018 shares with other drugs of abuse the property of stimulating preferentially NAc shell DA and of being self-administered by rats.

* Questo articolo è stato presentato, dagli autori, presso la Scuola Nazionale sulle Dipendenze, promossa dal Dipartimento Politiche Antidroga della Presidenza del Consiglio dei Ministri, come tesi di fine corso, anno accademico 2012.

Furthermore for a more comprehensive pharmacological characterization we have carried out behavioral studies in CD-1 mice in order to assess the effects of JWH-018 in the control of some physiological parameters. Studies have shown that the JWH-018 (0.1-3 mg/kg ip) reproduces even in mouse model the typical tetrad effects that characterize the acute symptoms following the assumption of cannabinoids, such as hypothermia, the increase of the pain threshold, the marked catalepsy and hypokinesia of the animal. All effects were blocked by the selective CB1 receptor antagonist AM251 (3 mg/kg ip).

Parole chiave: tossicodipendenza, JWH-018, microdialisi cerebrale, dopamina, autosomministrazione, analisi comportamentale

Keywords: drug abuse, JWH-018, brain microdialysis, dopamine, self-administration, behavioral analysis

Contatti: Dott.ssa **Maria Antonietta De Luca**
Dipartimento di Scienze Biomediche,
Università degli Studi di Cagliari
e-mail: deluca@unica.it

Introduzione

I cannabinoidi sintetici, già a partire dal 2004, sono stati identificati in miscele di varie erbe, herbal blend, vendute attraverso internet e in negozi specializzati (smart shops) con diversi nomi (Spice, nJoy, Blaze, Orange, Lilla) (Mc Lachlan, 2009). Le herbal blend vengono consumate mediante inalazione per i loro effetti psicoattivi simili a quelli indotti della Cannabis e come alternativa alla marijuana per eludere i controlli di screening tossicologico-forensi. Tuttavia, proprio le analisi forensi hanno identificato all'interno delle miscele delle herbal blend diversi e potenti agonisti sintetici dei recettori cannabinoidi (Auwarter et al., 2009). Questi appartengono alla grande classe degli aminoalchilindoli suddivisi in naftoilindoli (JWH-018, JWH-015, JWH-073, JWH-122, JWH-210, WIN-55212), fenilacetilindoli (JWH-250 e JWH-251), naftilmetilindoli e benzoilindoli (pravadolina, AM-694, RSC-4). Inoltre, sono presenti nelle preparazioni sequestrate (EMCDDA 2009) anche molecole a struttura cicloesilfenolica o 3-arilcicloesanolici (CP-47497, CP-55940, CP-55244). Fra di essi uno in particolare, chiamato JWH-018 (1-Pentyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenylmethanone), è risultato sempre presente benché in quantità differenti a seconda del tipo di herbal blend analizzata (Fig. 1).

Il JWH-018 venne sintetizzato per scopi puramente scientifici nel 1995 da John William Huffman, dal quale prende il nome, presso i laboratori della Clemson University (USA). Il JWH-018 è un potente agonista dei recettori cannabinoidi CB1 e CB2 (Chin et al., 1999; Huffman et al., 2005; Atwood et al., 2010) e produce in vivo effetti simili a quelli dei cannabinoidi naturali come il Δ^9 -tetraidrocannabinolo (THC). Infatti, è grazie alla sua elevata affinità per i recettori dei can-

nabinoidi CB1 e CB2 (rispettivamente di circa quattro e dieci volte maggiore rispetto a quella del THC) (Showalter et al., 1996; Atwood et al., 2010) che le herbal blend contenenti JWH-018 producono gli stessi effetti della Marijuana ma amplificati e più intensi. Inoltre, i report clinici presentati dal European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA 2009) e raccolti in Italia dal Sistema di Allerta Precoce del Dipartimento Politiche Antidroga (DPA; <http://www.allertadroga.it>; <http://www.dronet.org/>) evidenziano una serie di effetti collaterali lievi e gravi che vanno da mal di testa, vomito e paranoia, fino a tachicardia, convulsioni, panico, psicosi ed allucinazioni (Lapointe et al., 2011; Every-Palmer, 2011; Hermanns-Clausen, 2012). Studi in vitro su microsomi epatici (Wintermeyer et al., 2010) e su campioni di urine (Sobolesky et al., 2010) hanno dimostrato la formazione di numerosi metaboliti del JWH-018 capaci di legarsi ai recettori CB1 e di mantenere un'attività agonista (Brents et al., 2011; Seely et al., 2012). La formazione di metaboliti farmacologicamente attivi impone quindi una più attenta sperimentazione nello studio degli effetti in vivo a breve e lungo termine indotti da JWH-018.

I farmaci e le sostanze che inducono dipendenza, indipendentemente dalla classe farmacologica di appartenenza e dal loro meccanismo d'azione sul sistema nervoso centrale (SNC), possono essere definiti come surrogati di stimoli gratificanti naturali, essendo capaci di mimare le proprietà incentive e funzionali degli stimoli primari e di condizionare il comportamento motivato. Tutte le sostanze d'abuso come ad esempio gli analgesici narcotici, gli psicostimolanti (anfetamina e cocaina), la nicotina, l'alcol, e il THC, hanno in comune la proprietà di aumentare la concentrazione extracellulare di dopamina (DA) in un'area terminale del sistema mesolimbico.

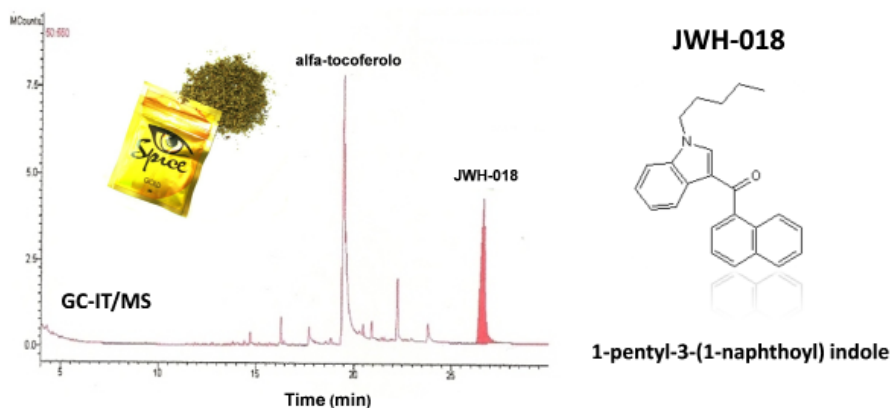


Fig. 1- L'analisi GC-IT/MS di un campione di Spice Gold ha rivelato la presenza di JWH-018

co, il nucleo accumbens shell (NAc shell) (Di Chiara e Imperato, 1988; Pontieri et al., 1995; Tanda et al., 1997; Di Chiara et al., 2004). Inoltre i farmaci d'abuso condividono la proprietà di agire come rinforzi del comportamento di autosomministrazione ed è stato dimostrato che sia il THC (principio psicoattivo della Cannabis) che l'agonista sintetico WIN 55-212-2 vengono autosomministrati da scimmie e ratti (Justinova et al., 2003; Lecca et al., 2006).

Per meglio caratterizzare il potenziale d'abuso e gli effetti farmacologici del JWH-018 abbiamo eseguito studi neurochimici di microdialisi cerebrale e studi di auto somministrazione (AS) nel ratto. Inoltre abbiamo studiato i principali effetti comportamentali indotti dal JWH-018 sull'attività motoria, la nocicezione, la temperatura corporea, l'aggressività e la memoria a breve e lungo termine sul topo.

Materiali e Metodi

Animali

Per gli esperimenti di microdialisi cerebrale e di AS sono stati usati ratti maschi "Sprague-Dawley" (Harlan, Italy) del peso medio di 275-300g. Gli animali sono stati stabulati in gruppi di sei per gabbia e nutriti con cibo standard e acqua ad libitum (MIL topi e ratti, GLP diets, Stefano Morini, S. Polo D'Enza, RE, Italia) per circa una settimana. L'illuminazione è stata regolata, in maniera automatica, in cicli luce/buio di 12 ore ciascuno. La temperatura (23°C) e l'umidità (60%) sono state mantenute costanti.

Per tutti gli altri esperimenti sono stati impiegati topi maschi CD-1 (giovani adulti di 8-10 settimane di età; 20-25 g; Harlan, Italy). Gli animali sono mantenuti in condizioni di illuminazione regolari (cicli di 12 ore di luce -7:00/19:00- e buio -19:00/7:00-) con libero accesso a cibo ed acqua.

Tutti gli esperimenti sono stati condotti in accordo con le linee guida per la cura e l'uso di animali da laboratorio del CESA (Comitato Etico UniCA) e dal Comitato Etico dell'Università di Ferrara e della CEE (86/609; "Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research"; National Research Council 2003). I protocolli sperimentali sono stati approvati dal Ministero Italiano della Sanità.

Sostanze

Il JWH-018 è stato acquistato dalla Tocris (Bristol, UK). La sostanza è stata solubilizzata in 2% EtOH, 2% Tween 80, soluzione fisiologica 84% e somministrato per via intraperitoneale (ip) per gli studi di microdialisi (0.125-0.5 mg/kg ip) e di comportamento (0.1-3.0 mg/kg ip) o endovenosa (iv) per gli studi di AS (10-20 ug/kg/inf).

L'SR-141716° (Rimonabant) (RD-Sigma, Italy) è stato sospeso in 0.3% Tween 80 e soluzione fisiologica e somministrato alla dose di 1 mg/kg ip 30 min prima del JWH-018 o dell'inizio delle sessioni di AS.

L'AM 251 (RD-Sigma, Italy) è stato solubilizzato in 5% DMSO, 5% Chremophor e soluzione fisiologica e somministrato alla dose di 1 o 3 mg/kg ip 30 min prima del JWH-018.

Microdialisi cerebrale

I ratti sono stati anestetizzati (300 mg/kg ip di cloralio idrato; Carlo Erba, Italia) ed impiantati mediante chirurgia stereotassica con una fibra per microdialisi verticale e concentrica, con una porzione dializzante di 1,5 mm, nella della shell o del core del NAc o della mPFC (NAc shell: A +2.2, L ±1.0, V-7.8; per il NAc core: A+1.4, L±1.9, V-7.6 e per la PFCX: A 3.7, L ±0.8, V-4.8 rispetto al bregma) (Paxinos e Watson

1998; De Luca et al. 2007). Il giorno seguente l'intervento, le sonde sono state collegate ad una pompa di infusione e perfuse con una soluzione di Ringer (147 mM NaCl, 4 mM KCl, 2.2 mM CaCl₂) ad una velocità costante di 1 ul/min. I campioni di dializzato (10 ul) sono stati prelevati ogni 10 min e iniettati in un HPLC dotato di un rivelatore coulometrico per quantificare i livelli di DA. Alla fine dell'esperimento, i ratti sono stati perfusi intracardialmente con 50 ml di soluzione fisiologica e 150 ml di formaldeide al 10%. Le sonde sono state rimosse e il cervello tagliato, con l'utilizzo di un vibratomo, in una serie di fette coronali, in cui la posizione delle sonde è stata ricostruita facendo riferimento all'atlante di Paxinos e Watson (1998). L'esperimento di microdialisi viene effettuato 24h dopo la chirurgia su animali liberi di muoversi ed è accoppiata a sofisticate tecniche HPLC che consentono una rapida analisi dei dializzati cerebrali. I campioni del dializzato vengono prelevati dai loop di raccolta ogni 10 minuti e iniettati, senza alcuna purificazione preventiva, in un sistema di cromatografia in fase liquida ad alte prestazioni (HPLC). Tale strumento di analisi è dotato di una colonna cromatografica a fase inversa (Supelcosil LC-18-DB, 15 cm, 5 µm, Supelco) e di un detector coulometrico (ESA, mod. 5014 B). Il primo elettrodo del detector viene posizionato a +125 mV (ossidazione), mentre il secondo a -175 mV (riduzione). La fase mobile di questo sistema è un tampone (pH 5.5) contenente NaH₂PO₄ 50 mM, octisolfato di sodio 2.4 mM, EDTA 5 mM, metanolo 16%, NaHPO₄ 5 mM, che viene mantenuto mediante pompa isocratica Jasco, ad un flusso costante di 1 ml/min.

Istologia

Al termine dell'esperimento i ratti sono stati sacrificati mediante una dose letale di cloralio idrato saturo, decapitati e i cervelli prelevati e conservati in formaldeide al 4%. Successivamente, sono state eseguite sezioni coronali delle aree di interesse al fine di verificarne l'esatta posizione della sonda da micro dialisi in riferimento all'atlante Paxinos Watson (1997). Esperimenti di autosomministrazione (AS)

Le sessioni di AS sono state svolte tra le 9:00 A.M. e le 5:00 P.M. mediante l'impiego di gabbie acusticamente isolate (Coulbourn Instruments, Allentown, NJ USA) fornite di due fori (nose-pokes) provvisti di fotocellule, attivati dal muso dell'animale, posti in posizione simmetrica nella parete più corta della gabbia, ad una altezza dal pavimento di 2 cm. Uno dei due nose-pokes, illuminato tramite luce giallo-verde è stato definito attivo poiché per suo tramite l'animale è stato in grado di attivare la pompa di infusione del farmaco collocata esternamente alla gabbia, mentre la fessura illuminata con luce rossa, tramite la quale il ratto non ha potuto esercitare alcun controllo sulla pompa di infusione, è stata definita nose-poke inattivo. La differente illuminazione dei due nose-pokes ha costituito lo stimolo discriminativo. Prima che la sessione avesse inizio, il catetere cronico è stato lavato con 0,1 ml di soluzione fisiologica sterile e quindi gli animali posizionati nel sistema di AS.

La sessione di AS è stata monitorata da un sistema computerizzato (Graphic State 2 software, Coulbourn instrument, PA, USA) caratterizzata dalle seguenti fasi: Ready phase (4 sec); Drug available phase; Infusion phase, (10 o 20 ug/kg in 12 µl di JWH-018 in 1 sec); Time-out phase, (20 sec). Inizialmente è stata utilizzata una schedula a rapporto fisso uguale ad 1 (Fixed ratio 1, FR1) in cui in seguito ad ogni nose-poke l'animale ha ricevuto una dose di farmaco. Una volta raggiunti i criteri di acquisizione, cioè quando il numero di nose-pokes attivi è diventato significativamente diverso dal numero di quelli inattivi e il loro numero si è mantenuto costante per almeno tre

sessioni, (la somma dei valori giornalieri non deve differire di più del 10%), la schedula di lavoro è stata modificata a FR3 in cui sono stati necessari 3 nose-pokes per ottenere una sola iniezione.

Esperimenti comportamentali

Il protocollo sperimentale prevede dopo la somministrazione intraperitoneale dei composti (veicolo, JWH-018, AM 251) l'esecuzione dei test comportamentali in maniera modulare nella seguente successione temporale: valutazione della temperatura corporea (a 20-70-120 min), nocicezione (a 30-80-130 min), attività motoria, rispettivamente valutata mediante il bar (a 40-90-140 min), il drag (a 50-100-150 min) ed il rotarod test (a 70-120-170 min).

Valutazione della temperatura corporea

Le variazioni della temperatura corporea indotte da JWH-018 sono stati misurati mediante una sonda (2 mm diametro) che viene inserita per 20 mm nel retto del topo è lasciata in posizione fino allo stabilizzarsi della temperatura (circa 10 sec; Ruzza et al., 2012). Il test è effettuato misurando la temperatura basale dell'animale e ripetuto 30 min dopo la somministrazione di JWH-018.

Valutazione del dolore allo stimolo termico

La nocicezione termica acuta è stata valutata mediante il test del ritiro della coda (Tail Withdrawal Test, Calò et al., 1998). I topi sono alloggiati in un supporto cilindrico e la metà distale della coda viene immersa in acqua a 48°C. Si misura il tempo di latenza in secondi (sec), ovvero il tempo di permanenza della coda nell'acqua (il tempo di cut off di 20 sec è stato scelto per evitare danni ai tessuti).

Valutazione dell'attività motoria

Le alterazioni dell'attività motoria indotte da JWH-018 sono state effettuate mediante una batteria di test comportamentali ampiamente validati e specifici per differenti abilità motorie in condizioni sia statiche (bar test) che dinamiche (drag test e rotarod test) di movimento (Marti et al., 2004, 2005).

- Bar test: Valuta il grado di acinesia/catalessia, cioè il tempo impiegato a iniziare un movimento. Ciascun topo viene posto su un tavolo e le zampe anteriori sono poste alternativamente su blocchi di legno a tre altezze crescenti (1.5, 3 e 6 cm). Viene registrato il tempo (in secondi) speso da ciascuna zampa sul blocco (tempo di immobilità; cut-off di 20 sec). L'acinesia viene calcolata come tempo totale speso sui differenti blocchi.

- Drag test: Misura l'abilità dell'animale di bilanciare la postura del corpo con le zampe anteriori in risposta ad uno stimolo dinamico imposto esternamente. Esso fornisce informazioni riguardo il tempo impiegato a iniziare ed eseguire un movimento (bradicinesia). Ciascun topo viene sollevato per la coda, lasciando le zampe anteriori sul tavolo, e trascinato all'indietro ad una velocità costante di circa 20 cm/sec per una distanza fissa (100 cm). Il numero di passi effettuati da ciascuna zampa anteriore viene registrato da due distinti osservatori. Per ogni animale vengono raccolte da cinque a sette misurazioni.

- Rotarod test: Misura differenti parametri motori quali la coordinazione motoria, la capacità di locomozione (acinesia/bradicinesia), l'equilibrio, il tono muscolare e la motivazione a correre. Gli animali vengono posti su un cilindro rotante che incrementa automaticamente la velocità con accelerazione costante (0-60 rotazioni/minuto in 5 minuti). Viene misurato il tempo di permanenza del topo sul cilindro.

Analisi statistica

L'analisi statistica dei dati di microdialisi cerebrale e di auto somministrazione è stata effettuata mediante il programma "Statistica per Windows". I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) a due vie, per misure ripetute. I trattamenti che hanno mostrato variazioni significative sono stati sottoposti al post-hoc di Tuckey o a quello LSD; sono state considerate significative tutte le variazioni con $p < 0.05$.

I dati relativi ai test nel topo sono espressi in valore assoluto come gradi C° (temperatura corporea), secondi di latenza (soglia al dolore termico acuto), secondi di permanenza sui blocchi (bar test) o di attività (rotarod test) e numero di passi eseguiti con le zampe anteriori (drag test). L'analisi statistica è stata eseguita con RM ANOVA seguita da analisi dei contrasti e dal test di Bonferroni. Sono state considerate significative tutte le variazioni con $p < 0.05$.

Risultati

Effetto della somministrazione di JWH-018 sui livelli di DA extracellulare nel NAc shell e core e nella PFCX nel ratto.

I valori basali di DA, espressi come media delle fmoli (\pm EMS) nei campioni di dializzato di 10 μ l sono risultati i seguenti: PFCX, 15.6 ± 1.3 (N=23); NAc shell, 48.6 ± 7.8 (N=38); NAc core, 53.5 ± 8.5 (N=18).

La Figura 2 mostra che la somministrazione di JWH-018 alla

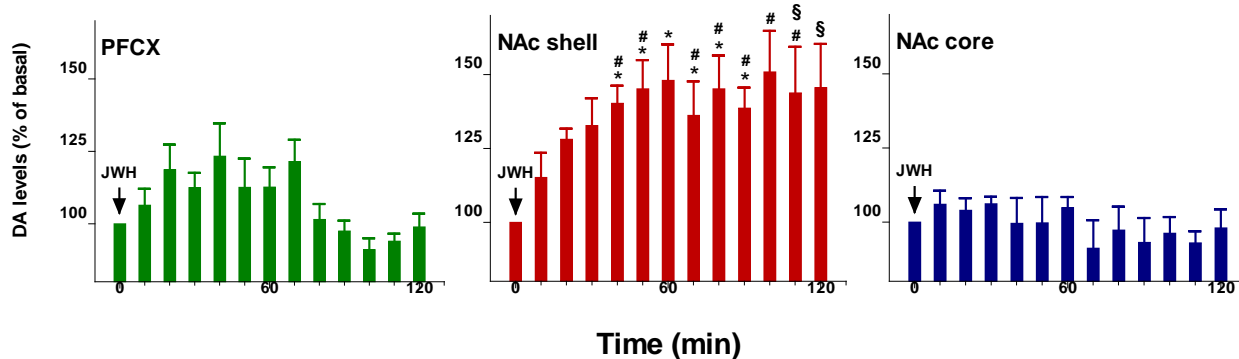


Fig. 2 - La Fig.2 mostra che la somministrazione di JWH-018 (0.25 mg/kg ip) stimola preferenzialmente in maniera significativa la risposta della trasmissione DA in NAc shell (barre rosse) rispetto al core (barre blu) e alla PFCX (barre verdi). I risultati sono la media \pm EMS dei valori di DA extracellulare espressi come valori percentuali rispetto ai basali. * $p < 0.05$ rispetto ai basali; # $p < 0.05$ rispetto al core; § $p < 0.05$ rispetto alla PFCX; N= 4-6 per gruppo; (ANOVA a 2 vie seguito dal post hoc di Tuckey).

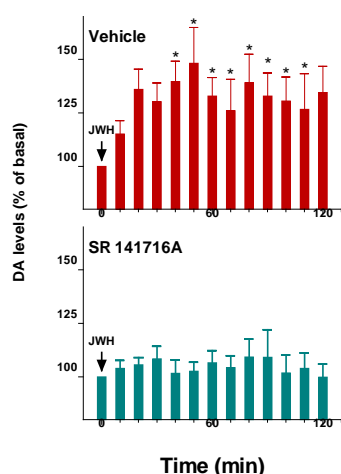


Fig. 3 - La Fig.3 mostra che la somministrazione di SR 141716A (1 mg/kg ip; barre verdi) blocca in maniera significativa la stimolazione della trasmissione DA in NAc shell indotta da JWH-018 (0.25 mg/kg ip; barre rosse). I risultati sono la media \pm EMS dei valori di DA extracellulare espressi come valori percentuali rispetto ai basali. * $p < 0.05$ rispetto all' SR 141716A; N= 6 per gruppo; (ANOVA a 2 vie seguito dal post hoc di Tuckey).

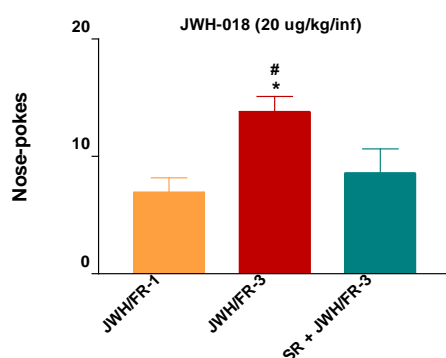


Fig. 4 - La Fig. 4 mostra il numero di risposte (nose-pokes attivi) durante il comportamento di AS in animali allenati a ricevere il JWH-018 (20 ug/kg/inf in 12 ul) con uno schema di rinforzo a rapporto fisso, FR-1 (1 nose poke: 1 iniezione i.v.) (barra arancione) o FR-3 (3 nose poke: 1 iniezione i.v.) (barra rossa) . Il grafico mostra anche l'effetto della somministrazione dell'antagonista CB1 SR 141716A (1 mg/kg i.p., 30 min prima della sessione di AS) (barra verde). I risultati sono espressi come media \pm EMS dei nose-pokes attivi di tre sessioni giornaliere consecutive della durata di 1h ciascuna; *: $p < 0.05$ rispetto al JWH con FR-1; # $p < 0.05$ rispetto a SR+JWH; ANOVA seguito da LSD post hoc test.

dose di 0.25 mg/kg ip ha prodotto un aumento preferenziale della trasmissione DAergica nella shell rispetto al core del NAc e alla PFCX. L'analisi statistica ANOVA a due vie ha mostrato un effetto significativo per il fattore gruppo [F (1,6)= 46.27, $p < 0.0005$], un effetto significativo per il fattore tempo [F (12,72)= 1.8, $p < 0.05$] e una interazione significativa gruppo x tempo [F (12,72)= 3.12, $p < 0.001$]. Il post-hoc test di Tuckey ha indicato che la stimolazione della trasmissione DAergica in shell è significativamente differente rispetto a quella del core e a quella della PFCX.

[Effetto della somministrazione dell'antagonista/agonista inverso CB1, SR141716A, sull'incremento della trasmissione](#)

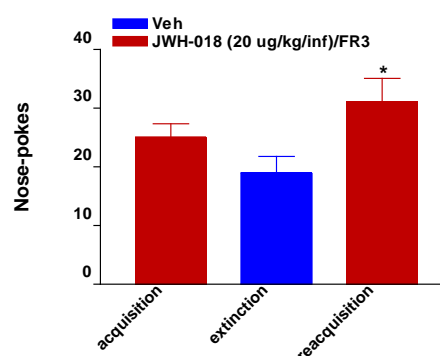


Fig. 5 - La Fig. 5 mostra il numero di risposte (nose-pokes attivi) durante le diverse fasi della AS: acquisizione, estinzione e riacquisizione in animali allenati a ricevere il JWH-018 (20 ug/kg/inf in 12 ul) con uno schema di rinforzo FR-3; durante la fase di estinzione il JWH-018 è stato sostituito con il veicolo. I risultati sono espressi come media \pm EMS dei nose-pokes attivi di tre sessioni giornaliere consecutive della durata di 1h ciascuna; *: $p < 0.05$ rispetto al Veh; ANOVA seguito da LSD post hoc test.

[dopaminergica nella shell del NAc dopo JWH-018.](#)

La Figura 3 mostra che la somministrazione dell'antagonista SR141716A (1 mg/kg ip, 30 min prima del JWH-018) abolisce la stimolazione DAergica prodotta dal JWH-018 (0.25 mg/kg ip). L'ANOVA a due vie ha mostrato un effetto significativo per il fattore gruppo [F (1,12)= 17,99, $p < 0.001$], un effetto significativo per il fattore tempo [F (11,132)= 3.64, $p < 0.001$] e una interazione significativa gruppo x tempo [F (11,132)= 3.21, $p < 0.001$]. Il post-hoc test di Tuckey ha indicato che la stimolazione della trasmissione DAergica nella shell dei ratti pretrattati con veicolo è significativamente differente rispetto a quella degli animali pretrattati con SR141716A .

[Effetto del JWH-018 in esperimenti di autosomministrazione \(AS\) nel ratto.](#)

La Figura 4 mostra il numero di risposte (nose pokes) durante il comportamento di AS in animali allenati a ricevere il JWH-018. Durante le prime sessioni i ratti sono stati allenati al comportamento di AS di JWH-018 con con uno schema di rinforzo a rapporto fisso, FR-1 (1 nose poke: 1 iniezione i.v.) con una dose di JWH-018 pari a 20 ug/kg/inf in 12 ul. Successivamente i ratti sono stati allenati a ricevere il JWH-018 mediante FR-3 e hanno mostrato un aumento significativo dei nose-pokes attivi. Per questo, raggiunto il criterio di stabilità delle risposte, è stato testato l'effetto della somministrazione del agonista inverso/antagonista CB1 SR 141716A (Rimonabant, 1 mg/kg ip) che, somministrato 30 min prima della sessione giornaliera, ha drasticamente ridotto la AS.

La Figura 5 mostra il numero di nose-pokes effettuati da animali allenati a ricevere il JWH-018 (20 ug/kg/inf in 12 ul) con uno schema di rinforzo FR-3 durante le diverse fasi della AS: acquisizione, estinzione e riacquisizione. La figura indica che durante la fase di estinzione, quando il JWH-018 è stato sostituito con il veicolo, non è stata osservata una diminuzione del comportamento di AS che invece è aumentato in maniera significativa durante la fase di riacquisizione.

[Effetto del JWH-018 sulla temperatura corporea, nocicezione ed attività motoria nel topo.](#)

La Figura 6 mostra che la somministrazione sistemica di JWH-018 (0.1-3 mg/kg ip) determina nel topo profonda ipotermia (Fig. 6A), aumento della soglia di nocicezione allo

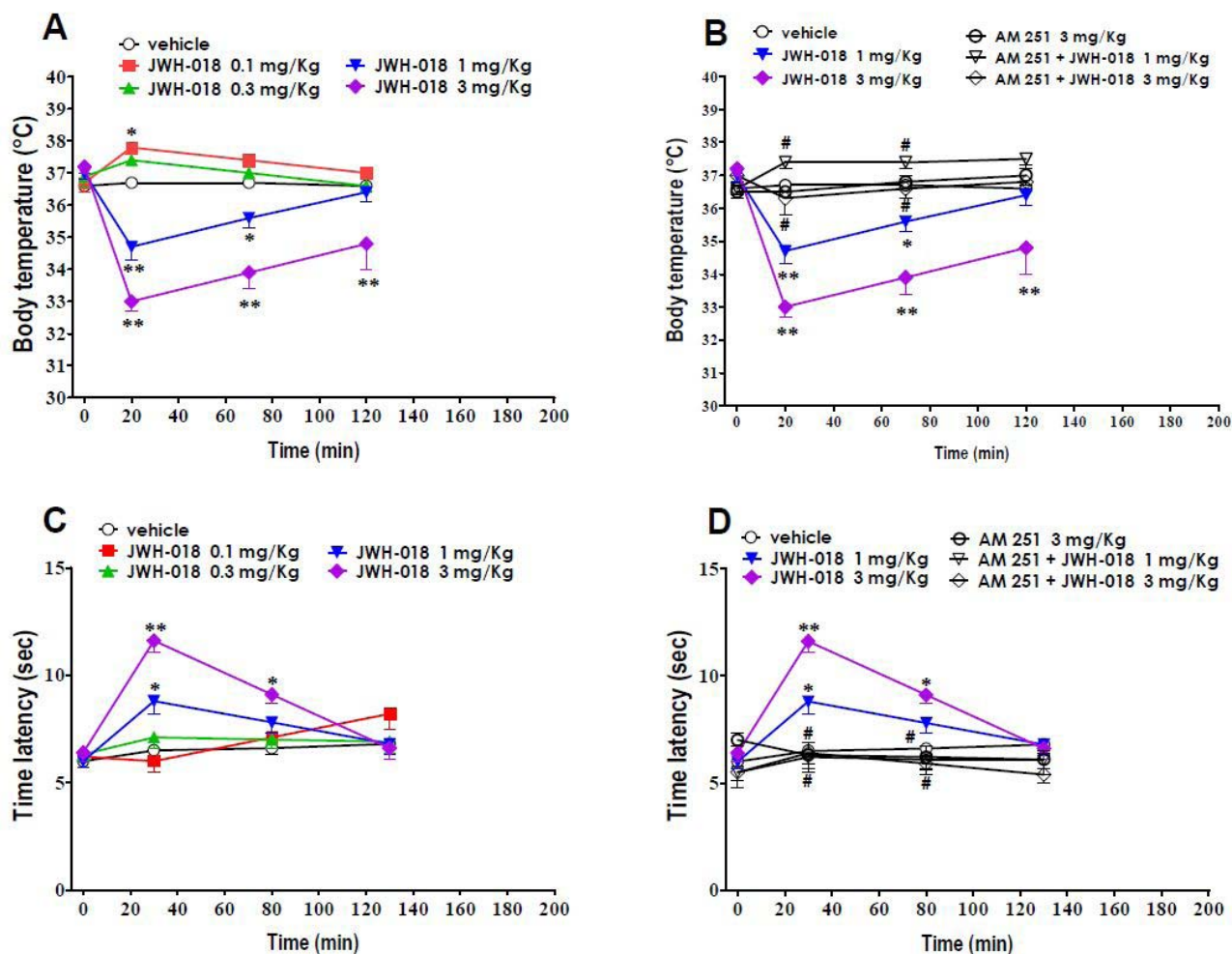


Fig. 6 - La somministrazione sistemica di JWH-018 (0,1-3 mg/kg i.p.) nel topo determina profonda ipotermia (Fig. 6A) ed aumento della soglia di nocicezione allo stimolo termico acuto (Fig. 6C). Gli effetti sono stati valutati nel test di valutazione della temperatura corporea a 20-70-120 min, mentre nel tail withdrawal a 30-80-130 min dalla somministrazione di JWH-018. La somministrazione di AM 251 (3 mg/kg, ip, 30 minuti prima di JWH-018) previene l'ipotermia (Fig 6B) e l'aumento della soglia di nocicezione nel tail withdrawal (Fig. 6D), causati da JWH-018 (1 e 3 mg/kg). I dati sono espressi in valore assoluto (temperatura corporea in gradi centigradi e soglia di nocicezione espressa in secondi) e corrispondono alla media \pm EMS di 15-20 determinazioni per gruppo. $p < 0.05$ $p^{**} < 0.01$ diverso dal veicolo. $P\# < 0.05$ diverso dal JWH-018 da solo; RM ANOVA seguita da analisi dei contrasti e dal test di Bonferroni.

stimolo termico acuto (Fig. 6C) ed una profonda compromissione della capacità motoria (Fig. 7). Gli effetti indotti dalle dosi maggiori (1 e 3 mg/kg) si manifestano dopo circa 2 minuti dalla somministrazione intraperitoneale. JWH-018, a 20 minuti dalla somministrazione, induce a basse dosi (0.1 mg/kg) ipertermia (circa $+1^{\circ}\text{C}$) mentre ad alte dosi (1 e 3 mg/kg) ipotermia (rispettivamente di circa $-2,0^{\circ}\text{C}$ e $-3,7^{\circ}\text{C}$) che persiste a 120 minuti per la dose maggiore (Fig. 6A). A 1 e 3 mg/kg JWH-018 aumenta la soglia di nocicezione termica (rispettivamente di circa $+35\%$ e $+78\%$ rispetto alla latenza basale, a 30 min) e l'effetto si protrae a 80 minuti (rispettivamente di circa $+20\%$ e $+40\%$). A 1 e 3 mg/kg JWH-018 induce una profonda acinesia e catalessia caratterizzata da un tempo di immobilità nel bar test (rispettivamente di $10,3 \pm 0,1$ e $19,9 \pm 0,1$ sec, dopo 40 min) che si osserva anche a 140 minuti (Fig. 7A), un ridotto numero di passi effettuato dalle zampe anteriori (rispettivamente circa del 32% e del 52% rispetto all'attività basale, dopo 50 min) ed una compromissione dell'attività motoria generale sul rotarod (rispettivamente circa del 20% e del 40%, dopo 70 min). Gli effetti biologici

indotti da JWH-018 sono prevenuti dalla somministrazione dell'antagonista selettivo dei recettori cannabinoidi CB1 AM251 (3 mg/kg; Fig. 7B-D e Fig. 7D-E-F). E' da segnalare che nel bar test l'effetto di JWH-018 alla dose massima di 3 mg/kg è parzialmente bloccato dall'antagonista AM 251 (Fig. 7D).

Discussione

I risultati ottenuti mediante gli esperimenti descritti in questo lavoro di tesi indicano che il cannabinoide sintetico JWH-018 possiede le principali caratteristiche farmacologiche delle sostanze che inducono dipendenza. Infatti, attraverso i nostri studi di microdialisi cerebrale e di autosomministrazione nel ratto abbiamo osservato che il JWH-018 stimola preferenzialmente la trasmissione DA nella shell del NAc e possiede proprietà di rinforzo così come altri cannabinoidi naturali (THC) o sintetici (WIN 55212) (Tanda et al., 2000; Lecca et al., 2006). In particolare, l'effetto della somministrazione acu-

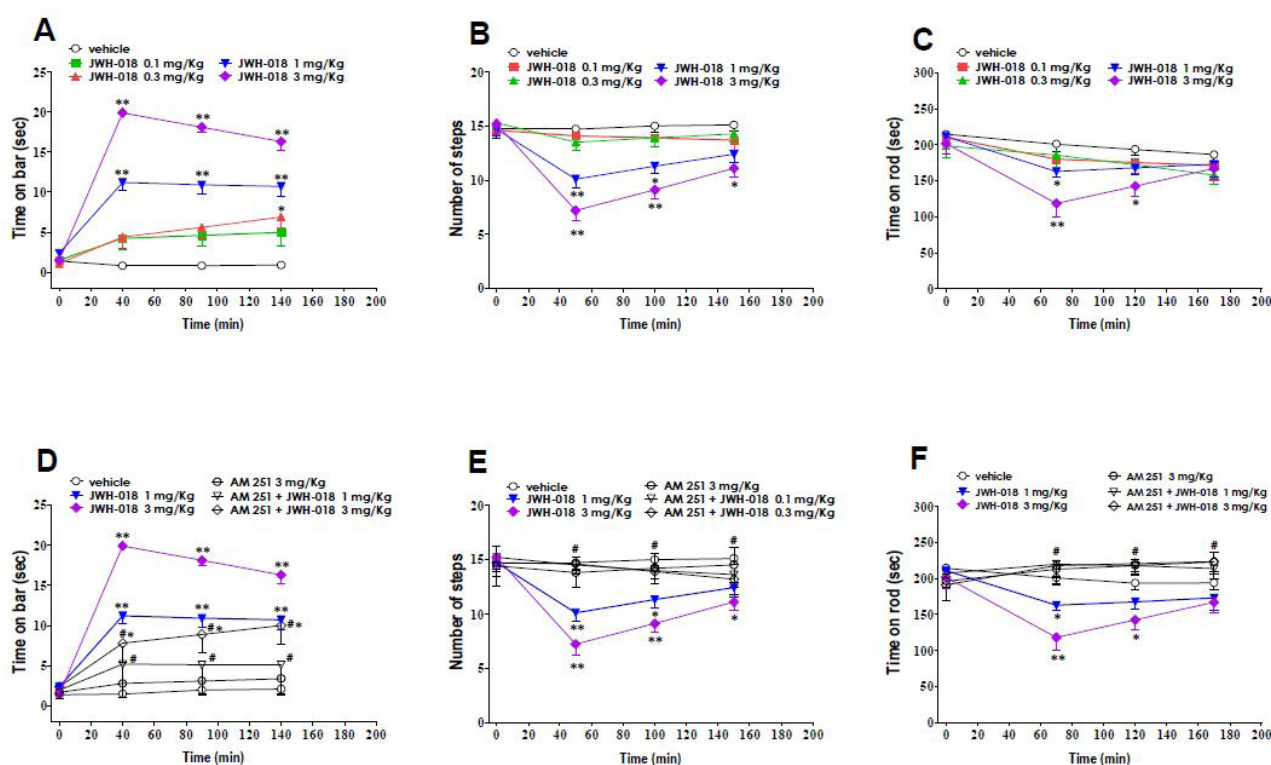


Fig. 7 - La somministrazione sistemica di JWH-018 (0,1-3 mg/kg ip) determina una profonda compromissione della capacità motoria nel topo, causando l'aumento del tempo di permanenza del topo sui blocchi (Time on bar, Fig. 7A), la riduzione del numero di passi con le zampe anteriori (Number of steps, Fig. 7B) e del tempo di corsa sul rotarod (Time on rod, Fig. 7C). Gli effetti comportamentali sono stati valutati dopo la somministrazione di JWH-018 rispettivamente a 40-90-140 min nel bar test, a 50-100-150 min nel drag test e a 70-120-170 min nel rotarod test. La somministrazione di AM 251 (3 mg/kg, ip, 30 minuti prima di JWH-018) previene gli effetti indotti da JWH-018 (1 e 3 mg/kg), nel bar (Fig. 7D), nel drag (Fig. 7E) e nel rotarod (Fig. 7F) test. I dati sono espressi in valore assoluto (secondi e numero di passi) e corrispondono alla media \pm EMS di 15-20 determinazioni per gruppo; $p^* < 0.05$ $p^{**} < 0.01$ diverso dal veicolo, $P\# < 0.05$ diverso dal JWH-018 da solo; RM ANOVA seguita da analisi dei contrasti e dal test di Bonferroni.

ta di JWH-018 alla dose di 0.25 mg/kg ip sull'incremento della trasmissione dopaminergica in shell, ma non in core o PFCX, ci ha dimostrato che il JWH-018 è più potente del THC poiché quest'ultimo agisce sugli stessi circuiti cerebrali della gratificazione quando somministrato a una dose 4 volte maggiore (Tanda et al., 1997; De Luca et al., 2011). Inoltre, l'incremento della trasmissione dopaminergica osservato è stato bloccato dall'agonista inverso/antagonista SR 141716A indicando il coinvolgimento dei recettori CB1 nel fenomeno studiato.

Quanto osservato con la microdialisi cerebrale rappresenta una valida indicazione delle elevate proprietà di gratificazione del JWH-018 che sono state confermate dagli studi di auto-somministrazione (AS). Infatti con l'AS abbiamo osservato che gli animali, ai quali era precedentemente stato impiantato un catetere endovenoso nella vena giugulare, hanno imparato ad autosomministrarsi JWH-018 (20 μ g/kg/inf iv) in sessioni giornaliere di un'ora ciascuna per 11 settimane (5sessioni/settimana) inizialmente mediante uno schema di rinforzo FR-1 successivamente portato a FR-3 (acquisizione). Abbiamo osservato che i nose-pokes attivi, grazie ai quali l'animale riceveva un'iniezione endovenosa di JWH-018, sono risultati significativamente maggiori rispetto a quelli inattivi e che questo effetto è stato bloccato dalla somministrazione di SR 141716A. Tuttavia durante la fase di estinzione, quando il JWH-018 è stato sostituito col veicolo, non abbiamo osservato una riduzione significativa dei nose-pokes attivi. Questo potrebbe essere dovuto alla lunga emivita del JWH-018 nel plasma di ratto o alla comparsa di metaboliti attivi della

molecola che continuano ad agire sui recettori CB1. Studi di farmacocinetica sono in corso per fare chiarezza a riguardo. Al contrario, quando il JWH-018 è stato nuovamente reso disponibile (riacquisizione), i nose-pokes sono aumentati in maniera significativa rispetto a quelli effettuati durante il consumo di veicolo. Questo indica chiaramente l'esigenza degli animali di consumare il JWH-018 ed è in accordo con altri studi di AS eseguiti con WIN 55212 nel ratto (Lecca et al., 2006) o con il THC nelle scimmie (Tanda et al., 2000).

Gli studi successivi hanno mostrato che il JWH-018 riproduce anche nel modello murino la tipica tetraide di effetti che caratterizzano la sintomatologia acuta in seguito alla assunzione di cannabinoidi, quali l'ipotermia, l'innalzamento della soglia al dolore, la marcata catalessia ed ipocinesia dell'animale (Wiebelhaus et al., 2012). I risultati ottenuti somministrando il composto intraperitoneale sono quali-quantitativamente sovrapponibili a quelli ottenuti dopo somministrazione di una dose di 50 mg vaporizzata come fumo di spice contenente il 5,4% di JWH-018 (Wiebelhaus et al., 2012). Gli effetti osservati nel topo sono bloccati da AM 251 e quindi rispecchiano il coinvolgimento dei recettori CB-1 (Atwood et al., 2010), anche se l'antagonista AM 251 non è in grado di prevenire completamente lo stato catalettico indotto da alte dosi di JWH-018. L'evidente efficacia di AM 251 nel prevenire gli effetti profondi di JWH-018 negli altri paradigmi sperimentali suggerisce che interazioni farmacodinamiche differenti potrebbero essere coinvolte nella genesi e mantenimenti dello stato catalettico. Ulteriori studi sono in corso per comprendere questa differenza e l'eventuale coinvolgimento di meta-

boliti diversamente attivi di JWH-018 (Bretns et al., 2011). E' peculiare in questo studio l'effetto di ipertermia indotto dalle basse dosi di JWH-018 nel topo. Infatti, la stimolazione dei recettori dei cannabinoidi è tipica mediare l'effetto di ipotermia via stimolazione dei recettori CB-1 (Taffe, 2012). Un effetto di ipertermia acuta potrebbe rivestire una notevole importanza per investigare gli effetti pro convulsivanti osservati nell'uomo dopo intossicazione acuta con JWH-018 (Lapoint et al., 2011; Pant et al., 2012). E' noto infatti che l'ipertermia acuta può contribuire ad episodi di convulsione (Ochi et al., 2011) come proposto per MDMA (Giorgi et al., 2006). Tra gli effetti motori osservati JWH-018 induce un profondo stato catalettico caratterizzato da una marcata acinesia che appare essere l'elemento più rilevante e caratterizzante della sintomatologia motoria. Infatti, mentre gli effetti motori osservati nei test dinamici quali drag e rotarod test tendono a risolversi nel tempo ed appaiono di modesta entità, l'acinesia presentata nel bar test si mantiene nel tempo a livelli elevati. Questo profilo di azione, differente da quello indotto da un tipico neurolettico quale l'aloiperidolo (Marti et al., 2005) che deprime uniformemente l'attività motoria nei tre diversi test comportamentali, suggerisce che JWH-018 esprime la sua azione ipocinetica prevalentemente attraverso la modulazione di circuiti neuronali che presiedono il fenomeno dell'acinesia. In conclusione, tutti i dati presentati, benché ottenuti in modelli animali (ratto e topo) forniscono una caratterizzazione completa sugli effetti mediati dal consumo del JWH-018 e suggeriscono la pericolosità del consumo acuto o cronico dei cannabinoidi sintetici presenti in numerose herbal blends utilizzate spesso come alternativa alla Cannabis.

Contributo dei singoli autori:

Nell'ambito del presente lavoro di tesi sperimentale, presentata presso la Scuola Nazionale sulle Dipendenze, la Dott.ssa Maria Antonietta De Luca ha contribuito con gli esperimenti di microdialisi cerebrale nel ratto e con quelli di autosomministrazione nel ratto. Per mezzo degli approcci sperimentali sopra indicati, la Dott.ssa De Luca ha studiato gli effetti acuti del JWH-018 sulla trasmissione dopaminergica in aree cerebrali cruciali per lo sviluppo delle dipendenze quali il nucleus accumbens, shell e core, e la corteccia media prefrontale; la Dott.ssa De Luca ha inoltre valutato le proprietà di rinforzo del JWH-018 mediante la autosomministrazione endovenosa del JWH-018, uno dei più validi modelli animali di tossicodipendenza.

Il Dott. Matteo Marti ha contribuito svolgendo una serie di esperimenti comportamentali nel topo volti a caratterizzare gli effetti indotti dalla somministrazione acuta di JWH-018 sulla variazione di temperatura corporea, la nocicezione termica e l'attività motoria analizzata sia in condizioni statiche che dinamiche. Inoltre, è stato studiato il ruolo ricoperto dai recettori cannabinoidi CB-1 negli effetti comportamentali indotti da JWH-018 nel topo, mediante l'impiego dell'antagonista selettivo CB-1, AM-251.

Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato possibile grazie alla collaborazione e al continuo confronto clinico con i colleghi: Prof. Gaetano Di Chiara, Dott. Pier Luigi Caboni, Dott.ssa Valentina Valentini, dott. Claudio Trapella.

Bibliografia

1. Atwood BK, Huffman J, Straiker A, Mackie K (2010) JWH018, a common constituent of 'Spice' herbal blends, is a potent and efficacious cannabinoid CB receptor agonist. *Br J Pharmacol* 160: 585-593.
2. Auwärter, V., Dresen, S., Weinmann, W., Müller, M., Pütz, M., and Ferreirós, N. (2009). "Spice" and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *J. Mass Spectrom.* 44, 832-837.
3. Bretns LK, Reichard EE, Zimmerman SM, Moran JH, Fantegrossi WE, Prather PL. (2011) Phase I hydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-018 retain in vitro and in vivo cannabinoid 1 receptor affinity and activity. *PLoS One.* 2011;6(7):e21917. Epub 2011 Jul 6.
4. Calò G, Rizzi A, Marzola G, Guerrini R, Salvadori S, Beani L, Regoli D, Bianchi C. (1998) Pharmacological characterization of the nociceptin receptor mediating hyperalgesia in the mouse tail withdrawal assay *British Journal of Pharmacology*, 125: 373-378.
5. De Luca MA, Caboni P, Bimpisidis Z, Di Chiara G (2011) JWH-018: a cannabinoid compound of Spice drugs stimulates dopamine transmission in the nucleus accumbens shell. 8th IBRO World Congress of Neuroscience, Florence July 14-18, 2011.
6. De Luca MA, Solinas M, Bimpisidis Z, Goldberg SR, Di Chiara G. (2012) Cannabinoid facilitation of behavioral and biochemical hedonic taste responses. *Neuropharmacology* Jul;63(1):161-8.
7. Di Chiara G, Imperato A. (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 85(14):5274-8.
8. Di Chiara G, Bassareo V, Fenu S, De Luca MA, Spina L, Cadoni C, Acquas E, Carboni E, Valentini V, Lecca D. (2004) Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacology.* 2004;47 Suppl 1:227-41. Review.
9. EMCDDA (2009), Understanding the 'Spice' phenomenon, Thematic papers, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. 6 March 2009 Lisbon. Available for download from www.emcdda.europa.eu
10. Every-Palmer S. (2011) Synthetic cannabinoid JWH-018 and psychosis: an explorative study. *Drug Alcohol Depend.* 117: 152-157.
11. Giorgi FS, Lazzeri G, Natale G, Iudice A, Ruggieri S, Paparelli A, Murri L, Fornai F. (2006) MDMA and seizures: a dangerous liaison? *Annual New York Academy Science*, 1074: 357-364.
12. Hermanns-Clausen M, Kneisel S, Szabo B, Auwärter V. (2012) Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: Clinical and laboratory findings. *Addiction.* Sep 13.
13. Lapoint J, James LP, Moran CL, Nelson LS, Hoffman RS, Moran JH. (2011). Severe toxicity following synthetic cannabinoid ingestion. *Clin Toxicol.* 49: 760-764.
14. Marti M, Mela F, Veronesi C, Guerrini R, Salvadori S, Federici M, Mercuri NB, Rizzi A, Franchi G, Beani L, Bianchi C, Morari M. (2004) Blockade of nociceptin/orphanin FQ receptor signaling in rat substantia nigra pars reticulata stimulates nigrostriatal dopaminergic transmission and motor behavior. *J Neurosci.* Jul 28;24(30):6659-66.
15. Marti M, Mela F, Fantin M, Zucchini S, Brown JM, Witta J, Di Benedetto M, Buzas B, Reinscheid RK, Salvadori S, Guerrini R, Romualdi P, Candeletti S, Simonato M, Cox BM, Morari M. (2005) Blockade of nociceptin/orphanin FQ transmission attenuates symptoms and neurodegeneration associated with Parkinson's disease. *J Neurosci.* 19;25(42):9591-601.
16. McLachlan G (2009) Taking the spice out of legal smoking mixtures. *Lancet.* Aug 22;374(9690):600.
17. Ochi R, Suemaru K, Watanabe S, Yamaguchi T, Takechi K, Kawasaki H, Araki H. (2011) Effect of heat exposure on aminophylline-induced convulsions in mice. *Biol Pharm Bull.* 34:666-670.
18. Pant S, Deshmukh A, Dholaria B, Kaur V, Ramavaram S, Ukori M, Teran GA. (2012) Spicy seizure. *Am J Med Sci.* 344:67-68.
19. Pontieri, F.E. et al (1995). Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 92: 12043-12308.
20. Ruzza C, Pulga A, Rizzi A, Marzola G, Guerrini R, Calò G. (2012) Behavioural phenotypic characterization of CD-1 mice lacking the neuro-peptide S receptor. *Neuropharmacology* 62(5-6):1999-2009.

21. Seely KA, Brents LK, Radominska-Pandya A, Endres GW, Keyes GS, Moran JH, Prather PL. (2012) A Major Glucuronidated Metabolite of JWH-018 Is a Neutral Antagonist at CB1 Receptors. *Chem Res Toxicol.* 2012 Mar 15.
22. Showalter VM, Compton DR, Martin BR, Abood ME (1996) Evaluation of binding in a transfected cell line expressing a peripheral cannabinoid receptor (CB2): identification of cannabinoid receptor subtype selective ligands. *J Pharmacol Exp Ther* 278: 989–999.
23. Taffe MA (2012) Δ^9 -Tetrahydrocannabinol attenuates MDMA-induced hyperthermia in rhesus monkeys. *Neuroscience.* 201: 125-133.
24. Tanda G, Pontieri FE, Di Chiara G. (1997) Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopa-mine transmission by a common mu1 opioid receptor mechanism. *Science*, Jun 27;276(5321):2048-50.
25. Tanda G, Munzar P, Goldberg SR. (2000) Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys. *Nat Neurosci.*3(11):1073-4.
26. The first International Conference on novel psychoactive substances (NPS), Budapest, Hungary, 12-13 March 2012). <https://www.rednetproject.eu/conference/index.php>
27. Wiebelhaus JM, Poklis JL, Poklis A, Vann RE, Lichtman AH, Wise LE. (2012) Inhalation exposure to smoke from synthetic “marijuana” produces potent cannabimimetic effects in mice. *Drug Alcohol Depend.* 2012 Jul 7. [Epub ahead of print]
28. Wintermeyer A, Möller I, Thevis M, Jübner M, Beike J, Rothschild MA, Bender K. (2010) In vitro phase I metabolism of the synthetic cannabimimetic JWH-018. *Anal Bioanal Chem.* 398: 2141-2153.
29. Zimmermann US, Winkelmann PR, Pilhatsch M, Nees JA, Spanagel R, Schulz K. (2009) Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of “spice gold”. *Dtsch Arztebl Int.* Jul;106(27):464-7.

Contributi originali

GHB: farmaco, sostanza d'abuso e droga da stupro: diverse tipologie di uso, differenti problematiche analitico-forensi

Antonina Argo¹, Fabio Vaiano², Cettina Sortino¹, Francesco Mari², Elisabetta Bertol²

1 - Dipartimento di Biotecnologie e biopatologie mediche e forensi, Università degli Studi di Palermo

2 - Struttura di Tossicologia Forense – Dip. di Anatomia, Istologia e Medicina Legale- Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Firenze

L'acido gamma-idrossibutirrico (GHB) è un neurotrasmettitore con effetti gaba-mimetici; si tratta di un composto endogeno, ma notoriamente usato per le applicazioni terapeutiche come anestetico per via endovenosa, come sedativo e per il trattamento della narcolessia. Dagli anni '80 è comune sostanza usata come doping, quindi emerge come droga da "tempo libero" nei rave-party; più recentemente, i supposti effetti afrodisiaci e la reale capacità di induzione di amnesia retrograda ne hanno indotto l'utilizzazione quale sostanza in grado di ridurre la capacità di resistenza della vittima di uno stupro annoverandola tra le cosiddette "date rape drugs" (Drug facilitated sexual assault, DFSA), e cioè sostanze psicoattive usate per lo stupro cosiddetto "dopo appuntamento"¹. Nel presente contributo si riporta l'approccio metodologico relativamente a due differenti scenari di interesse forense: l'abuso del GHB con quadro di dipendenza patologica e l'uso del GHB come droga da stupro; gli Autori illustrano le modalità di indagine per determinare il GHB nelle differenti matrici biologiche. Conclusioni: gli scenari d'abuso qui presentati rafforzano il concetto che l'analitica tossicologica rivolta alla determinazione del GHB, per tutte le evenienze riguardanti l'uso/abuso e le possibili implicazioni legali, deve realizzarsi secondo canoni analitici convalidati.

GHB: a medicine, a substance of abuse and a date rape drug: different types of use, different analytical approaches in forensic cases

The gamma-hydroxybutyric acid (GHB) is a neurotransmitter with gaba-mimetic effects; it is known as an endogenous compound, used for therapeutic purposes as an intravenous anesthetic, as a sedative and in the treatment of narcolepsy. Since the '80s it has emerged as a doping substance, to become soon after a recreational drug in the rave parties. More recently, its supposed aphrodisiac effects and its possible induction of retrograde amnesia have caused GHB to be used as a "date rape" drug, in DFSA (Drug facilitated sexual assault), as a psychoactive substance capable of reducing resistance to a sexual assault. This paper presents two different scenarios that could be of interest in the forensic field of applications: the abuse of GHB in the context of addiction and the use of GHB as a date rape drug. In this view, the survey methods for determining GHB in different biological matrices are shown. Conclusions: scenarios related to GHB use and abuse presented in this study reinforce the evidence that any analytical and toxicological determination of GHB, especially in legal cases, must be conducted according to strict validated analytical criteria.

Parole chiave: GHB, dipendenza, DFSA, accertamento forense

Keywords: GHB; abuse, DFSA, forensic determination

Date: inviato: 24/07/2012 - accettato: 07/11/2012

Contatti: Prof.ssa **Elisabetta Bertol**

Dipartimento di Anatomia, Istologia e Medicina Legale

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Università degli Studi di Firenze

Via Morgagni, 85 - 50134 Firenze

elisabetta.bertol@unifi.it

Introduzione

L'acido gamma-idrossibutirrico (GHB), è sostanza d'abuso contemplata in tabella I della vigente normativa in materia di stupefacenti. Il composto è stato sintetizzato per la prima volta nel 1960 con lo scopo di ottenere un medicamento ad effetto deprimente sul sistema nervoso centrale, in virtù della analogia con l'acido gamma-amminobutirrico (GABA), neurotrasmettitore ad effetto inibitore². Del GHB si è rilevato l'effetto sedativo simile a quello già noto del gamma-butyrolattone GBL; il GHB ha trovato iniziale impiego clinico come narcotico per via endovenosa, sostituito da altri farmaci per i suoi effetti collaterali; quale componente endogeno è presente in modeste concentrazioni nel cervello umano^{3,4}, dove agisce probabilmente come neurotrasmettitore, incrementando i livelli di dopamina. Nei casi di interesse forense, conseguentemente, assume grande rilievo la differenziazione tra livelli endogeni ed esogeni della molecola⁵⁻⁸. A dosi crescenti di assunzione il GHB determina: euforia, rilassamento muscolare, depressione del sistema nervoso centrale, fino al coma e morte a dosi elevate^{9,10}. Il GHB viene assorbito rapidamente dall'intestino; e le proprietà psicoattive della molecola si mostrano già 10-20 minuti dopo l'assunzione, durano circa 1-3 ore (emivita dai 30 ai 50 minuti) e gli effetti di hangover permangono 2-4 ore dopo l'ingestione⁹. Nel sangue si può rintracciare il GHB fino ad 8 ore dopo l'assunzione, nell'urina fino a 12 ore. Il GHB viene decomposto in anidride carbonica ed acqua¹¹. Nell'organismo il GBL, sostanza precursore di per sé biologicamente inattiva, viene metabolizzato in GHB da una sieronolattasi¹². Il 1,4 butandiolo (BD), altra sostanza affine, viene metabolizzato rapidamente in GHB in due tappe ad opera di alcol deidrogenasi e aldeide deidrogenasi. Pertanto, anche il BD viene utilizzato in modo abusivo come droga, con gli stessi sintomi e problemi di dipendenza del GHB². Del GHB sono state descritte sia una tolleranza che una dipendenza fisica^{1,2}; la sindrome astinenziale è caratterizzata da insonnia, crampi muscolari, tremori ed ansia; dura per circa 3-12 giorni e si risolve generalmente senza reliquati¹. L'uso clinico del GHB (tabella II b L 49/2006) ne prevede la commercializzazione come Xyrem® e Alcover®¹⁴, in formulazioni terapeutiche per il trattamento della narcolessia¹⁵ e nel trattamento dell'abuso alcolico⁸, nonché, più recentemente ed in forma sperimentale, nel trattamento dei pazienti affetti da morbo di Alzheimer.

L'uso illecito del GHB è comune presso le popolazioni giovanili in circostanze ricreative (rave parties); è noto come «liquid ecstasy», «fantasy», «natriumoxybab», «salty water», «georgia home boy», «grievous bodily harm», «somatomax», «scoop». L'uso a fini ricreativi del GHB si correla peraltro anche a ben noti effetti di alterazione della capacità alla guida¹⁶. Più recentemente, l'uso del GHB si annovera tra le sostanze cosiddette facilitanti la violenza sessuale¹⁷⁻²⁰, ancor qualificate come «date-rape drug»¹⁰⁻¹². Si tratta di sostanze generalmente inodori, insapori ed incolori, che agevolmente possono essere addizionate a bevande¹⁹, e così inconsapevolmente assunte dalla vittima «predeterminata» dello stupro; l'azione di dette sostanze si concreta, per gli effetti criminogenetici, in amnesia anterograda ed effetto rilassante/disinibente. A tal proposito è stato coniato il termine, per questa ed altre sostanze analogamente usate, di Drug facilitate sexual assault (DFSA). Il GHB è ampiamente disponibile sul mercato clandestino, diffuso e commercializzato sia nella forma di sostanza d'abuso sia nella forma del precursore GBL (liquido o solido)¹, che è la forma lattonica del GHB (nomi gergali di «renewtrient», «blue nitro» «gamma g» e «midnight blue»)^{1,2}. Il GBL è un li-

quido incolore con un leggero odore. È miscibile con acqua e ha reazione leggermente acida. I principi precursori sono facilmente reperibili in internet, ove è possibile trovare anche la descrizione delle modalità di sintesi chimica della molecola. Il BD viene ritenuto un profarmaco del GHB, e se assunto si trasforma in GHB². È un liquido igroscopico, incolore e quasi inodore, dal nome gergale di «somato-pro», «serenity» o «enliven»^{1,2}.

L'effetto tossico da assunzione voluttuaria della sostanza si potenzia in combinazione con altre droghe, alcool e medicinali. Vi è inoltre il concreto rischio che i sintomi di avvelenamento da GHB (o anche da GBL o BD), dal possibile esito letale^{9,21,22}, non vengano individuati subito.

Nel presente studio vengono riportate due situazioni reali con coinvolgimento di uso di GHB, l'una come dipendenza da tale molecola e l'altra relativa ad un episodio di assunzione inconsapevole della sostanza dolosamente somministrata come DFSA, nelle quali viene illustrato l'approccio analitico seguito, con risultati che hanno permesso in entrambi i casi la specifica diagnosi, anche dal lato medico-legale e forense in genere.

Materiali e Metodi

CASO I. Si tratta di un soggetto di sesso maschile 40enne giunto in osservazione a seguito di arresto per detenzione e spaccio di GBL/GHB; poiché l'anamnesi di pregresso consumo/abuso di GHB richiedeva di ricostruire la storia di abuso della molecola, si procedeva a prelievo di matrice pilifera dell'interessato, a distanza di 4 mesi circa dall'arresto; la lunghezza della chioma ne rendeva possibile il prelievo per una lunghezza di circa 17 cm a partire dalla cute in zona nucale. La visita medico legale e il prelievo dei capelli sono stati eseguiti al domicilio del soggetto, agli arresti domiciliari; gli accertamenti analitici sono stati eseguiti nel Laboratorio della Struttura Universitaria di Tossicologia Forense della Azienda Ospedaliero-Universitaria di Careggi (AOUC) di Firenze.

CASO II. Si tratta di una giovane 22enne, che si recava in uno stato ancora parzialmente confusionale presso il Centro di Riferimento Regionale Violenza (CRRV) della AOUC di Firenze dove riferiva di essersi ritrovata nella mattinata nella propria auto, con i sedili ribaltati, vestita solamente di gonna e camicetta, priva di biancheria intima. La donna dichiarava di ricordare solo di essersi allontanata in compagnia di un ragazzo da un locale in cui si stava svolgendo una festa e di aver assunto alcol in sua compagnia (dato confermato anche da testimonianza oculare). Furono effettuati prelievi di urina e di sangue, ma solo il campione ematico fu inviato al Laboratorio della Struttura Universitaria di Tossicologia Forense della AOUC, mentre le urine furono inviate a quello ospedaliero di Farmacotossicologia Clinica, della medesima AOUC. Il tempo intercorso tra il fatto ed i prelievi, è stato giudicato essere non inferiore a circa 7-8 ore. Successivamente è stato possibile ottenere anche la provetta di urine (certificate come appartenenti alla giovane) che avevano dato risultato di «completa negatività» presso il laboratorio ospedaliero.

Pertanto, il materiale su cui sono state eseguite le indagini tossicologiche riguardo al caso della ricostruzione della storia di uso/abuso è rappresentato da un tratto di 17 cm di capelli, mentre nel caso dell'unica assunzione di GHB nel presunto – successivamente accertato – abuso sessuale, il materiale disponibile è costituito dal sangue e dalle urine (si segnala che nemmeno a distanza di tempo è stato possibile avere la disponibilità dei capelli della ragazza).

Determinazione nella matrice pilifera

Sono stati applicati al caso I sia il metodo in gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS) in uso di routine nel Laboratorio della Struttura di Tossicologia Forense che quello in cromatografia liquida/spettrometria di tandem massa (LC/MS-MS) recentemente sviluppato e convalidato nel medesimo Laboratorio²³. Le aliquote sottoposte ad analisi corrispondevano a n. 10 segmenti di capelli: i primi 3 segmenti della lunghezza di 1 cm, i successivi 7 segmenti della lunghezza di 2 cm ciascuno.

In breve:

GC/MS: dopo lavaggio per eliminare gli interferenti, sono state incubate aliquote di 25 mg di capelli overnight in 1,0 ml di NaOH 0,01 N, a 56°C, in presenza di 50 ng di GHB-d6 usato come standard interno; neutralizzazione con 0,1 ml di H₂SO₄ 0,1 N e aggiunta di 3,0 ml di etilacetato. Dopo agitazione e centrifugazione il supernatante veniva evaporato a secco e derivatizzato con BSTFA (1%TMCS in etilacetato) per 20 minuti a 60°C. La strumentazione consisteva in un gascromatografo GC-MS Agilent 7890A GC equipaggiato con un autocampionatore Agilent serie 7683B (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), interfacciato con un singolo quadrupolo Agilent 5975C mass spectrometer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Veniva utilizzata una colonna Agilent HP-5MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Si operava in modalità SIM (ioni 233, 234, 147 per il GHB; ioni 239, 240 e 147 per IS). Il LOD (limit of detection) e il LOQ (limit of quantification) calcolati analizzando un bianco di 25 mg di capelli decontaminati con aggiunta di quote decrescenti di GHB ed hanno fornito i valori di 0,4 ng/mg e 0,6 ng/mg rispettivamente. La linearità della curva di calibrazione è stata determinata a livelli di concentrazione di 1,0, 5,0, 10,0, 20,0 and 50,0 ng/mg. Accuratezza e precisione sono state valutate usando tre controlli (QC) a concentrazioni di 1,5, 2,5 and 15 ng/mg.

LC/MS-MS: aliquote di 25 mg di capelli preventivamente lavati per eliminare gli interferenti, e aggiunta di 50 ng di standard interno (GHB-d6) sono stati digeriti mediante 500 µl NaOH 1N a 75 °C per 40 min. L'incubazione è stata seguita da raffreddamento a temperatura ambiente. I campioni venivano addizionati con 600 µl di 1M H₂SO₄ e 3 ml di etilacetato, immediatamente agitati e centrifugati. Lo strato di supernatante veniva portato a secco e ricostituito tramite 50 µl di fase mobile (5 mM di acido formico e metanolo). E' stato utilizzato un HPLC Agilent 1290 Infinity system (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), interfacciato con un Triplo Quadrupolo Agilent 6460 equipaggiato con sorgente ionica electrospray (ESI). Colonna Zorbax SB-C18 Rapid Resolution HT (2.1 x 50 mm, 1.8 µm) a 30°C. (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Anche con questo metodo sono stati calcolati il LOD e il LOQ (valori di 0,5 ng/mg e 0,6 ng/mg rispettivamente). La linearità della curva di calibrazione è stata determinata a livelli di concentrazione di 0,6, 1,0, 5,0, 10,0, 20,0 and 50,0 ng/mg. Accuratezza e precisione sono state valutate usando tre controlli (QC) a concentrazioni di 0,7, 2,3 and 10,3 ng/mg.

Determinazione su matrice urinaria ed ematica

Il sangue e le urine del caso II sono stati analizzati mediante tecnica di gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS) secondo il metodo in uso di routine nel Laboratorio della Struttura di Tossicologia Forense della AOUC di Firenze, già

pubblicato⁸ ed allo scopo parzialmente modificato.

In breve:

GC/MS: estrazione di aliquote di 50 µl dei campioni (sia ematici che urinari) e dei calibratori (urine e sangue "drug free" addizionati rispettivamente con quantità di soluzione di GHB per una concentrazione finale di 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 µg/ml per il sangue e di 5,5, 11,0, 22,0, 44,0 88,0 µg/ml per le urine) , previa aggiunta di standard interno (GHB-d6) alle rispettive concentrazioni di 5,0 µg/ml e 50 µg/ml, mediante colonnine per estrazione in fase solida (SPE) opportunamente trattate come da istruzioni della ditta (Multi Prep®Anion Exchange della Biochemical Diagnostic Inc.). Lavaggio con acqua deionizzata, e successivamente con acetone; eluizione con acido acetico 0,05 M in metanolo; derivatizzazione con BSTFA (1%TMCS in etilacetato) per 20 minuti a 60°C. E' stata impiegata la medesima strumentazione GC/MS usata nel caso I con acquisizione in SIM degli ioni molecolari. Accuratezza e precisione "interday" sono state calcolate per ciascuna serie di determinazioni (sangue e urine rispettivamente) come deviazione standard relativa su tre controlli positivi a concentrazioni di 0,25, 1,8 e 3,0 µg/ml per il sangue e 11,0, 25,0 e 50,0 µg/ml per le urine.

Risultati

CASO I

Le concentrazioni di GHB nei 10 segmenti di capelli sono riportate nella successiva tabella (Tabella 1) : da notare le concentrazioni nei segmenti 2 e 3 (1,49 e 1,20 ng/mg in GC/MS - 1,26 e 1,38 in LC/MS/MS rispettivamente, media 1,33 ng/mg) identificabili come concentrazione di base (endoge-

segmento	cm dalla radice	GHB conc (ng/mg)	
		metodo GC/MS	metodo LC/MS/MS
1	1	3,52	4,08
2	1	1,49	1,26
3	1	1,20	1,38
4	2	4,74	4,56
5	2	7,97	6,48
6	2	8,93	7,23
7	2	9,53	8,56
8	2	8,65	7,39
9	2	8,22	8,95
10	2	10,34	9,15

Tab. 1 - Concentrazioni di GHB in segmenti sequenziali di matrice pilifera, secondo i due metodi di determinazione impiegati.

na) dello specifico soggetto; la concentrazione rilevata, per il segmento 1 (3,52 in GC/MS e 4,08 ng/mg in LC/MS/MS) rappresenta il transitorio accumulo nel bulbo pilifero. La sequenza delle concentrazioni nei segmenti di capelli è visualizzabile graficamente nella Figura nella quale è stato evidenziato anche il momento approssimativo dell'arresto (4 mesi circa prima del prelievo, come dalla storia cronologica del caso) corrispondente al periodo tra il segmento 4 e i segmento 3. Le concentrazioni dei segmenti successivi sono 2-5 volte superiori alla concentrazione "base".

CASO II

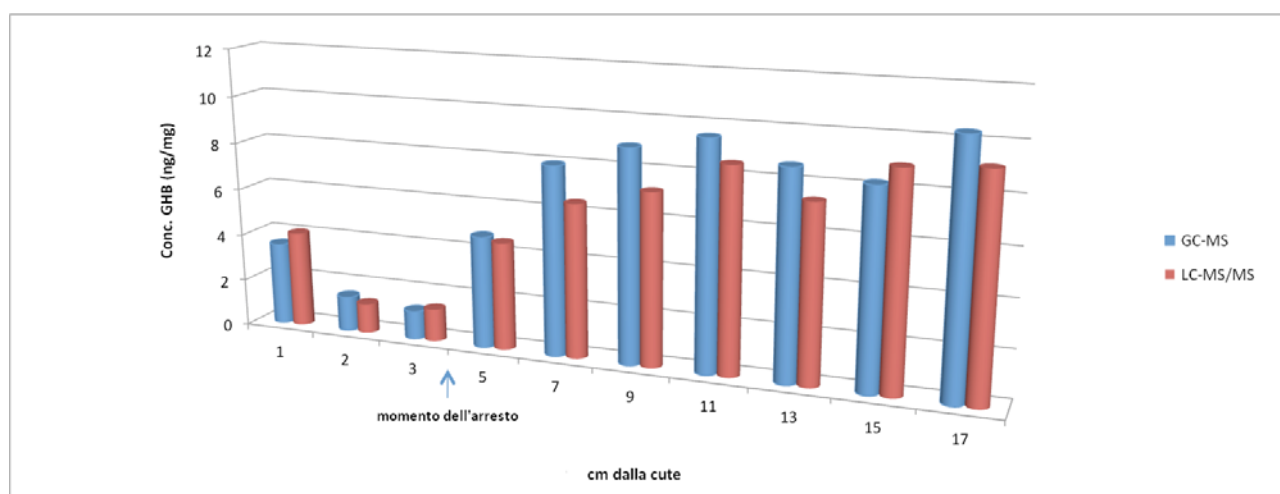


Figura. Visualizzazione grafica dei risultati della Tabella.

tempo presumibile dall'episodio	GHB conc (mcg/mg) metodo GC/MS	
	urine	sangue
7/8 ore	18,50	2,85

Tabella 2 Concentrazioni di GHB ematiche ed urinarie relativamente al CASO II

Le concentrazioni rilevate rispettivamente nelle urine e nel sangue della ragazza di cui al CASO II (riportate nella successiva Tabella 2) mostrano elevati livelli della molecola anche a circa 7/8 ore di distanza dall'episodio di assunzione inconsapevole di GHB (rispettivamente 18,50 µg/ml nelle urine ed ancora 2,85 µg/ml nel sangue

Discussione

La diffusa utilizzazione del GHB in varie modalità di consumo^{1,2}, qui illustrata, ne accresce l'interesse in ambito tossicologico-forense, con conseguente necessità di mettere a punto i metodi di determinazione analitica in diverse matrici biologiche. I metodi estrattivi e di determinazione analitica (GC/MS e LC/MS/MS) sviluppati e validati su differenti matrici biologiche^{6,8,10,23}, qui riproposti nella loro concretezza applicativa, hanno consentito di evidenziare la presenza del composto GHB sia dopo singola assunzione (caso II) che di abuso da dipendenza patologica (caso I), soddisfacendo pienamente le diverse esigenze valutative cliniche e le complesse implicazioni giudiziarie dei casi illustrati. Sotto il profilo analitico, in particolare, i metodi validati hanno mostrato buona linearità, sensibilità, accuratezza e precisione. La estrapolazione del dato analitico ed il trasferimento ad uno scenario di interpretazione tossicologico forense ha imposto, come peraltro già evidenziato dalla letteratura scientifica sul tema, un prudente "caveat", tanto nella valutazione delle rispettive quantità di endogeno/esogeno nelle diverse matrici biologiche⁵⁻⁸, quanto nel conclusivo giudizio "interpretativo" a fini legali^{8,14,17}, che impone l'applicazione della rigorosa criteriologia interpretativa tossicologica forense²². Come illustrato, il GHB è una molecola endogena ed è pertanto presente nell'organismo umano, in tutti i compartimenti biologici, ivi compresi gli annessi cutanei come capelli e pilozio in genere. Nella meccanica di incorporamento delle molecole esogene nel capello, va tenuto conto, riguardo al GHB, del

fatto che sussiste una concentrazione "basale", determinabile nel capello di ogni individuo, ma essa può essere diversa da individuo a individuo. In ogni caso, stanti i dati della più autorevole letteratura in materia, la concentrazione endogena di GHB nell'uomo (di poco variabile a seconda della tipologia e del colore del capello) è mediamente inferiore ai 2 ng/mg⁹. Va inoltre tenuto presente che il GHB, sia endogeno che esogeno (ossia conseguente non a produzione da parte dello stesso organismo umano, ma ad assunzione della molecola, per esempio a fini voluttuari), si accumula momentaneamente nel bulbo pilifero per essere rilasciato pochi giorni dopo ed essere trattenuto per tutta la lunghezza della matrice cheratinica del capello. E' buona norma, come osserva la letteratura in materia, tenere in considerazione questo fenomeno, valutando, in ordine alla differenziazione del GHB endogeno da quello "esogeno", la sua presenza nel capello con esclusione del primo centimetro (9/10 mm) prossimale, quello cioè più vicino al cuoio capelluto, per fenomeno di redistribuzione dal follicolo pilifero¹⁰. Nel caso in esame infatti, le concentrazioni rilevate nei tratti esaminati, corrispondenti a segmenti di 1 cm per i primi 3 cm prossimali e di 2 cm ciascuno per il resto della lunghezza (18 cm circa) hanno permesso di rilevare la concentrazione "di base" di GHB endogeno, per il soggetto in esame, attraverso i segmenti 2 e 3 con esclusione della concentrazione del cm 1 rappresentativo del transitorio accumulo rilasciato dal bulbo pilifero. Tutti gli altri segmenti di capello che è stato possibile esaminare (complessivamente 7 segmenti di 2 cm ciascuno) hanno mostrato concentrazioni di GHB nettamente superiori alla "linea basale endogena" del soggetto. L'indagine su matrice pilifera si è attestata quale ottimale finestra di determinazione, in quanto il periodo di osservazione, considerato il valore medio di crescita del capello (1 cm/mese), si è esteso a ritroso fino agli ultimi due mesi circa del 2010.

Le concentrazioni rilevate, sia con riferimento al valore medio basale di produzione endogena, sia avuto riguardo ai valori di concentrazione di cui alla letteratura, sono chiaramente indice di assunzione di GHB nel periodo indicato, ed essendovi inoltre continuità – ovvero persistente elevazione al di sopra del valore del basale endogeno – nella concentrazione rilevata, si è concluso per una assunzione cronica della molecola, nel contesto di dipendenza patologica dalla molecola; i risultati ottenuti si sono mostrati dunque in accordo sia con la storia del caso in esame (induzione all'uso e poi passaggio alla dipendenza da GHB in corso di terapia di disassuefazione

dall'abuso alcolico) e con le stesse dichiarazioni del soggetto; in questo scenario può aver trovato e risulta più che credibile l'approvvigionamento in quantità elevate del precursore chimico GBL, disponibile anche a prezzo contenuto on-line, in risposta alla necessità compulsiva di approvvigionamento della sostanza d'abuso tipica della tossicomania.

La discussione sulla valenza tossicologica forense del secondo caso in esame per il quale sono stati prodotti i dati (GC/MS) per le matrici urinaria ed ematica, prelevate a circa 7-8 ore di distanza dal presunto (e successivamente accertato) abuso sessuale, si incentra invece su aspetti inerenti la modalità (tempestività) del prelievo, sulla necessità di catena di custodia con certezza dell'appartenenza del o dei campioni di prelievo al soggetto, già all'esordio della sua presentazione in area clinica di emergenza, al fine di poter utilizzare tutti i dati emergenti da eventuali, possibili accertamenti. Infatti, nelle evenienze di area clinica di emergenza/urgenza riguardo a sospetti di assunzione inconsapevole di una droga di questo tipo (DFSA), il fondamentale problema non è tanto il "sovradosaggio", circostanza che invece è contemplata nella maggior parte delle evenienze di pronto soccorso tossicologico e per la quale è necessaria l'urgenza tossicologica di trattamento e quindi una risposta di laboratorio in tempi reali. Nei casi del sospetto di violenza sessuale, ove l'eventuale l'uso di armi o di sostanze alcoliche, narcotiche o stupefacenti o di altri strumenti o sostanze gravemente lesivi della salute della persona offesa costituisce specifica aggravante (art. 609 ter co 2) del reato, l'urgenza consiste nella repentinità del prelievo e dell'effettuazione di un prelievo "idoneo". La letteratura infatti osserva che le possibilità di rilievo di una sostanza come il GHB nei liquidi biologici sono legate alla sua permanenza nell'organismo per tempi assai brevi. Tuttavia la letteratura più recente osserva anche che i livelli della molecola rilevati nei liquidi biologici prelevati a tempi brevi sono molto elevati (sull'ordine delle decine o centinaia di µg/ml) anche a fronte di dosi terapeutiche, necessariamente sub-tossiche. Si segnala ancora che in alcuni contributi di letteratura⁸ i livelli di GHB sono ancora facilmente rilevabili nelle urine a tempi da 1 a 12 ore dopo la somministrazione di tali dosi, e sono comunque ancora, nella maggior parte dei casi, al di sopra di quello che è definito a livello internazionale – anche se a nostro avviso troppo alto⁸ – il cut-off (10 µg/ml) per la distinzione tra GHB endogeno o esogeno, come nel presente caso, in cui una concentrazione di 18,50 µg/ml Per quanto riguarda i valori ematici, sempre dopo somministrazione di tali dosi, i livelli a distanza di 1 ora sono sull'ordine dei microgrammi/ml con una media di 8,7 +/- 3,5 µg/ml, ma, come dimostrato dal caso di cui al presente articolo, la presenza del GHB nel sangue può essere determinata e quantizzata anche dopo circa 8 ore dall'esposizione (nel presente caso, ancora alla concentrazione di 2,85 µg/ml). E' evidente che, soprattutto a scopo forense, va tenuto conto, nell'interpretazione del dato, di quello che viene definito a livello internazionale il cut-off di 1 µg/ml per la distinzione tra GHB endogeno o esogeno^{9,10} prescindendo, talvolta anche dallo stesso valore che in ogni caso anche per il sangue, deve essere considerato solo indicativo.

La necessità di porre un giudizio diagnostico che possa avere, anche potenzialmente se non nell'immediato, un valore legale, ai fini dei due differenti scenari qui illustrati, richiede l'applicazione del rispetto dei fondamentali e irrinunciabili canoni della analitica tossicologica a scopo forense, cioè medico-legale, ed in particolare:

- identificazione del campione come appartenente alla persona (possibile, come noto, anche nel rispetto dell'anonimato)
- - repertazione in catena di custodia

- - rigorosa metodologia analitica secondo gli standard minimi delle Linee Guida della Tossicologia Forense²⁴
- - criteriologia interpretativa del/dei dati di accertamento analitico²².

Proprio soltanto grazie al rispetto dei suddetti canoni, in entrambi i casi descritti e giunti all'osservazione degli Autori, è stata possibile la fruizione dei dati degli accertamenti analitici, anche in sede dibattimentale.

Bibliografia

1. Tempesta E., Martinotti G. Le "date rape drugs: GHB, Flunitrazepam. In: Cedam ed. Trattato di medicina legale e scienze affini, 5 Vol: Le farmacodipendenze: aspetti diagnostici e terapeutici. 2^a edizione, 2009, pp. 369-371.
2. Dipartimento federale dell'Interno della Confederazione Svizzera, Ufficio Federale della sanità pubblica, Unità di Direzione Protezione dei consumatori: Gamma-idrossibutirrato (GHB), gamma-butilrolattone (GBL), 1-4butandiolo (BD), Factsheet GHB -Giugno 2009, aggiornamento febbraio 2012.
3. Snead O.C., Gibson K.M. Gamma-hydroxybutyric acid, N.Engl J Med, 2005, 352(26): 2721-2732.
4. Liecti M.E., Kupferschmidt H. Gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone (GBL) toxicity and concomitant drug and alcohol use, Drug Alcohol Depend, 2006, 81:323-6.
5. Shima N., Miki A., Kamata T., Katagi M., Tsuchihashi H. Endogenous level and in vitro production of GHB in blood from healthy humans and the interpretation of GHB levels detected in ante-mortem blood samples, J Health Sci, 2005, 51:147-54.
6. Lebeau M.A., Christenson R.H., Levine B., Darwin D.W., Huestis M.A. Intra- and inter-individual variations in urinary concentrations of endogenous gamma-hydroxybutyrate, J Anal Toxicol, 2002, 26: 340-346.
7. Stout P.A., Kelsie M.S., Simons D., Kerrigan S. Quantitative analysis of gamma-hydroxybutyrate at endogenous concentrations in hair using liquid chromatography tandem mass spectrometry, J Forensic Sci, 2010, 55: 531-537.
8. Mari F., Politi L., Trignano C., Di Milia M.G., Di Padua M., Bertol E. What constitutes a normal ante-mortem urine GHB concentration?, J Journal of Forensic and Legal Medicine, 2008, 1: 1-3.
9. Kintz P., Villain M., Pélissier A.L., Cirimele V. Unusually high concentrations in a fatal GHB case, J of Analytical Toxicology, 2005, 29: 582-585.
10. Kalasinsky K.S., Dixon M.M., Schumunk G.A., Kish S.J. Blood, Brain, and Hair GHB Concentrations Following Fatal Ingestion, J Forensic Sci, 2001, 55: 728-730.
11. Martin T.G. Drug Facilitated Sexual Assault- Epidemic or Urban Myth?, Clin Toxicol, 2005, 43:388-390.
12. Dyer J.E. Evolving abuse of GHB in California- bodybuilding drug to date-rape drug, J Toxicol Clin, 2000, 38(2): 184.
13. Kintz P., Cirimele V., Jamey C., Ludes B. Testing for GHB in hair by GC/MS/MS after a single exposure. Application to document sexual assault, J Forensic Sci, 2003, 48: 195-200.
14. Ferrara S.D., Tedeschi L., Frison G., Orlando R., Mazzo M., Zordan R.et.al. Effect of moderate or severe liver dysfunction on the pharmacokinetics of gamma-hydroxybutyric acid, Eur J Clin Pharmacol, 1996, 50: 305-310.
15. Dauvilliers Y., Arnulf L., Mignot E. Narcolepsy with cataplexy, Lancet, 2007, 369 (9460): 499-511.
16. Couper F.J., Logan B.K. GHB and driving impairment, J Forensic Sci, 2001, 46: 919-23.
17. Goullé J.P., Chèze M., Pépin G. Determination of endogenous levels of GHB in human hair: are there possibilities for the identification of GHB administration through hair analysis in cases of drug-facilitated sexual assault?, J of Analytical Toxicology, 2003, 27: 574-580.
18. Pepin G. Analytical, toxicological and forensic aspects of drug-facilitated crimes: 10 years of experience, Annales Pharmaceutiques Francaises, 2010, 68: 61-75.
19. Wells D. Drug administration and sexual assault: sex in the glass, Sci Justice, 2001, 41: 197-9.
20. Varela M., Noguè S., Mirò O. et al. Gamma-hydroxybutyrate use for

sexual assault, *Emerg Med J*, 2004, 21: 255-256.

21. Ropero-Miller J.D., Goldberger B.A. Recreational drugs. Current trends in the 90s, *Clin Lab Med*, 1998, 18: 727-46.

22. Bertol E., *Analitica tossicologica. Aspetti tecnici, interpretativi, giuridici e deontologici*. Società Editrice Esculapio, Bologna, 2011.

23. Bertol E., Argo A., Procaccianti P., et al. Detection of gamma-hydroxybutyrate in hair: validation of GC-MS and LC-MS/MS methods and application to a real case, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, accepted, in press 70: 518-22.

24. Sito Web GTFI : <http://www.gtfi.it/>

Linee Guida

Linee Guida indirizzate alle Strutture dotate di Laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente. Aggiornamento 4, 2012

Elisabetta Bertol¹, Renata Borriello², Marina Caligara³, Donata Favretto⁴, Roberto Gagliano Candela⁵, Cristiana Stramesi⁶, Elisa Saligari⁷, Sabina Strano Rossi⁸, Marcello Chiarotti⁸, Francesco Mari¹

1 - Università degli Studi di Firenze; 2 - II Università degli Studi di Napoli; 3 - Università degli Studi di Milano; 4 - Università degli Studi di Padova; 5 - Università degli Studi di Bari; 6 - Università degli Studi di Pavia; 7 - Università degli Studi di Brescia; 8 - Università Cattolica "S. Cuore" di Roma

In data 6 dicembre 2012 i membri del Consiglio Direttivo dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI) riunitosi a Firenze, ha approvato la versione n. 4 della proprie Linee Guida, indirizzate alle Strutture dotate di Laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici prelevati da vivente.

Esse sono frutto del lavoro della Commissione istituita "ad hoc" che ha provveduto a questa recente revisione, che sostituisce la revisione n. 3 del 2010, perfezionando alcuni aspetti propriamente forensi di tale tipologia analitica, ribadendo con specifiche raccomandazioni i concetti che devono supportare le procedure per particolari accertamenti eseguibili a fini normativi (specie in relazione al Codice della Strada ed alle mansioni lavorative a rischio di terzi) ponendo chiarezza sulla peculiarità finalistica di tali indagini analitiche e sulla necessità che esse vengano prodotte in Strutture culturalmente preparate, tecnologicamente attrezzate e costantemente aggiornate anche in tema giuridico, e soprattutto consapevoli della necessità di perseguire e mantenere costantemente un elevato livello di qualità secondo metodologie accertative e criteriologie interpretative condivise dalla comunità scientifica internazionale

Guidelines for Laboratories performing analysis of drugs of abuse in specimens collected from living subjects for forensic toxicological and medico-legal purposes, Version n. 4, 2012

On December 6th 2012 the members of the Scientific Board of the "Group of Italian Forensic Toxicologists" (GTFI) met in Florence and approved the version no. 4 of its Guidelines, intended for Laboratories performing analysis of drugs of abuse in specimens collected from living subjects for forensic toxicological and medico-legal purposes.

This revision of Guidelines, replacing the revision n. 3 of 2010, is the result of the efforts of all the professionals of the GTFI "Quality Commission", ad hoc designated.

In this version, specific recommendations call the attention to the underlying principles of forensic toxicological investigations for mandatory purposes, especially in relation to the Italian Highway Code and to legislation on the Workplace drug testing, with an emphasis on clear and sound results interpretation.

Analysis of drugs of abuse for forensic toxicological and medico-legal purposes must be conducted by credited Institutions and their Laboratories, with qualified personnel and high level instruments. The Laboratories should always pursue, maintain and increase a consistently high level of quality in agreement with methodologies and interpretation criteria shared by the international scientific community.

Parole chiave: *Linee guida, Tossicologia forense, Campioni biologici*

Keywords: *Guidelines, Forensic Toxicology, Biological specimens*

Contatti: Prof.ssa **Elisabetta Bertol**

*Dipartimento di Anatomia, Istologia e Medicina Legale
Facoltà di Medicina e Chirurgia
Università degli Studi di Firenze
Via Morgagni, 85 - 50134 Firenze
elisabetta.bertol@unifi.it*

Premessa storica

Le Linee Guida in tema di accertamenti analitici di sostanze d'abuso a scopi tossicologico-forensi e medico-legali furono elaborate per la prima volta nell'anno 2000 dalla Commissione Qualità dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (da qui in avanti nominata per brevità GTFI) nell'ambito dei Progetti di ricerca del Ministero della Salute in tema di: "Miglioramento della qualità analitica nell'analisi tossicologica delle sostanze d'abuso e standardizzazione delle procedure analitiche adottate nella diagnostica di laboratorio, nonché di formazione specifica del personale preposto agli accertamenti tossicologici".

Le Linee Guida sono state sinora oggetto di revisione ed aggiornamento periodici. Nel luglio 2003 è stata pubblicata una prima revisione successivamente aggiornata nel maggio 2008 (revisione n. 2)

La revisione n. 3, pubblicata nel 2010, si rese necessaria per meglio esplicitare i concetti della qualità, perfezionare alcuni aspetti propriamente tossicologico-forensi ed introdurre le procedure relative alla determinazione dell'alcolemia con finalità forensi.

Nell'ottica del concetto delle periodiche revisioni, la presente versione (rev. n. 4) ribadisce i principi fondanti in tema di qualità cui devono attenersi le Strutture dotate di laboratori che effettuano accertamenti di sostanze d'abuso con finalità tossicologico-forensi e medico-legali su campioni biologici da vivente, tenendo conto dei più recenti aggiornamenti previsti dalla normativa vigente (specie in relazione al Codice della Strada ed alle mansioni lavorative a rischio di terzi) ponendo chiarezza nel ribadire la peculiarità di questa tipologia di accertamenti.

Fermi restando quindi i concetti già condivisi ed approvati nelle precedenti versioni anche sulla base dell'interpretazione delle norme UNI EN ISO 9000:2005; UNI EN ISO 15189:2007; UNI EN ISO 9001:2008 e del recepimento di alcuni requisiti della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005, anche la presente versione si articola nelle seguenti sezioni:

1. Scopo e applicazioni
2. Termini e definizioni
3. Personale
4. Procedure
5. Requisiti per le attività analitiche
6. Accettazione, prelievo, manipolazione e movimentazione dei campioni
7. Metodi analitici
8. Referto o Rapporto analitico
9. Assicurazione della qualità

1. SCOPO E APPLICAZIONI

Gli accertamenti di sostanze d'abuso a scopo forense sono

suscettibili di miglioramento analitico continuo dovuto non solo al consolidamento di nuove metodologie e strumentazioni, ma soprattutto ai progressi scientifici nell'individuazione di nuovi marcatori specifici di abuso come anche della utilizzabilità di matrici biologiche alternative o complementari a quelli di impiego tradizionale.

Detti accertamenti, assumendo carattere di prova giudiziaria, 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.

Un elevato livello qualitativo dei risultati dei suddetti accertamenti analitici è assicurato non solo dall'utilizzo di metodi e tecniche consolidate e condivise dalla società scientifica internazionale, ma anche dall'assicurazione che gli stessi risultati provengano da Strutture culturalmente preparate, costantemente aggiornate, dotate di organizzazione efficiente e caratterizzate da elevata affidabilità nel tempo, individuandosi in queste – preferibilmente anche se non esclusivamente – le Strutture di Tossicologia Forense accademiche.

1.1. Scopo

Ciò premesso, l'obiettivo delle presenti Linee Guida è dunque riassumibile nei seguenti punti:

- diffondere e promuovere la cultura analitico-tossicologica applicata alla diagnosi a scopo forense, frutto dell'esperienza maturata negli anni dal GTFI nello sviluppo e nell'esecuzione degli accertamenti analitici e soprattutto nell'interpretazione critica dei risultati in ordine al loro significato biologico e statistico;
- favorire l'acquisizione, da parte delle Strutture dotate di specifici e dedicati laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso a scopo forense, dei requisiti per un'organizzazione efficiente, efficace ed affidabile nel tempo attraverso l'adozione di un sistema di gestione per la qualità;
- mettere a disposizione delle Strutture dotate di specifici e dedicati laboratori per gli accertamenti di sostanze d'abuso a scopo forense e che dispongano di risorse culturali, umane, materiali e strumentali adeguate, uno strumento di riferimento per un corretto approccio analitico improntato all'armonizzazione e alla confrontabilità dei risultati fornendo indicazioni e raccomandazioni sulla gestione dei processi analitici, ed un riferimento per la refertazione degli accertamenti analitico-tossicologici con finalità forensi e medico legali.

1.2. Applicazioni

Le Linee Guida, ideate quale elemento di autodisciplina e requisito fondamentale di un sistema di gestione per la qualità, si propongono come componente essenziale di un auspicabile processo di "accreditamento all'eccellenza" per Struttu-

re dotate di laboratori di analisi di sostanze d'abuso a scopo forense.

E' necessario, quindi, che dette strutture adottino un sistema di gestione per la qualità che esprima e verifichi la politica della qualità, basato sui seguenti principi:

- efficacia organizzativa;
- eccellenza del risultato
- costante miglioramento dello standard di qualità
- responsabilizzazione del personale nell'assicurare la qualità del lavoro svolto e diffusione della politica della qualità a tutto il personale della Struttura;
- costante riesame della politica della qualità e dei relativi obiettivi.

1.3. Ambito di applicazione

Le presenti Linee Guida devono essere obbligatoriamente recepite ed applicate da tutte le Strutture dotate di laboratori con documentabili caratteristiche di cui al paragrafo 1.1., che vogliano eseguire accertamenti di sostanze d'abuso in materiale biologico, con finalità applicativa di disposti di legge dettati dalla normativa vigente. Dette Strutture, per brevità, saranno da qui in avanti chiamate indifferentemente Strutture o Laboratori.

Le Strutture che operano in questo ambito devono pertanto attenersi ai principi enunciati nelle presenti Linee Guida, sotto il profilo organizzativo e metodologico, al fine di rispettare i requisiti di uniformità e verificabilità che garantiscono la sicurezza di qualità in ordine a:

- organigramma del personale, della sua qualificazione scientifica, compiti e relative responsabilità;
- procedure di acquisizione dei campioni e di analisi;
- procedure di validazione dei metodi analitici;
- criteri minimi di identificazione e quantificazione;
- valori di cut-off per i diversi campioni biologici;
- monitoraggio interno ed esterno dell'affidabilità analitica;
- modalità di stesura e di emissione del rapporto analitico o referto, con interpretazione critica del significato dei risultati e indicazione dell'ambito della loro utilizzabilità.

2. TERMINI E DEFINIZIONI

Attestazione di qualità: processo volto al miglioramento continuo della qualità, mediante il quale una Struttura si sottopone alla valutazione di un ente indipendente per la verifica del proprio operato secondo requisiti predeterminati

Analisi: il termine (così ridotto per brevità) è riferito in questo testo agli accertamenti analitici a scopo forense di sostanze d'abuso in campione biologico prelevato da vivente, spendibili anche come prova giudiziaria nell'applicazione di normative vigenti

Analisi di screening: Analisi preliminare che fornisce un risultato presuntivo (probabile negatività o positività - non negatività -) di un campione rispetto ad una sostanza/classe di sostanze e in riferimento a un valore di cut-off prestabilito. Per definizione, un risultato ottenuto con un'Analisi di screening non possiede valenza forense.

Analisi di conferma: Analisi da eseguirsi obbligatoriamente con un metodo dotato di maggiore specificità rispetto all'Analisi di screening, fondato su principi chimico-fisici diversi, al fine di identificare specificamente una sostanza e/o suoi metaboliti individuati in maniera presuntiva attraverso l'Analisi di screening.

Analisi di revisione (o Controanalisi): Analisi eseguita su un

campione di revisione (controcampione) con un metodo avente caratteristiche di specificità e di sensibilità uguali o superiori a quelle del metodo analitico utilizzato per un'Analisi oggetto di contestazione. Il soggetto ha facoltà di assistere, tramite un proprio legale e/o tramite un proprio consulente tecnico, al riconoscimento del campione, alla verifica dell'integrità dello stesso e a tutte le procedure dell'analisi di revisione. L'analisi di revisione può essere effettuata dal medesimo Laboratorio che ha eseguito l'analisi di prima istanza ovvero da Laboratori specificamente individuati sulla base di una valutazione esterna oggettiva, ufficialmente riconosciuti per tale scopo, e documentanti la piena adesione alle presenti Linee Guida.

Analisi qualitativa: fornisce un risultato in termini di presenza/assenza di un analita per un valore di cut-off ove previsto da specifiche normative, o comunque predeterminato.

Analisi quantitativa: misura la concentrazione di uno o più analiti con un livello predeterminato di precisione e accuratezza.

Assicurazione della qualità: rispetto delle Procedure Documentate (gestionali e tecniche) attraverso l'applicazione rigorosa delle istruzioni operative e il monitoraggio continuo delle varie fasi della gestione del processo analitico.

Batch: gruppo di campioni esaminati in serie o in parallelo, analizzati nell'ambito della stessa sessione.

Bianco o campione bianco: campione biologico in precedenza sottoposto ad Analisi per una o più sostanze e risultato negativo (inferiore o uguale al LOD)

Bias (inaccuratezza): misura dell'inaccuratezza di un metodo analitico quantitativo ad una determinata quantità o concentrazione di analita. Si ottiene per differenza tra il valore medio di una serie di misurazioni ripetute su aliquote diverse di uno stesso campione e il valore reale.

Campione: prelievo di matrice biologica su cui sarà eseguita l'Analisi.

Calibratore: campione contenente una quantità definita di analita, nota all'operatore, allestito in matrice biologica uguale o, simile a quella dei campioni da analizzare, da utilizzare per l'allestimento della curva di calibrazione.

Carry-over (effetto di "trascinamento" o "effetto memoria"): misurabile attraverso l'Analisi di un bianco successivamente all'Analisi di un campione contenente una quantità/concentrazione di analita. Se l'Analisi di tale bianco produce un risultato inferiore al LOD (si veda oltre) il carry-over del metodo è accettabile.

Catena di custodia: procedura documentata atta a garantire l'autenticità, l'integrità e la tracciabilità di un campione dal momento del prelievo/raccolta sino allo smaltimento; essa deve permettere, tra l'altro, di ricostruire l'iter del campione all'interno del Laboratorio, di conservarlo verificandone le condizioni, di preservarlo in tutte le fasi da manomissioni e adulterazioni volontarie o involontarie, nonché di individuare tutte le movimentazioni e manipolazioni del campione, con registrazione della data e dell'operatore.

Coefficiente di Variazione (CV) o deviazione standard relativa (RSD): indice di dispersione delle misure analitiche, utilizzato per misurare la precisione di una determinazione quantitativa, dato dal rapporto percentuale della deviazione standard di una serie di misurazioni, eseguite su aliquote diverse di uno stesso campione, e il valore della media aritmetica di tali misurazioni.

Controcampione (campione di revisione): campione predisposto in sede di prelievo contestualmente al campione sul quale sarà eseguita un'Analisi.

Controllo: campione contenente una quantità definita e nota di analita, preferibilmente diversa da quella dei calibratori, al-

lestito in matrice biologica uguale o simile a quella dei campioni reali.

Controllo cieco: controllo non dichiarato, atto a verificare la conformità di un'Analisi alla rispettiva Procedura Documentata; se di concentrazione ignota all'operatore di un Laboratorio a cui tale campione è inviato o ad uno o più operatori del Laboratorio (controllo cieco ad uso interno) è utilizzato per valutare se, e in che misura, il risultato analitico prodotto soddisfa caratteristiche di qualità prestabilite (controllo di qualità interno).

Criteri di identificazione e quantificazione: insieme di criteri prestabiliti che devono essere simultaneamente e obbligatoriamente verificati al fine di attribuire il grado di specificità richiesto per l'identificazione di un analita e/o di precisione e accuratezza per la sua quantificazione

Curva di calibrazione: valutazione grafica e matematica della relazione esistente tra quantità o concentrazione di un analita e il segnale da esso prodotto.

Cut-off/Valore Soglia/Soglia Decisionale: limite di concentrazione definito, in maniera convenzionale, per stabilire la negatività ovvero la positività (non negatività nel caso di Analisi di screening) di un campione. Il valore di cut-off, pertanto, può variare dipendendo dall'ambito di applicazione dell'analisi.

Effetto matrice: effetto combinato di tutti i componenti di un campione biologico, o di un suo estratto, diversi dall'analita sulla misura della quantità dell'analita stesso.

Imprecisione: caratteristica di un metodo analitico che si riferisce alla dispersione di una serie di misurazioni ripetute su aliquote diverse di un medesimo campione. Essa può essere stimata dal coefficiente di variazione ottenuto ad una determinata concentrazione o quantità di analita. E' generalmente misurata all'interno di una sessione analitica e tra sessioni analitiche diverse.

Inaccuratezza: vedi Bias

Incertezza di misura: parametro associato al risultato di una misurazione che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando ed espresso nella stessa unità di misura

Intervallo di calibrazione (o di linearità): intervallo all'interno del quale un metodo è in grado di produrre risultati quantitativi che soddisfino predeterminati criteri di accettabilità.

Limite inferiore di quantificazione, Lower Limit of Quantification (LLOQ): la concentrazione o quantità più piccola di analita che il metodo è in grado di misurare con sufficiente accuratezza e precisione.

Limite di rivelabilità, Limit of Detection (LOD): la più piccola quantità di un analita in un campione che determina un segnale distinguibile dal segnale prodotto da un controllo negativo (bianco)

Limite superiore di quantificazione, Upper Limit of Quantification (ULOQ): Concentrazione o quantità più elevata di analita che un metodo analitico è in grado di misurare con sufficiente accuratezza e precisione.

Manuale della Qualità: raccolta della documentazione concernente tutta l'attività; contiene le Procedure Documentate (Gestionali e Tecniche).

Materiale di Riferimento Certificato (Certified Reference Material CRM): campione di matrice biologica, omogeneo e stabile per un periodo di tempo specificato, contenente quantità note e certificate di uno o più analiti.

Procedure Documentate: Procedure scritte relative a tutte le attività gestionali e tecniche della Struttura

Proficiency Testing (PT): percorso di miglioramento della qualità della Struttura, generalmente su base volontaria, svolto mediante l'esame periodico di controlli ciechi al fine di in-

dividuare errori di natura sistematica o casuale e adottare le necessarie contromisure, la cui efficacia potrà essere valutata nei controlli successivi.

Referto o Rapporto analitico: è il prodotto finale del processo analitico e, in ordine ai presenti obiettivi (finalità forense) deve contenere anche commento interpretativo dei risultati analitici.

Risultato negativo: risultato inferiore al cut-off/Valore Soglia/Valore Decisionale.

Risultato positivo: identificazione dell'analita nel rispetto dei criteri di identificazione prestabiliti, con presenza nel campione in concentrazione superiore o uguale al cut-off/Valore Soglia/Valore Decisionale.

Robustezza: caratteristica di un metodo analitico riferita alla capacità di produrre nel tempo risultati validi e stabili.

Specificità analitica (o Selettività): capacità di un metodo analitico di identificare un determinato analita in presenza di altre sostanze. (quali metaboliti, prodotti di degradazione, componenti endogeni della matrice biologica, impurezze, altri xenobiotici)

Stabilità: misura la suscettibilità dell'analita a fenomeni degradativi-idrolitici di natura biotica (nel campione biologico, successivamente al prelievo) e/o abiotica (esposizione a luce, calore, pH, cicli di congelamento / scongelamento).

Taratura: definizione delle caratteristiche di misurazione di uno strumento di misura tramite confronto con una grandezza o con uno strumento di riferimento.

Validazione di un metodo analitico: insieme di prove atte a valutare la capacità di un metodo analitico di raggiungere gli obiettivi per i quali è stato predisposto.

Verifica Esterna della Qualità (VEQ): monitoraggio esterno dell'affidabilità analitica di un Laboratorio effettuata da un organismo indipendente, valutata attraverso l'esame dei risultati quali-quantitativi ottenuti dall'Analisi di una serie di controlli ciechi. Diversamente da un Proficiency Testing, la partecipazione a una VEQ può essere resa obbligatoria in forza ad alcune norme: in tal caso può determinare provvedimenti di natura limitativa e/o sanzionatoria nei confronti dei Laboratori che non rispettano gli standard minimi previsti dalla VEQ.

3. PERSONALE

3.1. Direzione di una Struttura

(dotata per definizione di laboratorio per accertamenti di sostanze d'abuso a scopo forense)

La Direzione di una tale Struttura comporta l'assunzione di responsabilità professionali, organizzative, educative ed amministrative. Compito della Direzione è anche quello di compilare una relazione interpretativa (o apporre commenti interpretativi) dei risultati analitici, parte integrante del referto analitico.

Tale carica richiede il possesso di una laurea in discipline scientifiche, accompagnata da una specifica competenza in diagnostica chimico-tossicologica, ottenuta attraverso idoneo e documentabile percorso formativo di tipo universitario ovvero attraverso una provata esperienza nel settore per un periodo continuativo di almeno cinque anni, e documentata da pubblicazioni scientifiche pertinenti e da continuità nell'aggiornamento.

3.2. Organico del Laboratorio

Il personale deve possedere una preparazione specifica in campo tossicologico-analitico associata ad una documentata formazione professionale adeguata alle responsabilità specifiche e deve approfonditamente conoscere le normative vigenti relative alle analisi delle droghe d'abuso in materiale biologico. L'attività di addestramento e di aggiornamento del personale del Laboratorio deve essere documentata e conservata. La numerosità del personale preposto alle analisi di sostanze d'abuso deve essere adeguata al numero degli accertamenti svolti nel laboratorio. E' indispensabile la presenza di almeno un altro laureato in discipline scientifiche idonee, con adeguata esperienza in tossicologia analitica (documentata dal percorso formativo, dall'esperienza, dall'aggiornamento e da pubblicazioni scientifiche pertinenti) che coordini e supervisioni l'attività del personale, accertando il rispetto delle procedure e verificando in costanza i requisiti di qualità (Responsabile di Laboratorio)

3.3. Norme minime di sicurezza

Nel Laboratorio devono essere messe in atto procedure finalizzate alla tutela della incolumità degli operatori e, in particolare, deve essere fornita adeguata informazione ed indicazione dei rischi, delle misure necessarie per la loro prevenzione e, in generale, per la sicurezza degli operatori nel rispetto della normativa vigente. Il Direttore, o un suo referente, al quale è conferito l'incarico di "Responsabile della Sicurezza", deve accertarsi che tali disposizioni siano rigorosamente rispettate. La manipolazione e lo smaltimento dei materiali a rischio devono essere regolamentate da specifiche procedure, nel rispetto della normativa vigente.

4. PROCEDURE

4.1. Generalità

Il Laboratorio deve redigere e conservare in forma documentale le procedure relative a tutte le attività gestionali e tecniche realizzate, da includere nel Manuale della Qualità.

4.2. Procedure Documentate

Le Procedure Documentate descrivono in dettaglio tutte le attività necessarie al corretto svolgimento di ogni tipo di accertamento analitico-diagnostico che il Laboratorio dichiara di effettuare; contengono anche il metodo analitico e stabiliscono sequenze ordinate di azioni ed eventi affinché tutti i processi in esse descritti, realizzati in modo omogeneo e riproducibile, consentano di effettuare ogni Analisi in condizioni standardizzate.

Per l'Attività Gestionale sono necessarie Procedure Documentate relative a:

- definizione dei requisiti del prodotto (caratteristiche e finalità di un'Analisi nonché del relativo risultato);
- catena di custodia;
- accettazione del campione;
- utilizzo di controlli di qualità interni ed esterni;
- utilizzo, manutenzione ordinaria e taratura degli strumenti di misura e della strumentazione analitica;
- redazione, consegna/invio del referto (rapporto analitico);

- tutela e riservatezza dei dati personali sensibili e dei risultati;
- archiviazione e conservazione della documentazione analitica e dei dati ad essa correlati;
- monitoraggio e miglioramento della qualità;
- qualificazione, formazione ed aggiornamento del personale.

Per l'Attività Tecnica le Procedure Documentate devono riportare dettagliatamente:

- finalità dell'Analisi (obiettivi diagnostici e ambiti applicativi dell'Analisi; elenco dei singoli analiti o delle classi di sostanze che l'Analisi è in grado di rilevare presuntivamente o identificare specificamente e/o quantificare; matrice biologica alla quale l'Analisi si applica; eventuale valore di cut-off);
- principio del metodo analitico con eventuali riferimenti bibliografici;
- elenco dei parametri di validazione utilizzati e dei rispettivi valori ottenuti;
- dettagli operativi con riferimento agli standard di riferimento, ai reagenti (composizione, preparazione, precauzioni d'uso, condizioni di conservazione, caratteristiche di instabilità o deterioramento, durata di validità), ai solventi ed altri prodotti consumabili
- caratteristiche qualitative e quantitative della matrice biologica necessarie per poter eseguire l'Analisi ed eventuali ripetizioni;
- procedura per l'allestimento del campione e dei controlli, per la loro identificazione e posizionamento nel batch analitico;
- strumentazione utilizzata con riferimento alle relative procedure di manutenzione ordinaria, di verifica della funzionalità e di taratura nonché alla loro periodicità;
- criteri prestabiliti per l'accettabilità di una sessione di Analisi;
- criteri minimi di identificazione e/o quantificazione di ciascun analita o classe di sostanze.

Ciascuna Procedura Documentata tecnica riferita ad un metodo di screening o di conferma, deve prevedere, nell'ambito di ciascuna sessione analitica, un numero di controlli positivi e negativi commisurato alla numerosità dei campioni da esaminare (almeno un controllo positivo e un controllo negativo ogni 10 campioni) al fine di assicurare la qualità dei risultati prodotti e adottare le azioni correttive qualora non sia rispettato il requisito dell'accettabilità dei risultati.

4.3 Gestione delle Procedure Documentate (Attività Tecniche)

Ciascuna Procedura Documentata tecnica utilizzata dal Laboratorio, sia che riproduca un metodo sviluppato da terzi e descritto in letteratura, sia che rappresenti il frutto dell'attività di ricerca del Laboratorio stesso, deve essere sottoposta a validazione ed approvata.

5. REQUISITI PER LE ATTIVITA' ANALITICHE

5.1. Sistema di Gestione per la Qualità delle Analisi di screening e di conferma

Il Laboratorio deve erogare i propri servizi e sviluppare i relativi processi in condizioni controllate e deve adottare un sistema di gestione per la qualità per tutte le attività relative

ai processi dedicati ad Analisi a scopo tossicologico forense e medico-legale. Per tali attività il Laboratorio deve dichiarare nel Referto la conformità alle presenti Linee Guida.

Il Laboratorio può emettere referti con validità tossicologico-forense/medico-legale solo nel caso in cui il proprio sistema di gestione per la qualità comprenda, oltre all'Analisi di screening, anche l'Analisi di conferma e/o l'Analisi quantitativa.

5.2. Finalità diagnostiche e Matrici Biologiche

Le Analisi tossicologiche con finalità diagnostiche in ambito forense prevedono l'esame di matrici cosiddette "convenzionali" (sangue, urina) e/o di matrici "alternative" (matrice pilifera, fluido orale, sudore), i cui rispettivi esiti, da soli o in combinazione tra loro, forniscono elementi utili per una corretta diagnosi con valenza tossicologico forense/medico-legale in diverse fattispecie, quali ad esempio guida sotto l'influenza di sostanze d'abuso, idoneità alla guida, infortunistica stradale, mansioni lavorative a rischio per l'incolumità e la sicurezza di terzi, idoneità al porto d'armi, idoneità a specifiche norme concorsuali e/o contrattuali, affidamento di minori, separazioni, divorzi, annullamento di matrimonio, adozioni internazionali, diagnosi di consumo, diagnosi di intossicazione (in attualità di effetto biologico ovvero "sotto l'influenza di"), diagnosi di tossicodipendenza, ecc.

Pertanto il Laboratorio che dichiara la sua competenza nell'esecuzione di accertamenti con finalità tossicologico-forensi e medico-legali deve dimostrare di essere in grado di eseguire l'Analisi almeno su campioni biologici quali sangue, fluido orale, urina, matrice pilifera; il Direttore deve essere altresì in grado (per le caratteristiche già sopra descritte) di valutare, a seconda delle varie esigenze e richieste, la tipologia di matrice biologica necessaria e la metodologia da adottare.

Si riportano di seguito, a titolo esplicativo ma puramente esemplificativo, situazioni di frequente osservazione:

- nei casi in cui si debba valutare la "attualità d'uso di sostanze illecite", ovvero la sussistenza degli effetti prodotti da una sostanza d'abuso, le indagini devono necessariamente essere eseguite su sangue. Anche la saliva (più propriamente il fluido del cavo orale) può essere utilizzata a tale scopo, pur valutando la più ampia finestra di monitoraggio rispetto al sangue;
- per la determinazione del consumo "recente" di sostanze d'abuso (con una finestra di rilevabilità temporale di ore/giorni a seconda delle caratteristiche farmacocinetiche della sostanza in questione) il campione d'elezione è l'urina. Tale campione può essere impiegato anche per la determinazione dello stato di assuntore cronico qualora l'Analisi sia estesa a

più campioni raccolti in giorni diversi e "a sorpresa" (vale a dire con preavviso all'interessato il più breve possibile, comunque non superiore alle 24 ore);

- è inaccettabile, per diagnosticare l'effetto biologico prodotto da una sostanza d'abuso a scopo tossicologico-forense e medico-legale (ad esempio uno stato di alterazione psicofisica per uso di sostanze stupefacenti), l'impiego della matrice urinaria. Ciò dal momento che la rilevabilità di una sostanza e/o di suoi metaboliti nell'urina può protrarsi anche oltre la sua completa eliminazione dal sangue (e quindi la cessazione dell'effetto biologico).

- lo stato di assuntore cronico, come pure comportamenti pregressi di uso/abuso, possono essere verificati attraverso accertamenti di matrice pilifera (campioni di capelli e/o peli). L'Analisi segmentale dei capelli consente di ricostruire la cronologia dell'assunzione. L'Analisi di peli provenienti da altri distretti corporei (ascelle, torace, pube) non permette valutazioni cronologiche attendibili, pur testimoniando l'uso pregresso, ma considerando il tempo complessivo di ricambio del pelo in una area corporea sufficientemente estesa, può essere valutata una "finestra temporale" di circa 8 mesi - un anno. Particolare cautela deve però essere posta nella valutazione e qualora si tratti di un risultato ottenuto dall'Analisi dei peli pubici (se espresso in termini quantitativi) la valutazione diviene più complessa, attesa la possibilità di contaminazione attraverso le urine.

5.3. Campioni biologici

La minima quantità di campione biologico e di controcampione ritenuta sufficiente per l'esecuzione di ciascuna Analisi deve essere indicata dal Laboratorio nella corrispondente Procedura Documentata. Essa deve tenere in considerazione la eventuale necessità di esaminare il campione più volte, anche in rapporto al numero degli analiti oggetto d'indagine, alla finalità dell'esame qualitativa e/o quantitativa, o alla necessità per qualsivoglia motivo di ripetere l'Analisi stessa. La tabella successiva riporta volumi e quantità minime necessari per eseguire uno screening per sostanze d'abuso e le relative Analisi di conferma.

Per ogni campione biologico debbono essere chiaramente indicate in una specifica Procedura Documentata le modalità di prelievo, di trasporto, di conservazione prima dell'Analisi, nonché le condizioni ed il tempo di stoccaggio dopo l'esecuzione dell'Analisi.

5.4. Manutenzione, Monitoraggio e Taratura degli Strumenti di Misurazione e della Strumentazione Analitica

Per ciascuno strumento di misurazione di peso, volume, temperatura e pH, nonché per la strumentazione analitica, il Laboratorio deve stabilire ed indicare in apposita Procedura Documentata le modalità e la cadenza della manutenzione ordinaria, del monitoraggio delle prestazioni e della taratura. Tali Procedure Documentate devono essere incluse nel Manuale della Qualità.

Frigoriferi e congelatori devono essere dotati di un sistema di monitoraggio manuale (con cadenza almeno quotidiana) o automatico della temperatura. A tal fine, il Laboratorio deve disporre di almeno 1 termometro certificato da Laboratori di Taratura (LAT) da utilizzare per la taratura degli altri termometri impiegati. Analogamente, il Laboratorio deve disporre di uno o più pesi di riferimento certificati per la taratura della

Tabella. Volumi e quantità minimi delle diverse matrici biologiche raccomandati per l'esecuzione di uno screening per sostanze d'abuso e delle relative analisi di conferma.

Matrice Biologica	Campione	Controcampione	Volume o Quantità totale
Urina	15 mL	15 mL	30 mL
Sangue per alcolemia	3mL	3 mL	6 mL
Sangue per altre sostanze d'abuso	5 mL	5 mL	10 mL
Matrice pilifera ^a	40 mg	40 mg	80 mg
Saliva (fluido orale) ^b	1 mL	1 mL	2 mL

^a) in caso di analisi segmentale la quantità è riferita a ciascun segmento

^b) per i campionatori commerciali, marca, modello e volume raccolto devono essere specificati nel referto.

bilancia analitica e di tamponi di riferimento per la taratura del pHmetro.

Il monitoraggio delle misure di taratura deve essere registrato in cartaceo e conservato per almeno 3 anni.

5.5 Rintracciabilità della documentazione analitica e di ogni altra documentazione relativa al campione

Il Laboratorio deve attuare un sistema di registrazione e archiviazione di tutte le informazioni in cartaceo e in forma elettronica relative alle Analisi strumentali eseguite, in modo che ciascuna di esse sia completamente rintracciabile e documentabile.

Nella Procedura Documentata vanno stabilite le modalità e la frequenza di back-up della documentazione analitica.

In aggiunta alla documentazione analitica, il Laboratorio è tenuto a conservare:

- la documentazione cartacea relativa ai campioni (es. moduli di richiesta, di accettazione, di prelievo, di trasporto);
- la documentazione, cartacea ed elettronica, relativa alla catena di custodia;
- copia del referto/rapporto analitico;
- la documentazione relativa alla certificazione (o alla verifica) del grado di purezza e della durata di validità degli standard di riferimento;
- i dati relativi alla manutenzione, al monitoraggio e alla taratura degli strumenti di misurazione e della strumentazione analitica (cfr. paragrafo 5.4) per almeno 3 anni dalla data di emissione del referto, se non diversamente indicato da normativa specifica.

6. ACCETTAZIONE, PRELIEVO, MOVIMENTAZIONE E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

6.1. Accesso al Laboratorio

L'accesso al Laboratorio deve essere limitato soltanto alle persone autorizzate; il Laboratorio deve adottare misure atte a garantire che l'accesso di estranei al Laboratorio non possa avvenire né durante, né al di fuori dell'orario di operatività.

6.2. Limitazioni e cautele

I Laboratori che eseguono anche Analisi su reperti non biologici (es. preparati illeciti contenenti sostanze d'abuso, farmaci, miscele o altro), devono effettuare l'acquisizione, la manipolazione e lo stoccaggio di tali reperti in ambienti diversi rispetto a quelli in cui vengono accettati e trattati i campioni biologici onde evitare il rischio di contaminazione ambientale.

6.2.1. Accettazione di una richiesta di Analisi

Nel caso in cui il campione biologico sia prelevato esternamente al Laboratorio è necessario preliminarmente concordare con essa modalità di prelievo e trasporto tali da garantire la catena di custodia. In ogni caso, la responsabilità del Laboratorio in merito al rispetto della catena di custodia si riferisce al momento dell'accettazione dello stesso e alle fasi successive.

In fase di accettazione il Laboratorio deve verificare:

- la corretta modalità di conservazione del campione durante

il trasporto;

- l'idoneità della richiesta di Analisi e la eseguibilità della stessa da parte del Laboratorio;
- l'idoneità quali-quantitativa del campione rispetto alla richiesta d'Analisi;
- la corrispondenza tra i dati identificativi del campione e la documentazione di accompagnamento;
- l'avvenuta acquisizione del consenso, secondo le normative vigenti.

E registrare:

- data e ora del prelievo;
- data e ora di accettazione;
- anagrafica del richiedente, recapito e firma leggibile;
- finalità dell'Analisi;
- tipologia del campione, suo protocollo di conservazione e ubicazione in attesa dell'Analisi;
- eventuali dati clinici, anamnestici e circostanziali utili all'esecuzione dell'Analisi e/o all'interpretazione del risultato;
- nome e firma del trasportatore;
- nome e firma dell'operatore del Laboratorio che effettua l'accettazione.

Nel caso in cui i prelievi di campioni biologici siano effettuati in Ambulatori della stessa sede del Laboratorio la fase di accettazione si realizza con:

- l'identificazione del soggetto mediante documento d'identità in corso di validità;
- l'informativa al soggetto sulla finalità dell'Analisi, sull'esecuzione del prelievo e sulle successive fasi di campionamento, confezionamento ed etichettatura dei campioni;
- la raccolta del consenso informato scritto del soggetto al prelievo e all'analisi;
- l'attestazione da parte del soggetto, mediante firma da apporre sul modulo di prelievo, di aver presenziato a tutte le fasi di suddivisione, confezionamento ed etichettatura dei campioni prelevati;

nonché con le registrazioni pertinenti di cui sopra.

6.2.2. Prelievo del campione

L'accessibilità al luogo del prelievo è consentita esclusivamente al personale specificamente autorizzato e al singolo soggetto che deve essere sottoposto al prelievo.

Il prelievo del campione deve sempre prevedere la raccolta di un controcampione per eventuali Analisi di revisione. Normative specifiche possono richiedere il prelievo di 3 aliquote di campione equivalenti. In questo caso le tre aliquote devono essere utilizzate per l'analisi di screening (campione A), di conferma (campione B) e di revisione (campione C), rispettivamente. Tale procedura di prelievo è da utilizzare obbligatoriamente nel caso in cui l'Analisi di screening e l'Analisi di conferma siano effettuate da due strutture diverse.

6.2.2.1 Raccolta delle urine

La raccolta delle urine deve rispettare le seguenti procedure:

- prima di accedere al luogo di prelievo il soggetto è tenuto a depositare qualunque oggetto, borsa, indumento tale da poter occultare materiale utile a 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.).

L'adozione di queste modalità di prelievo si ritiene offra sufficienti garanzie rispetto a tentativi di adulterazione o manomissione del campione urinario. E' tuttavia possibile effettuare ulteriori controlli sul campione successivamente alla raccolta (es. temperatura, gravità specifica, creatinuria, pH). La verifica della gravità specifica o della creatinuria consentono inoltre di controllare l'eventuale diluizione del campione conseguente all'ingestione di una elevata quantità di liquidi prima della raccolta urinaria. La valutazione di questi parametri in ordine all'idoneità del campione all'analisi è competenza del Direttore o del Responsabile del Laboratorio, e non segue necessariamente valori chimico-clinici standardizzati.

6.2.2.2. Prelievo di Capelli

Il personale del Laboratorio che effettua il prelievo verifica se la lunghezza dei capelli è correlabile alla richiesta di Analisi, se i capelli presentano trattamenti estetici visibili e di possibile interferenza, richiede al soggetto informazioni utili all'esecuzione dell'Analisi e all'interpretazione del risultato analitico (trattamenti igienici, cosmetici, uso di lozioni, lacche, gel o di altre sostanze che potrebbero interferire con l'Analisi) e registra tutte le informazioni raccolte.

L'operatore addetto al prelievo, munito di guanti del tipo monouso, isola una ciocca di capelli del diametro di circa 0,5 – 0,7 cm quando possibile nella zona del vertice posteriore del capo, l'attorciglia con le dita e la preleva mediante taglio con una lama affilata o con forbici il più possibile vicino alla cute. Mantenendo l'allineamento dei capelli prelevati, l'operatore divide longitudinalmente la ciocca in due parti approssimativamente uguali da destinare, rispettivamente, all'allestimento del campione e del controcampione. Il confezionamento degli stessi, a meno di richiesta di Analisi della ciocca di capelli in toto, deve permettere l'identificazione inequivocabile dell'estremità prossimale della ciocca e impedire il disallineamento dei capelli. Inoltre, è necessario accertarsi che il prelievo di capelli sia perfettamente asciutto prima del confezionamento, onde evitarne la rapida degradazione. In caso contrario, è necessario attendere la completa asciugatura del campione lasciandolo a contatto con l'aria dopo averlo posto su una superficie pulita.

Nel caso in cui i capelli presenti nella zona del vertice posteriore fossero insufficienti (ovvero per motivi estetici e su specifica richiesta del soggetto) l'operatore può prelevare da diverse zone del capo sino a raggiungere il quantitativo richiesto. In tal caso l'operatore dovrà fare in modo che le diverse zone di prelievo siano equamente rappresentate nel campione e nel controcampione. Nel caso di indisponibilità dei capelli è possibile prelevare formazioni pilifere da altre zone della superficie corporea, attenendosi ai fini valutativi a quanto riportato nella sezione 5.2. Tutte le anomalie sopra descritte relative alla zona di prelievo devono essere registrate sul modulo di prelievo. Il confezionamento dei capelli deve garantire la preservazione dalla luce e dall'umidità (es. busta di carta all'interno di una busta di plastica, conservazione a temperatura ambiente).

6.2.2.3. Prelievo di Sangue

Il prelievo di sangue deve essere eseguito dalla vena di un arto superiore dopo aver pulito la superficie cutanea con un disinfettante non alcolico. Poiché si tratta di un prelievo di tipo invasivo, esso deve essere eseguito nel rispetto della normativa vigente in materia e deve essere atto a ridurre al minimo il rischio per la salute del soggetto che vi si sottopone.

In funzione dell'indagine da espletare può essere opportuno procedere immediatamente alla conservazione del campione e del controcampione alla temperatura di -18/ -22°C a meno che l'Analisi non sia eseguita entro 24 h dal prelievo, nel qual caso è sufficiente la conservazione a +2/+8°C. Il congelamento causa tuttavia alterazione del campione sangue intero, danneggiandone gli eritrociti.

6.2.2.4. Prelievo di sangue per la determinazione dell'alcolemia a scopi forensi

Deve necessariamente tenere in considerazione le seguenti criticità:

- potenziale contaminazione dovuta all'uso disinfettanti cutanei contenenti alcol etilico;
- possibili fenomeni degradativi che possano favorire la neoformazione di alcol etilico;
- manipolazioni del campione (es. sierazione, centrifugazione) tali da alterarne le caratteristiche originarie;
- possibile evaporazione dell'alcol dal campione dopo il prelievo.

Per tali ragioni il prelievo di sangue per la determinazione dell'alcolemia a scopi forensi (ne è classico esempio la determinazione alcolemica ai fini dei disposti del Codice della Strada) richiede obbligatoriamente:

- effettuare un prelievo di sangue dedicato;
- disinfettare l'area di prelievo con un disinfettante non alcolico;
- aggiungere sodio fluoruro, o analogo preservante, al campione di sangue (in ragione di 100 mg NaF per 10 ml di sangue);
- in alternativa, utilizzare provette sottovuoto contenenti NaF come conservante ed un anticoagulante;
- invertire più volte la provetta ed evitare la centrifugazione o sierazione del campione;
- procedere in presenza del soggetto, alla suddivisione del campione in due aliquote, per ottenere il controcampione;
- procedere alla conservazione del campione e del controcampione alla temperatura di -18/ -22°C (eccezione per campione analizzato entro 24 h dal prelievo sufficiente conservazione a +2/+8°C)

Si ricorda che, a proposito di quanto sopra affermato riguardo alla precauzione per evitare la sierazione del campione di sangue, che la determinazione dell'alcol etilico sui derivati del sangue (plasma, siero) produce una sovrastima (fino anche del 20%) rispetto alla sua determinazione su sangue intero e quindi non è idonea – ad esempio – per la valutazione dei limiti normati dal Codice della Strada; pertanto una determinazione alcolimetrica su plasma o siero può avere valenza esclusivamente diagnostico-clinica.

6.2.2.5. Prelievo di Saliva

Il prelievo del fluido del cavo orale può essere eseguito con un dispositivo commerciale la cui vendita sia autorizzata nel

nostro paese, ovvero mediante la raccolta del fluido, senza stimolazione della salivazione, in un apposito contenitore. La suddivisione del prelievo in campione e controcampione può essere omessa solo nel caso in cui sia stato prelevato contestualmente alla "saliva" anche un campione di sangue. Relativamente alle operazioni e agli accorgimenti da seguire dopo il prelievo (conservazione) si fa riferimento a quanto illustrato nel paragrafo relativo al sangue.

Per tutte le fattispecie di prelievo illustrate nei paragrafi precedenti valgono inoltre i seguenti obblighi:

- il soggetto deve verificare che il materiale necessario al prelievo sia integro, nuovo e sigillato e deve poter scegliere il contenitore fra più contenitori messi a disposizione;
- l'esecuzione di tutte le operazioni di suddivisione, confezionamento ed etichettatura del campione e del controcampione devono essere effettuate alla presenza dell'interessato che controfirma il modulo di campionamento nonché l'etichetta del campione e del controcampione;
- la corretta preservazione del campione da qualsivoglia adulterazione, inquinamento, o dispersione di parte deve essere garantita 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;
- l'iter del campione in ogni fase analitica deve essere annotato sulla modulistica relativa alla catena di custodia.

6.2.3. Cause di esclusione e modalità di ricusazione dei campioni biologici

Nel caso in cui il campione biologico sia prelevato esternamente al Laboratorio, è possibile ricusare il materiale inviato se è documentabile:

- l'incongruità, sotto il profilo qualitativo o quantitativo, del campione biologico in relazione alla specifica richiesta d'Analisi, anche in considerazione delle caratteristiche farmacocinetiche dell'analita richiesto;
- la non corretta conservazione del campione durante il trasporto;
- la mancata o non verificabile (es. illeggibilità) corrispondenza tra i dati identificativi del campione e la documentazione di accompagnamento;
- l'evidenza di manomissione del campione (es. rimozione o rottura del sigillo)

In tutti i casi di ricusazione, il Direttore del Laboratorio è tenuto a compilare un rapporto di "non conformità" che definisca le cause di ricusazione del campione.

6.3. Conservazione, manipolazione e movimentazione del campione

Il campione deve essere correttamente conservato ponendo in atto ogni precauzione e modalità "utile a preservare il campione nelle condizioni il più possibile simili a quelle al momento del prelievo".

Tali modalità devono assicurare:

- l'identificazione e l'idoneità dei luoghi di conservazione;
- la conservazione alla temperatura di +2/+8°C ovvero a -18/-22°C dei campioni:
 - di sangue per la determinazione dell'alcolemia se l'Analisi è eseguita entro ovvero dopo 24 h;
 - degli altri prelievi di sangue e di "saliva" se l'Analisi è eseguita entro ovvero dopo 24 h;

- dei campioni di urina se l'Analisi è eseguita entro ovvero dopo 12 h.

- per i campioni da conservare a -18/-22°C (sangue, saliva ed urine) devono essere previsti congelatori diversi per la conservazione pre-analitica e per il successivo stoccaggio; le condizioni di conservazione dei capelli o altre formazioni pilifere devono essere tali da proteggere i campioni dall'umidità e dalla luce;
- il rispetto della catena di custodia;
- la conservazione dei campioni sia positivi che negativi sino alla produzione del rapporto analitico/referto, se non diversamente indicato da normativa specifica;
- la conservazione dei controcampioni (dei campioni risultati positivi dopo Analisi di conferma) per almeno 1 anno dalla data del rapporto analitico/referto, se non diversamente previsto da normativa specifica;
- per campioni giudiziari la conservazione è estesa fino a specifica autorizzazione di distruzione o eliminazione da parte del magistrato

7. METODI ANALITICI

7.1. Generalità

Per tutti i metodi analitici impiegati nel Laboratorio deve essere definita la Procedura Documentata (Attività Tecniche) inclusa nel Manuale della Qualità, con il dettaglio delle informazioni descritte nel paragrafo 4.2.

I risultati delle prove di validazione del metodo analitico originario e delle sue revisioni successive devono essere documentati, archiviati e conservati dal Laboratorio.

7.2. Metodi di screening

L'impiego di un metodo di screening trova giustificazione in un Laboratorio di Tossicologia Forense quando vi è necessità di analizzare un elevato numero di campioni in tempi brevi e a costi contenuti, con i vantaggi di elevata o totale automazione. I metodi di screening impiegano solitamente tecniche colorimetriche, enzimatiche, e immunochimiche. I metodi di screening sono tuttavia caratterizzati da ridotta specificità (dato qualitativo) ed elevata inaccuratezza (dato quantitativo) in particolare quando nel campione sono presenti più specie chimiche in grado di essere rilevate ma non discriminate dal metodo (es. composto immodificato e suoi metaboliti, varie tipologie di simili specie di composti).

Questi metodi, per le loro caratteristiche intrinseche, producono esclusivamente un risultato di tipo presuntivo, vale a dire la probabile negatività (assenza) o positività (presenza, meglio definita come "non negatività") del campione rispetto ad un analita, o più spesso a una classe di sostanze, relativamente a un valore di cut-off prestabilito dal metodo. In ogni caso, qualunque sia la specificità analitica del metodo di screening vale il presente assunto:

non può avere validità forense un risultato positivo ottenuto attraverso un'unica prova di screening, e' pertanto indispensabile che tale risultato sia verificato da un'analisi di conferma.

Dal momento che l'esito negativo di un'Analisi di screening è generalmente accettato come valido non è sufficiente verificare che il metodo di screening sia in grado di minimizzare il numero di risultati falsi negativi, ma deve essere accertata (o documentata dalla ditta) la capacità del metodo a non produrre

re falsi negativi. A tale riguardo è consigliabile applicare comunque l'Analisi di conferma anche ad una certa percentuale randomizzata di campioni risultati negativi allo screening.

Meno importante sotto il profilo forense (ma importante sotto il profilo gestionale ed economico) è che il metodo minimizzi le false positività, dal momento che qualunque esito positivo allo screening (come dall'assunto sopra riportato) deve obbligatoriamente essere sottoposto a conferma.

L'effettuazione di Analisi di screening mediante l'impiego di kit e di calibratori direttamente forniti dalle ditte produttrici è ammessa purché l'Analisi sia eseguita secondo le indicazioni di matrice biologica e il valore di cut-off definiti dal produttore, e non vi sia alcun tipo di adattamento del metodo. È altresì da rilevare che il valore di cut-off definito dalla ditta produttrice di un kit analitico di screening potrebbe essere diverso dai valori di cut-off stabiliti da specifici accordi o normative. Per altro, anche nell'ambito della tossicologia forense esistono fattispecie che possono richiedere l'individuazione di valori di cut-off differenti. Non è, pertanto, corretto adottare incondizionatamente il cut-off proposto dal produttore. Nel caso in cui sia necessario individuare un valore di cut-off differente, il metodo di screening deve in ogni caso essere sottoposto a ri-validatione.

Il risultato di una Analisi di screening non può essere espresso in termini quantitativi ma unicamente sotto forma di positività (presenza) o di negatività (assenza) di un analista o classe di sostanze nel campione.

7.3. Metodi di Conferma e Metodi di Quantificazione

Il metodo di conferma deve essere in grado di produrre un risultato analitico il più possibile indipendente da quello dell'Analisi di screening. Per tale ragione è necessario l'uso di un metodo di conferma basato su principi chimico-fisici diversi da quello di screening. Inoltre, il metodo di conferma deve essere caratterizzato da selettività e sensibilità analitiche superiori a quello di screening. A tale riguardo, si ritiene accettabile un metodo di conferma quantitativo in grado di raggiungere un LLOQ pari ad almeno la metà del cut-off del metodo di screening.

Non è accettabile l'impiego di un metodo di conferma che sia fondato sulla misurazione di un segnale analitico altamente correlato a quello dello screening (es. conferma di un dato immunochimico con un'altro metodo immunochimico). L'impiego di una tecnica cromatografica per confermare un dato ottenuto per via cromatografica è ammesso esclusivamente se le due tecniche separative producono risultati scarsamente correlati (ad esempio due serie di tempi di ritenzione significativamente diversi, o uso di colonne a diversa polarità etc).

L'impiego di una identica tecnica cromatografica per confermare un dato ottenuto per via cromatografica è accettabile se cambia il metodo di rivelazione abbinato alla cromatografia. Nell'ambito della tossicologia forense, l'impiego della spettrometria di massa (MS) nelle sue molteplici possibilità metodologiche, in combinazione con una tecnica di separazione di tipo cromatografico (es. gascromatografia, GC; cromatografia liquida ad alta pressione, HPLC) o elettroforetico (elettroforesi capillare, EC) per Analisi di conferma ha trovato il consenso generale della comunità scientifica internazionale e nazionale.

Pertanto:

il gfi adotta la spettrometria di massa accoppiata ad una metodica

cromatografica come tecnica identificativa di elezione per l'analisi di conferma

L'impiego di uno o più standard interni è obbligatorio sia nel caso di metodi di conferma esclusivamente qualitativa, sia nel caso di metodi di conferma e/o di quantificazione. Lo standard interno, infatti, conferisce elevata precisione e accuratezza sia alla misura della ritenzione cromatografica, sia alla quantificazione dell'analita. Essi devono essere aggiunti al campione ed ai controlli prima di qualsiasi loro trattamento preparativo. Unica eccezione a tale regola è l'Analisi delle formazioni pilifere per la quale l'aggiunta degli standard interni deve essere effettuata dopo le operazioni di lavaggio, di sminuzzamento (se del caso) e di pesata. Nel caso di impiego di tecniche di rivelazione mediante MS, il GTFI incoraggia l'uso di standard interni deuterati (con numero di deuteri ≥ 3) previa verifica che la quantità/concentrazione dello standard deuterato non sia tale da interferire significativamente sulla efficienza di ionizzazione (es. fenomeni di competizione) o sulla quantificazione (es. contributi isotopici) dell'analita.

La stabilità degli standard interni durante tutto il trattamento e l'analisi del campione deve essere preventivamente accertata o verificata.

7.3.2. Criteri Minimi di Identificazione

La scelta di tali criteri, e dei rispettivi intervalli di tolleranza, può variare in relazione alle tecniche di Analisi strumentale impiegate nel Laboratorio ma deve comunque attenersi alle indicazioni di eventuale normativa di riferimento, e comunque a quanto generalmente accettato dalla comunità scientifica.

Si definiscono di seguito i criteri minimi di identificazione per le tecniche di Analisi strumentale più diffuse:

Analisi cromatografica: il tempo di ritenzione relativo dell'analita rispetto al corrispondente standard interno deve essere compreso entro $\pm 1\%$ (GC) o $\pm 2\%$ (HPLC) di quello prodotto dal corrispondente analita nel controllo positivo.

Analisi MS in scansione (full scan, con ionizzazione ad impatto elettronico o ionizzazione chimica):

- presenza nello spettro incognito di tutti gli ioni dello spettro del composto di riferimento (controllo positivo o spettro di libreria) con intensità relativa al picco base $\geq 10\%$, incluso lo ione molecolare e gli ioni del cluster isotopico se $\geq 10\%$; come criterio minimo devono essere presenti almeno 4 ioni con abbondanza $\geq 10\%$;
- le abbondanze relative di tali ioni nello spettro incognito devono essere comprese in un intervallo di tolleranza ($\pm 20\%$) rispetto al corrispondente valore ottenuto per il composto di riferimento
- la presenza nello spettro incognito di frammenti ionici assenti nello spettro di riferimento deve essere spiegabile con la parziale co-eluzione di componenti della matrice;

Analisi MS mediante monitoraggio di ioni specifici (Selected Ion Monitorig, SIM):

- devono essere scelti almeno 3 frammenti ionici (ove possibile includenti lo ione molecolare o un suo addotto in dipendenza della tecnica di ionizzazione utilizzata) escludendo ioni isotopici e derivati da perdite aspecifiche, nonché essere diagnostici dell'intera struttura molecolare e, se possibile, corrispondere a porzioni diverse della molecola;

Analisi mediante MS tandem (MS-MS) in modalità di scansione degli ioni prodotto (product ion scan):

- lo ione precursore deve essere isolato con la minima am-

piezza possibile, compatibilmente con l'intensità del segnale, al fine di escludere interferenze;

- valgono inoltre gli stessi principi dell'Analisi MS in scansione

Analisi MS-MS in modalità Selected Reaction Monitoring (SRM):

- devono essere acquisite almeno 2 transizioni ione precursore → ione prodotto e lo ione precursore residuo dopo frammentazione (surviving ion) deve essere rilevabile;
- lo ione precursore può essere lo stesso, purché i frammenti delle transizioni siano specifici di porzioni diverse della molecola e, per almeno una transizione, deve essere lo ione molecolare o un suo addotto (dipendendo dalla tecnica di ionizzazione); gli ioni prodotto non devono risultare da perdite aspecifiche (es. perdita di H₂O).

Eccezioni a questi criteri minimi di identificazione devono trovare giustificazione nelle caratteristiche fisico-chimiche e/o strutturali dell'analita, ovvero nei limiti della tecnica di Analisi strumentale utilizzata. Le ragioni che giustificano deviazioni rispetto ai criteri sopra elencati devono essere descritte nella Procedura Documentata. In tali casi, e comunque in generale, l'identificazione nel campione di metaboliti specifici di un analita e/o i risultati di altre tipologie di analisi possono essere utilizzati a supporto dell'identificazione dello stesso. Si rammenta altresì che è talora possibile modificare le caratteristiche di frammentazione di un analita attraverso tecniche di derivatizzazione.

Utilizzando tecniche di conferma di massa (tecnica di conferma elettiva per il GTFI) è consigliato l'impiego del sistema degli Identification Points (IP) adottato con Decisione della Commissione Europea 2002/657/EC in attuazione della Direttiva 96/23/EC del Consiglio dell'Unione Europea relativa al rendimento dei metodi analitici e all'interpretazione dei risultati (G.U. dell'Unione Europea L 221 del 17.8.2002). Nel caso in cui il metodo di conferma abbia anche obiettivi di quantificazione, oltre ai criteri minimi di identificazione esso deve soddisfare i criteri minimi di quantificazione.

Se il metodo di conferma ha valenza esclusivamente di conferma qualitativa rispetto a un valore di cut-off prestabilito, l'errore di misura (combinazione di precisione e accuratezza/bias) in corrispondenza di tale valore deve essere noto, evidenziato e sottratto al valore effettivamente misurato, riferendo la positività esclusivamente ai casi in cui il valore misurato, sottratto dell'errore di misura, risulti ancora superiore al cut-off.

L'analisi di controlli positivi per concentrazioni prossime al cut-off (es. cut-off \pm 25%) permette di verificare le prestazioni del metodo qualitativo in tale ambito critico.

Il risultato di un'Analisi di conferma di tipo qualitativo deve essere espresso esclusivamente sotto forma di positività (presenza) o di negatività (assenza).

7.3.3. Criteri Minimi di Quantificazione

È necessaria la valutazione quantitativa di un congruo numero di controlli negativi e di controlli positivi. Tali controlli, alla lettura sulla curva di calibrazione utilizzata per il batch, devono avere una concentrazione corrispondente a quella attesa entro un prefissato intervallo di tolleranza dichiarato nella Procedura Documentata. Qualora tale criterio non fosse rispettato deve essere riesaminata, contestualmente ai campioni, la curva di calibrazione completa. I controlli positivi devono essere distribuiti in maniera uniforme nell'ambito dell'intervallo di calibrazione, prevedendo anche controlli inferiori al cut-off (es. -50% del cut-off) e controlli a concen-

trazioni elevate (es. 200% del cut-off, ULOQ).

Lo standard utilizzato per la preparazione dei controlli positivi e la quantificazione di un analita (e il relativo standard interno) deve essere di composizione e purezza certificata e in corso di validità. Qualora non disponibile in commercio è ammesso l'uso di uno standard non certificato purché il Laboratorio ne abbia verificato e dichiarato nella Procedura Documentata il grado di purezza (cfr. paragrafo 5.5.).

Il risultato di un'Analisi quantitativa deve essere espresso in un'unità di misura uniforme, tale da escludere dubbi interpretativi, direttamente confrontabile con eventuali valori di riferimento (cut-off) e, preferibilmente, accettata dal Sistema Internazionale di Unità di Misura (SI). Si ritiene inoltre opportuno utilizzare al massimo due cifre significative dopo arrotondamento, se non diversamente previsto.

7.3.4. Determinazione dell'alcolemia a scopi forensi

Tenendo presente quanto descritto al paragrafo 6.2.2.4. in tema di prelievo in tale peculiare fattispecie, il GTFI dichiara

tecnica d'elezione per la determinazione dell'alcolemia a scopo forense la gascromatografia con campionamento dello spazio di testa (hs-gc)

In tal caso, il metodo deve essere in grado di quantificare nell'intervallo di calibrazione compreso tra 0,05 e 3,0 grammi/litro (g/L), con imprecisione e inaccuratezza ai valori di 0,05 - 0,1 - 0,5 - 0,8 - 1,5 g/l non superiori al 10%.

Il LLOQ del metodo deve essere inferiore a 0,05 g/l.

Al di sotto di questo valore il campione deve considerarsi negativo.

Si ribadisce che per quanto attiene la determinazione alcolemica, non è valida ai fini forensi ogni determinazione eseguita su derivati ematici (cfr. paragrafo 6.2.2.4.).

7.4. Validazione di un metodo analitico

La validazione deve essere effettuata, prima dell'applicazione del metodo analitico in routine, per ciascun metodo sviluppato dal Laboratorio ovvero ripreso o adattato dalla letteratura scientifica. La validazione deve essere inoltre nuovamente eseguita in tutti i casi in cui, per qualsiasi ragione, il Laboratorio stabilisce di aggiornare/modificare un metodo analitico. In tal caso dovranno essere rieseguite solo le prove relative ai parametri che il Responsabile della Qualità ritiene possano essere stati influenzati dalle modifiche apportate al metodo. La validazione di un metodo quantitativo deve includere, come requisiti minimi, i seguenti parametri, già precedentemente descritti:

- specificità (selettività analitica);
- stabilità dell'analita;
- criteri minimi di identificazione e di quantificazione;
- valutazione dell'intervallo di calibrazione (o di linearità);
- valutazione dell'effetto matrice;
- imprecisione, imprecisione intermedia, inaccuratezza (bias);
- limite inferiore di quantificazione (LLOQ);
- limite di rivelabilità (LOD);
- limite superiore di quantificazione (ULOQ);
- carry-over;
- applicabilità della diluizione;
- incertezza di misura;
- robustezza;
- altri

La scelta dei parametri da includere nelle prove di validazione

deve tenere conto anche della frequenza di impiego di un metodo analitico.

7.5. CUT-OFF

Ribadendo il carattere del tutto convenzionale del valore di cut-off (o Valore Soglia o Soglia Decisionale) per stabilire la negatività ovvero la positività di un campione e ribadendo altresì che esso non coincide necessariamente con i valori LLOQ né LOD, si riportano nelle TABELLE IN APPENDICE i valori di cut-off di screening e/o di conferma adottati dal GTFI per l'urina, per il sangue intero, per i capelli e altre matrici pilifere, per il fluido orale ("saliva").

Si sottolinea che i cut-off elencati nelle suddette Tabelle consentono esclusivamente di discriminare tra negatività o positività analitica di un campione rispetto ad una determinata sostanza/metabolita, mentre l'interpretazione diagnostica di un risultato analitico coinvolge necessariamente la valutazione di molteplici altri aspetti.

8. REFERTO O RAPPORTO ANALITICO

8.1. Requisiti del rapporto analitico

Il rapporto analitico finale deve essere prodotto obbligatoriamente in forma scritta e consegnato – salvo diverse disposizioni di legge – a chi ha richiesto l'accertamento o a persona munita di delega scritta. E' ammesso l'invio aggiuntivo del rapporto analitico in formato elettronico (previo consenso scritto del destinatario, indicato nel modulo di richiesta di analisi) qualora il Laboratorio metta in atto una Procedura Documentata sufficiente a garantire l'inaccessibilità delle informazioni in esso contenute da parte di persone diverse dal destinatario e, in ogni caso, in ottemperanza alla normativa vigente in tema di riservatezza dei dati personali e sensibili. Tale procedura deve essere descritta nel dettaglio nel Manuale della Qualità.

Il rapporto analitico deve contenere almeno i seguenti elementi:

- titolo;
- dati identificativi del Laboratorio;
- numero di identificazione del rapporto analitico (es. numero progressivo). Se il rapporto consta di più pagine esse
- devono essere numerate progressivamente con indicazione del numero totale di pagine;
- nome del richiedente;
- nome e cognome e data di nascita del soggetto (ovvero, se richiesto, codice alfanumerico anonimo) da cui è stato prelevato il campione oggetto dell'Analisi;
- tipo di accertamento richiesto e relativa finalità;
- data e ora del prelievo (se noti al Laboratorio);
- data di accettazione;
- data di refertazione;
- descrizione del campione oggetto dell'Analisi (con dettaglio di eventuali anomalie);
- indicazione dell'Analisi eseguita;
- indicazione dell'eventuale tecnica di screening utilizzata;
- risultato dell'Analisi di screening e relativo cut-off;
- indicazione della tecnica di conferma e/o quantificazione;
- risultato dell'Analisi di conferma con relativa unità di misu-

- ra (in caso di risultato quantitativo) e relativo cut-off;
- legenda che descriva il significato di abbreviazioni o terminologie inusuali
- interpretazione dei risultati analitici, compresa la valutazione sui limiti di utilizzabilità del risultato;
- nome e firma del Direttore del Laboratorio (e facoltativamente dell'analista)

9. ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ

La gestione del Laboratorio deve essere mirata ad assicurare che i requisiti per la qualità siano soddisfatti: deve cioè dare evidenza oggettiva di "assicurazione di qualità".

L'assicurazione della qualità assume un ruolo peculiare nelle attività analitiche di cui alle presenti Linee Guida trattandosi di accertamenti con finalità tossicologico-forensi e medicolegali che rispondono a dettati normativi; per di più i risultati di detti accertamenti possono spesso assumere anche rilevanza di "prova giudiziaria".

Devono quindi essere adottati meccanismi in grado d'identificare eventuali errori e rimedi per evitarne il ripetersi; tali meccanismi generano fiducia che il Laboratorio possa soddisfare i requisiti di qualità del proprio operato.

L'assicurazione della qualità coinvolge tutti i processi che si svolgono all'interno del Laboratorio, dalla raccolta ed accettazione dei campioni biologici, allo svolgimento dell'Analisi, alla validazione dei risultati ed alla refertazione degli stessi.

L'assicurazione della qualità implica una appropriata documentazione e registrazione delle attività di Laboratorio per mezzo di procedure mirate sia al controllo dei processi (Procedure Documentate), sia al controllo dei prodotti (verifica dei criteri minimi di identificazione e/o di quantificazione, verifica dei criteri di accettabilità dell'Analisi, verifica della lettura dei controlli negativi e positivi).

L'assicurazione della qualità implica inoltre l'obbligo per il Laboratorio di aderire a programmi di Proficiency Testing e/o di Verifica Esterna della Qualità, ove esistenti, almeno per le Analisi che rivestono carattere routinario.

L'assicurazione della qualità si raggiunge attraverso un sistema di controllo di qualità interno. Tale controllo deve riguardare almeno i parametri riguardanti:

- accettazione dei campioni (es. quantità e qualità);
- conservazione dei campioni e contro campioni (monitoraggio temperature, identificazione dei ed accesso ai luoghi di conservazione);
- strumentazione analitica (manutenzione ordinaria, verifica di funzionamento, taratura);
- Analisi (utilizzo di controlli positivi e negativi, controlli ciechi, carte di controllo, proficiency testing);
- refertazione (completezza della compilazione)

Infine vuole esser ribadito quanto riportato nella sezione dedicata agli obiettivi delle presenti Linee Guida, a proposito delle caratteristiche uniche (non mutuabili con altra tipologia di accertamenti) che devono possedere accertamenti analitici di tossicologia forense, che, avendo anche validità medicolegale, devono essere prodotti in Strutture culturalmente preparate, tecnologicamente attrezzate e costantemente aggiornate, consapevoli della necessità di perseguire e mantenere un elevato livello di qualità secondo metodologie accertative e criteriologie interpretative condivise dalla società scientifica internazionale.

APPENDICE

Valori di cut-off di screening e di conferma nell'urina.

Classe di sostanze o sostanza (sostanza target per lo screening)	Cut-off screening (ng/ml)	Cut-off conferma (ng/ml)
Oppiacei (morfina libera)	300	
morfina totalea		100
codeina totalea		100
6-acetilmorfina		10
Cocaina metabolita (benzoilecgonina)	300	
cocaina		100
benzoilecgonina		100
Amfetamina e congeneri	500	
amfetamina		200
metamfetamina		200
3,4-Metilendiossimetamfetamina e congeneri	500	
MDMA		200
MDA		200
MDEA		200
MBDB		200
Metadone (metadone)	300	
metadone		100
EDDP		100
Cannabinoidi (THC-COOH)	50	
THC-COOH		15
Buprenorfina	5	
buprenorfina totalea		5
norbuprenorfina totale ^a		5

a il valore è riferito al campione sottoposto a idrolisi (la verifica dell'efficienza della reazione di idrolisi su morfina-3-glucuronide in fase di validazione del metodo è obbligatoria).

Valori di cut-off di conferma nel sangue intero.

Sostanza	Cut-off conferma (ng/ml)
morfina	10
codeina	10
6-acetilmorfina	10
cocaina	10
cocaetilene	10
amfetamina	20
metamfetamina	20
MDMA	20
MDA	20
MDEA	20
MBDB	20
metadone	10
THC	2
11-OH--THC	2

Valori di cut-off in matrice pilifera

(il GTFI ritiene non validi metodi di screening immunochimici per questa matrice biologica in quanto ancora forieri, per la maggior parte, di risultati “falsi negativi”)

Classe di sostanze o sostanza	Cut-off/ conferma
(ng/mg)	
Oppiacei	
morfina	0,2
codeina	0,2
6-acetilmorfina	0,2
Cocaina (cocaina)	
cocaina	0,5
benzoilecgonina	0,05
ecgonina metilestere	0,05
coccaetilene	0,05
Amfetamina e congeneri	
amfetamina	0,2
metamfetamina	0,2
3,4-Metilendiossimetamfetamina e congeneri	
MDMA	0,2
MDA	0,2
MDEA	0,2
MBDB	0,2
Metadone	
metadone	0,2
EDDP	0,2
Cannabinoidi	
THC	0,05
THC-COOH	0,001
Buprenorfina	
buprenorfina	0,01
norbuprenorfina	0,01

Valori di cut-off di screening e di conferma nel fluido orale

Classe di sostanze o sostanza	Cut-off screening (ng/ml)	Cut-off conferma (ng/ml)
Oppiacei (morfina libera)	40	
morfina		40
codeina		40
6-acetilmorfina		4
Cocaina metabolita (benzoilecgonina)	20	
cocaina		8
benzoilecgonina		8
Amfetamina e congeneri	50	
amfetamina		50
metamfetamina		50
3,4-Metilendiossimetamfetamina e congeneri	50	
MDMA		50
MDA		50
MDEA		50
MBDB		50
Cannabinoidi	4	
THC		2

Eventi e Formazione

Scuola Nazionale sulle Dipendenze Programma Didattico e Regolamento Corso Base e Corso Avanzato - Edizione 2013

La Scuola Nazionale sulle Dipendenze è un Programma di formazione multidisciplinare istituzionalmente accreditato dal Dipartimento Politiche Antidroga della Presidenza del Consiglio dei Ministri e gestita, con uno specifico programma didattico, dalla Scuola Superiore della Pubblica Amministrazione (SSPA).

La scuola nasce con lo scopo di contribuire alla realizzazione e allo sviluppo di una comunità scientifica nazionale e multidisciplinare nel campo delle dipendenze, dotata di strumenti informativi e in grado di attivare collaborazioni internazionali per la condivisione delle best practices.

Ha l'obiettivo di proporre nuovi modelli e nuovi stimoli e di offrire un percorso di studi orientato alla multidisciplinarietà, privilegiando la trasmissione di conoscenze scientifiche e aspetti tecnici legati al funzionamento del sistema nazionale e dei sistemi regionali di prevenzione, cura e riabilitazione delle tossicodipendenze.

L'esigenza di offrire nuovi percorsi formativi in grado di rendere disponibili le più avanzate conoscenze scientifiche acquisite nei vari settori, oltre che le conoscenze di base sulla normativa vigente e sull'operato delle Forze dell'Ordine, nasce anche dalla necessità di uniformare e di ri-orientare, a livello nazionale, le strategie generali di azione, i protocolli e le procedure, sia in ambito di prevenzione, cura e riabilitazione che di contrasto.

L'obiettivo è quello di formare e specializzare una nuova generazione di professionisti impegnati sul campo, dando vita ad un progetto di riconversione e aggiornamento tecnico culturale che dovrebbe dare una spinta innovativa in tutto il sistema delle dipendenze italiano.

Le docenze sono generalmente condotte in presenza e modalità frontale: possono essere anche gestite tramite teleconferenza o registrazione su supporti digitali.

La giornata formativa tipo prevede lezioni frontali/seminari dalle 9.00 alle 11.00 e dalle 11.30 alle 13.30 nella sezione mattutina e dalle 14.30 alle 16.30 nella sezione pomeridiana seguita da discussione e compilazione dei questionari di gradimento e apprendimento quando previsti (16.30-17.30), salvo variazioni di orario sulla base dello svolgimento delle lezioni stesse e delle necessità dei docenti.

SEDE PRINCIPALE DI SVOLGIMENTO

Scuola Superiore della Pubblica Amministrazione
Via dei Robilant 1, Roma

MODALITÀ DI ACCESSO

Le modalità di preiscrizione saranno accessibili attraverso il sito www.dpaschool.it

L'iscrizione al corso base o avanzato è gratuita.

I costi di trasferta, vitto e pernottamento sono a carico dei discenti.

Il corso avanzato è riservato esclusivamente a chi ha superato con profitto il corso base.

Tutti i partecipanti ammessi alla frequenza sono tenuti ad accettare il regolamento della Scuola

ORGANIZZAZIONE GENERALE

	CORSO BASE	CORSO AVANZATO
Modalità didattica	Dodici moduli residenziali	Nove moduli residenziali
Ore complessive didattiche previste	140	80
Numero massimo partecipanti	100	80
Crediti formativi proposti (ECM e CNOAS)	Oltre 100	Oltre 60
Preiscrizioni	10 dicembre – 10 gennaio 2013	
Notifica accettazione preiscrizione	20 gennaio 2013	
Iscrizione definitiva	entro 31 gennaio 2013	

ORGANIGRAMMA SCUOLA

Direzione: Giovanni Serpelloni			
Coordinamento			
Organizzativo e Aula	Piano Didattico Tecnico-scientifico		Progetti Formativi Internazionali
Giuseppina Santiapichi Donata De Lucia	Roberto Mollica		Elisabetta Simeoni
Faculty (per alcuni docenti si è in attesa di conferma)			
Docenti interni DPA e Centri Collaborativi		Docenti esterni e collaborazioni istituzionali	
Franco Alessandrini	Carlo Locatelli	Giovanni Addolorato	Daniela Mapelli
Elisabetta Bertol	Teodora Macchia	Germana Apuzzo	Stefano Marson
Antonello Bonci	Roberto Mollica	Giovanna Campello	Palmiero Monteleone
Oliviero Bosco	Cosimo Piccinno	Corrado Celata	Luigi Pagano
Enrico Cataldi	Laura Randazzo	Luigi D'Onofrio	Nancy Petry
Marcello Chiarotti	Claudia Rimondo	Andrea De Gennaro	Kenzie L. Preston
Wilson Compton	Giulio Romano	Paolo del Vecchio	Luciano Romeo
Roberto Dalla Chiara	Monica Rossi Rizzi	Gilberto Gerra	John Rotwell
Angelina De Simone	Giovanni Serpelloni	Jay N. Giedd	Emanuele Scafato
Roberta Frighetto	Elisabetta Simeoni	Alexis Goosdeel	Mauro Scenna
Bruno Genetti	Lorenzo Somaini	Anne Goudriaan	Fabrizio Schifano
Maurizio Gomma	Sabina Strano Rossi	Jonathan Lucas	Sandrine Sleiman
Markus Heilig	Barbara Suligoi	Robert M. Kaplan	Joel Swendsen
Marilyn Huestis	Franco Tagliaro		Gabriele Zanardi
Giovanni Laviola	Nora Volkow		
	Giada Zoccatelli		

CALENDARIO FORMATIVO CORSO BASE E CORSO AVANZATO 2013

(per alcuni moduli è prevista una frequenza congiunta corso base e corso avanzato)

DATA	MODULO	CORSO BASE	CORSO AVANZATO
21 febbraio 2013 Sala polifunzionale	L'inquadramento generale sulle dipendenze in Italia (congiunto base e avanzato)	Presentazione dei corsi base e avanzato, e obiettivi formativi Presentazione project work edizione base 2012 e consegna diplomi Il Dipartimento Politiche Antidroga e il Piano Nazionale di Azione Il quadro epidemiologico in Italia: l'Osservatorio nazionale e la Relazione Annuale al Parlamento	
22 febbraio 2013 Sala polifunzionale	Neuroscienze e dipendenze (congiunto base e avanzato)	Le neuroscienze: le basi della dipendenza e la vulnerabilità Maturazione cerebrale e vulnerabilità Il neuroimaging nell'addiction TMS e trattamento della dipendenza	
21 marzo 2013 Aula magna SSPA	Le patologie concomitanti. Il laboratorio analisi e le sostanze stupefacenti	Comorbilità: patologie infettive Comorbilità: patologie psichiatriche Abuso e dipendenza da alcol e poliabuso	Gli aspetti laboratoristico-tossicologici Progetto Smart Search

DATA	MODULO	CORSO BASE	CORSO AVANZATO
22 marzo 2013 Sala polifunzionale	Le dipendenze comportamentali (congiunto base e avanzato)	Inquadramento del gambling patologico Altre dipendenze comportamentali Neuroimaging e gambling Fragilità comportamentale adolescenziale e gambling Interventi cognitivo-comportamentali nelle dipendenze senza sostanza	
5 aprile 2013 Sala polifunzionale	I trattamenti farmacologici (congiunto base e avanzato)	Recettori, mediatori e sostanze stupefacenti. I trattamenti sostitutivi per la dipendenza da oppiacei. L'uso di antagonisti per gli oppiacei. Trattamenti antivirali e interazioni farmacologiche. Procedura di prescrizione e monitoraggio dei trattamenti sostitutivi	
18-19 aprile 2013 Aula magna SSPA	Il processo di diagnosi, cura e riabilitazione	L'organizzazione dei Dipartimenti delle Dipendenze La valutazione iniziale e la diagnosi multidisciplinare Il trattamento integrato La riabilitazione, il reinserimento e l'autonomizzazione della persona La riabilitazione e il trattamento in carcere: le misure alternative La valutazione permanente dei risultati: outcome e output	
16-17 maggio 2013 Aula magna SSPA	La prevenzione	I concetti generali, modelli e linee di indirizzo La prevenzione selettiva e l'approccio educativo: Early detection for early intervention Life skill training program Test on-site La prevenzione degli incidenti stradali alcol-droga correlati: il protocollo Drug on Street Accertamenti sanitari e mansioni a rischio La prevenzione nei lavoratori con mansioni a rischio	
23-24 maggio 2013 Aula magna SSPA	Governance dei Servizi Assistenziali		Introduzione alla Governance La cultura organizzativa e il modello di Governance Information and Communication Technology nei Dipartimenti delle Dipendenze La comunicazione nelle dipendenze I sistemi per la qualità I sistemi di gestione del rischio Dall'evidenza scientifica alla pratica clinica
30-31 maggio 2013 Aula magna SSPA	NIDA-NIH Days	Il National Institute on Drug Abuse: mission e vision La collaborazione scientifica Italia-USA Evidenze dalle neuroscienze Programmi di ricerca preclinica e clinica La ricerca clinica e la traslazione dei risultati nella pratica: il Clinical Trial Network La valutazione di efficacia dei programmi preventivi Presentazione del National Collaboration Center NIDA	
6 giugno 2013 Aula magna SSPA	Epidemiologia avanzata e intraoperabilità dei sistemi informativi		La valutazione del carico assistenziale: approccio multifattoriale e isogravità Analisi dei fattori predittivi per il successo terapeutico I modelli di sopravvivenza per la valutazione dell'effectiveness Utilizzo di archivi amministrativi La normativa nazionale ed europea sul trattamenti dei dati personali

DATA	MODULO	CORSO BASE	CORSO AVANZATO
7 giugno 2013 Aula magna SSPA	Valutazione economica e performance		Introduzione alle tecniche di valutazione economica dei sistemi sanitari Costi sociali e Cost of illness Analisi costo efficacia e costo beneficio Minimizzazione dei costi Il modello ANCOSBEN per l'analisi dei costi nei Dipartimenti delle Dipendenze
20-21 giugno 2013 Aula magna SSPA	Epidemiologia e monitoraggio	L'Osservatorio Europeo su Droghe e Tossicodipendenza (OEDT) Il Focal Point italiano Gli indicatori chiave OEDT: definizioni, metodologie e risultati Progetto SIND Support e i flussi nazionali La rete degli osservatori regionali Il database integrato nazionale e il Piano Statistico Nazionale	
19-20 settembre 2013 Aula magna SSPA	Il Sistema Nazionale di Allerta Precoce	Aspetti generali e strategie di azione Aspetti organizzativi e di coordinamento Aspetti bio-tossicologici Aspetti clinico-tossicologici Internet e sostanze stupefacenti La tabellazione delle nuove sostanze Rape drugs Le attività di tutela della salute pubblica La rete RIS/LASS	
26 settembre 2013 Aula magna SSPA	Neuropsicobiologia		Le basi biologiche del comportamento L'approccio cognitivo-comportamentale Neuroplasticità e approccio educativo Recovery from addiction
27 settembre 2013 Aula magna SSPA	La Web Clinic e l'applicazione delle tecnologie emergenti		Le web clinic nell'addiction: l'esperienza americana Ambiente e addiction: l'esposoma Ecological Momentary Assessment: esperienze pratiche in psichiatria e addiction Esperienze nazionali: WEBCOCARE
3-4 ottobre 2013 Aula magna SSPA	I rapporti istituzionali nazionali e internazionali	Organizzazione e rapporti tra Governo e Regioni/Province Autonome La Conferenza delle Regioni Attività della Conferenza Stato/Regioni-Unificata Il Coordinamento Nazionale Dipendenze L'attività del Dipartimento in ambito internazionale Le principali convenzioni internazionali e i documenti strategici europei Ruolo delle Nazioni Unite: UNODC e UNICRI Il memorandum di intesa in materia di droga tra governo italiano e governo statunitense Le risoluzioni presentate dall'Italia alla Commissione Stupefacenti delle Nazioni Unite Il progetto UNODC Policy Maker	
18 ottobre 2013 Aula magna SSPA	Strategie di contrasto e legislazione	Direzione Centrale dei Servizi Antidroga: organizzazione, attività e risultati Normativa nazionale Dipartimento dell'Amministrazione Penitenziaria: strategie operative per i tossico-alcoldipendenti detenuti Linee guida nazionali: il progetto Carcere e Droga	

PROJECT WORK

Oltre alla partecipazione ai moduli formativi i discenti sono

tenuti a sostenere un esame finale con discussione di un project work (individuale o in piccolo gruppo). I project work, che saranno sviluppati su argomenti proposti dalla di-

reazione della Scuola, prevedono nel loro sviluppo un accompagnamento da parte di tutor di contenuto
L'ammissione alla discussione del PW è vincolata alla frequenza di almeno l'80% delle ore di insegnamento didattico in aula.

COMPLETAMENTO DEL PERCORSO FORMATIVO BASE O AVANZATO

La partecipazione completa con profitto ai due corsi, base o avanzato, consente l'acquisizione del rispettivo Diploma di Specializzazione in "Formazione Multidisciplinare sulle Dipendenze – Corso Base o Avanzato", come da decreto 290/2012

del Presidente della Scuola Superiore della Pubblica Amministrazione

MATERIALE DIDATTICO E DI SUPPORTO

Borsa per corso base, notes, badge personale, manuali, dispense, presentazioni

NOTE CONCLUSIVE

Il calendario formativo, le date di discussione dei project work e le sedi potranno essere modificate in base a esigenze della Scuola o dei docenti.

Regolamento Scuola Nazionale sulle Dipendenze

Corso Base e Corso Avanzato - Edizione 2013

ISCRIZIONE

L'accesso alla Scuola è limitata a non più di 100 posti per il corso base e 80 per quello avanzato.

L'iscrizione e la partecipazione alle attività della Scuola sono gratuite.

Eventuali costi di trasferta, vitto e alloggio sono a carico del discente.

Verranno prese in considerazione solo le domande degli aspiranti discenti che presentano i requisiti richiesti. In caso di richieste numericamente superiori al limite massimo previsto si opererà una ulteriore selezione delle candidature in base a requisiti preferenziali tra cui la valutazione complessiva del curriculum professionale e una esperienza lavorativa almeno triennale nel campo delle dipendenze. Ulteriore criterio di selezione sarà la data di presentazione della domanda di partecipazione.

Le richieste di pre-iscrizione selezionate e ammesse alla Scuola dovranno essere regolarizzate dal discente con completamento dell'iscrizione e accettazione del presente regolamento tramite apposito form sul sito www.dpaschool.it disponibile fino al 31 gennaio 2013. Oltre tale data non sarà più possibile confermare l'iscrizione.

FREQUENZA

L'iscrizione alla Scuola, ai fini dell'accreditamento ECM e CNOAS, prevede la frequenza obbligatoria di tutti i moduli definiti nel programma didattico.

La giornata formativa tipo prevede lezioni frontali/seminari dalle 9.00 alle 11.00 e dalle 11.30 alle 13.30 nella sezione mattutina e dalle 14.30 alle 16.30 nella sezione pomeridiana seguita da discussione e compilazione dei questionari di gradimento e apprendimento quando previsti (16.30-17.30), salvo variazioni di orario sulla base dello svolgimento delle lezioni stesse e delle necessità dei docenti.

La presenza verrà rilevata tramite badge elettronico e foglio firma in entrata e in uscita delle sezioni mattutina e pomeridiana. Il badge identificativo sarà consegnato al primo modulo e conservato dal discente per tutta la durata del corso; il discente è responsabile della conservazione del badge e in

caso di smarrimento sarà necessaria una denuncia formale e il pagamento per il rilascio del duplicato.

Sono ammesse assenze per una quota non superiore al 20% delle ore programmate per il singolo modulo come da regolamento ECM e CNOAS per il conferimento dei crediti, e, inoltre, il superamento della quota massima prevista di ore di assenza complessive su tutto il corso, fissate sempre al 20% e maturate a qualsiasi titolo, comporta l'esclusione dalla scuola e non dà diritto all'accesso all'esame finale e al rilascio del diploma.

Sarà rilasciato un attestato di frequenza delle lezioni alla fine di ogni modulo e un diploma di specializzazione finale post valutazione del corso completo base o avanzato.

PROGRAMMA DIDATTICO

Fermo restando le date dei moduli, eventuali aggiornamenti del programma didattico sono disponibili sul sito www.dpaschool.it, che si consiglia pertanto di consultare periodicamente. Gli aggiornamenti saranno notificati agli iscritti attraverso posta elettronica all'indirizzo e-mail fornito dal discente.

MODALITÀ DIDATTICHE

La modalità didattica principale è costituita da letture magistrali e lezioni frontali interattive, anche attraverso teleconferenze.

Potranno anche essere organizzate attività di lavoro intermodulo con tutoraggio e distance learning.

Le modalità didattiche potranno essere modificate in base a esigenze emergenti.

MATERIALE DIDATTICO

Tutto il materiale didattico fornito dai docenti sarà disponibile sul web attraverso un portale con accesso riservato per i discenti, i docenti e i tutor; una parte del materiale sarà anche fornito nel corso dei moduli.

Sono previste registrazioni audio/video delle lezioni che saranno rese disponibili e consultabili in differita attraverso il portale.

VALUTAZIONE IN ITINERE

Ogni modulo si conclude con una sessione di valutazione. Tale valutazione sarà relativa all'apprendimento dei temi trattati e alla soddisfazione del discente.

La valutazione dell'apprendimento costituirà la base della votazione di presentazione all'esame finale.

Le valutazioni dell'apprendimento dei discenti saranno formulate con questionari sugli argomenti trattati nel corso del singolo modulo.

La valutazione della soddisfazione dei discenti prevede un questionario di gradimento sull'organizzazione logistica, utilità professionale degli argomenti trattati, adeguatezza dei materiali di studio forniti e suggerimenti di miglioramento, oltre ad altre variabili utili per comprendere punti di forza, criticità e aree di miglioramento.

Le valutazioni sono obbligatorie e non differibili, e saranno considerate nella valutazione finale ai fini del conseguimento del diploma.

PROJECT WORK

I corsisti dovranno elaborare un project work da presentare in forma scritta che discuteranno in colloqui individuali di fronte a una Commissione d'esame.

Il Project Work rappresenta un lavoro, individuale o di piccolo gruppo, scelto tra una rosa di aree di interesse proposte dalla Scuola.

La scelta dell'argomento proposto dal discente/i deve essere comunicata e accettata formalmente dalla Scuola e confermata ai discenti con e-mail nel rispetto della seguente tempistica.

	CORSO BASE	CORSO AVANZATO
Proposta titolo e abstract PW	20 ottobre 2013	10 ottobre 2013
Conferma accettazione PW	25 ottobre 2013	18 ottobre 2013
Discussione PW	10-11 dicembre 2013	26-27 novembre 2013

Nell'ambito dei Project Work elaborati collettivamente i discenti dovranno, comunque, indicare le parti che hanno redatto individualmente.

I discenti saranno supportati per lo sviluppo del Project Work da un tutor di contenuto.

I Project Work, che saranno redatti secondo un formato standard fornito dalla Scuola, possono essere ricerche sperimentali, studi clinici, revisioni della letteratura, stesura di linee di indirizzo, approfondimenti specifici o altro materiale tecnico e/o scientifico, e avere valenza monodisciplinare o interdisciplinare.

I Project Work di particolare interesse saranno pubblicati sulla rivista *Italian Journal on Addiction* e potranno comunque essere utilizzati anche per pubblicazioni su riviste scientifiche o specializzate nazionali e internazionali.

VALUTAZIONE FINALE

La valutazione finale è costituita dai risultati conseguiti durante tutto il percorso didattico nelle valutazioni in itinere e

dal voto attribuito dalla Commissione alla presentazione e discussione del project work.

In caso di ammissione alla valutazione finale per i discenti che non hanno frequentato uno o più moduli, la valutazione in itinere corrispondente all'assenza sarà considerata con votazione zero.

La valutazione complessiva è espressa in centesimi: sarà valutata positivamente con il conseguimento di almeno 60/100.

ATTESTAZIONI

Al termine del percorso formativo ai partecipanti che abbiano seguito le lezioni senza superare il limite di assenze consentite ed abbiano superato la valutazione finale, sarà conferito un diploma di specializzazione e un certificato di frequenza riepilogativo.

Il diploma di specializzazione è rilasciato ai sensi del decreto 290/2012 del Presidente della Scuola Superiore della Pubblica Amministrazione.

Il certificato di frequenza riporterà l'elenco degli argomenti oggetto di docenza e la loro durata, il numero di ore di insegnamento frequentate, il titolo del project work e l'esito della valutazione finale.

ACCREDITAMENTO ECM E CNOAS

La Scuola è accreditata ECM per medici, psicologi, educatori professionali, infermieri e assistenti sanitari attraverso il provider Dipartimento Politiche Antidroga. Complessivamente saranno disponibili circa un totale di oltre 100 crediti per il corso base e oltre 60 per il corso avanzato (1 credito/ora) come formazione residenziale secondo i criteri della Commissione Nazionale per l'Educazione Continua. La Scuola è accreditata anche presso l'Ordine Nazionale degli Assistenti Sociali.

Il conferimento dei crediti è subordinato alla frequenza delle ore didattiche previste e al superamento delle prove di valutazione dell'apprendimento in itinere.

Ulteriori modalità di acquisizione crediti, come formazione a distanza e formazione sul campo, potranno essere attivati nel corso dello svolgimento della Scuola.

Sono disponibili eventuali tirocini pratici presso Strutture o Enti specializzati di settore accreditati dalla Scuola.

Sono previsti workshop e seminari, con partecipazione a carattere facoltativo e che saranno realizzati in parallelo alla Scuola, riconosceranno ulteriori crediti ECM e CNOAS in relazione ai criteri di attribuzione definiti dalle rispettive Commissioni Nazionali.

La partecipazione a tali eventi non esonera dalla frequenza dei moduli formativi previsti dal programma didattico della Scuola, né li sostituisce.

NORME FINALI

In caso di rinuncia alla frequenza del corso il discente è tenuto a comunicarlo tempestivamente in forma scritta alla Scuola.

La Scuola si riserva di modificare, integrare o adattare il programma formativo e il presente regolamento in base a eventuali esigenze emergenti. Ogni variazione sarà comunicata ai discenti all'indirizzo e-mail comunicato e pubblicato sull'area riservata del sito www.dpaschool.it.

I criteri di selezione per l'accesso al corso e di valutazione di profitto, e gli esiti degli stessi, sono decisi dalla Scuola in modo insindacabile.

Norme per gli Autori

L'Italian Journal on Addiction (IJA) è il periodico ufficiale del Dipartimento per le Politiche Antidroga della Presidenza del Consiglio dei Ministri, che pubblica e diffonde i più attuali orientamenti della ricerca e della politica sanitaria a livello internazionale, sulle dipendenze ed i fenomeni correlati, per promuovere il dialogo tra i ricercatori e i professionisti impegnati sul campo e permettere ai professionisti del settore di conoscere ed applicare gli interventi più efficaci riconosciuti a livello internazionale.

L'Italian Journal on Addiction pubblica gli aggiornamenti scientifici più significativi relativi alla prevenzione, alla cura e alla riabilitazione nel settore delle dipendenze patologiche e delle malattie diffuse correlate, nonché degli aspetti psicologici, sociali e criminali. L'IJA viene pubblicato in collaborazione con l'Istituto delle Nazioni Unite UNICRI e il Ministero della salute, nell'ambito della strategia di comunicazione istituzionale del Governo Italiano.

L'IJA è aperto a tutti i settori della ricerca specialistica sulle dipendenze, in particolare si rivolge alle neuroscienze, alla farmacologia, al trattamento clinico, alle tecniche analitiche, all'epidemiologia, agli aspetti psico-socio-educativi e alla prevenzione.

L'IJA pubblica gratuitamente i contributi originali inviati dagli autori ed è disponibile gratuitamente ai lettori, previa registrazione, all'indirizzo web: <http://www.italianjournalonaddiction.it> nella versione italiana, con riassunti e parole chiave in italiano ed inglese. Gli articoli di autori provenienti da altri paesi sono accettati per la pubblicazione in lingua originale, corredati da un abstract in italiano.

Gli estratti saranno stampati a spese degli autori che ne faranno richiesta. Gli autori possono scaricare gratuitamente gli articoli in formato .pdf dal sito web (<http://www.italianjournalonaddiction.it>).

L'IJA pubblica manoscritti inviati dai lettori o su invito del Direttore Responsabile. I lavori dovranno essere inviati utilizzando il sistema di invio e rintracciabilità dei manoscritti, disponibile sul sito web. Tra i manoscritti presi in considerazione per la pubblicazione sono inclusi contributi originali, rassegne critiche - bibliografiche, traduzioni e sintesi dalla letteratura scientifica internazionale e nazionale, documenti di politica sanitaria, normativa e atti amministrativi nazionali e internazionali (ONU, OMS, C.E., Consiglio d'Europa ecc.). Vengono prese in considerazione lettere al Direttore, relazioni su congressi, convegni, corsi ecc., nonché informazioni di interesse nel settore specifico della rivista.

Il materiale accettato per la pubblicazione è suddiviso nelle seguenti sezioni:

EDITORIALI

Commenti autorevoli, osservazioni ed analisi connessi al tema principale del volume o agli articoli in esso contenuti. Questi testi non devono contenere più di 800-1000 parole.

NORMATIVA, DECRETI E RELAZIONI

In questa sezione sono pubblicati i commenti sugli strumenti legislativi nazionali ed internazionali nel settore delle dipendenze e dei fenomeni correlati.

RICERCHE, PROGETTI ED INIZIATIVE

Questa sezione presenta in sintesi i progetti, le iniziative e gli studi di ricerca che il Dipartimento per le Politiche Antidroga realizza e coordina a livello regionale, nazionale e internazionale. I manoscritti non debbono superare 1500 parole, incluso un abstract (max. 150 parole), bibliografia, e non più di una tabella o figura.

EPIDEMIOLOGIA

Questa sezione presenta la sintesi e la revisione critica delle rilevazioni statistiche dei ministeri italiani e degli organismi scientifici competenti sulle dipendenze e i fenomeni correlati. I manoscritti non debbono superare 1500 parole, incluso un abstract (max. 150 parole), bibliografia, e non più di tre tabelle o figure.

CONTRIBUTI ORIGINALI

I contributi originali saranno pubblicati in full-text in italiano, con riassunto e parole chiave in italiano ed in inglese. Il testo non deve superare le 3500 parole. L'articolo dovrà essere corredato da un abstract in italiano ed in inglese, di circa 250 parole ciascuno, parole chiave, bibliografia e materiale iconografico che deve essere limitato all'essenziale. L'abstract del lavoro deve includere l'impostazione del problema, i metodi di studio, i risultati ed il significato della ricerca. Il testo deve essere suddiviso nelle sezioni: introduzione, materiali e metodi, risultati e discussione. I manoscritti riguardanti trials randomizzati dovranno conformarsi alle linee guida CONSORT (consultabili all'indirizzo web: <http://www.consort-statement.org>).

RASSEGNE DALLA LETTERATURA SCIENTIFICA NAZIONALE ED INTERNAZIONALE

Saranno considerate per la pubblicazione rassegne che fotografino lo stato dell'arte relativamente ai temi di interesse del periodico, attraverso la selezione e l'analisi critica degli articoli dalla letteratura scientifica nazionale ed internazionale. Questi testi non dovranno superare le 3000 parole, inclusi abstract, parole chiave e bibliografia.

EVENTI E FORMAZIONE

È uno spazio dedicato alla diffusione di iniziative a livello locale, come convegni, corsi di formazione, seminari di studio, campagne di comunicazione realizzate dal Dipartimento per le Politiche Antidroga. I testi non devono superare le 500 parole.

FORUM

È uno spazio di discussione e di confronto con i lettori. Le lettere non devono superare le 500 parole, inclusa la bibliografia e non dovranno contenere tabelle o figure. Esse saranno considerate soltanto se includono la dicitura “per la pubblicazione”. Le lettere che riportano osservazioni su un articolo già pubblicato, dovranno pervenire in redazione entro 8 settimane dalla pubblicazione dell’articolo.

Valutazione dei manoscritti

I manoscritti dovranno essere inviati utilizzando il sistema di invio e rintracciabilità dei manoscritti, disponibile sul sito web.

I contributi che giungono in redazione vengono sottoposti ad una prima valutazione dal Direttore Responsabile, coadiuvato dal Comitato Editoriale, per verificarne il rigore scientifico, il contributo alle conoscenze nel settore e la pertinenza con gli argomenti della rivista. I contributi sono quindi sottoposti alla valutazione anonima di esperti indipendenti del settore. Il Direttore Responsabile e il Comitato Editoriale sono coadiuvati nella valutazione esterna dal Comitato Tecnico-Scientifico. L’accettazione è soggetta al giudizio del Comitato Editoriale e all’esito della valutazione scientifica.

Il Comitato Editoriale comunica agli autori gli esiti della valutazione scientifica, chiedendo agli autori le eventuali modifiche suggerite dai revisori. Le modifiche possono corrispondere alle seguenti categorie:

- pubblicabile;
- pubblicabile dopo minima revisione;
- pubblicabile dopo ampia revisione e da sottoporre nuovamente alla valutazione esterna e al Comitato Editoriale;
- pubblicabile dopo ampia revisione con l’assistenza di un Tutor;
- non pubblicabile.

Gli autori ai quali viene richiesta una revisione del contributo hanno la possibilità di avvalersi di un Tutor, messo a disposizione dal Comitato Editoriale, per apportare le modifiche e sottoporre nuovamente il contributo per la pubblicazione. Il Tutor verrà scelto dal Comitato Editoriale in modo da non creare conflitti di interesse (non corrisponderà dunque mai ai revisori del manoscritto). La possibilità da parte degli autori di avvalersi di un Tutor è rivolta soprattutto ai giovani ricercatori all’inizio della carriera, e, in generale a tutti i ricercatori, compresi quelli provenienti dai paesi in via di sviluppo, che non possono accedere facilmente alle tradizionali risorse tecnico-scientifiche a supporto della ricerca.

In alcune circostanze, gli autori, a seguito di una revisione approfondita ed estesa, potranno concordare di includere il nome del Tutor tra gli autori del contributo. In ogni caso, la revisione condotta dagli autori, anche con l’assistenza del Tutor, dovrà corrispondere alle richieste formulate dal Comitato Editoriale, sulla base dell’iniziale processo di revisione indipendente.

La revisione indipendente sarà condotta secondo i più rigorosi criteri di anonimato e indipendenza. Il testo del contributo

non dovrà contenere riferimenti agli autori o alla struttura di provenienza, né alcun elemento che possa indicare la provenienza del contributo originale. Una pagina fuori testo dovrà indicare: nome e cognome dell’autore, titolo professionale, nome dell’Istituzione ed indirizzo completo di numero telefonico, fax ed email. Questo indirizzo verrà utilizzato per la corrispondenza tra la Redazione e gli autori.

Politica editoriale sul rispetto delle linee guida etiche

L’Italian Journal on Addiction aderisce al Farmington Consensus (Addiction (1997) 92(12), 1617-1618). <http://www.parint.org/isajewebsite/farmcon.pdf>.

All’atto dell’invio del contributo originale, attraverso il sistema disponibile sul sito web, gli autori dovranno riempire la dichiarazione sul conflitto di interesse. Tale dichiarazione dovrà includere la dichiarazione che il contributo è originale e non è già stato pubblicato o presentato contemporaneamente ad altra rivista, l’indicazione della/e fonte/i di finanziamento ed eventuali limitazioni imposte dai finanziatori. Gli articoli pubblicati impegnano unicamente la responsabilità degli autori. Gli autori di contributi originali che descrivono trials randomizzati dovranno conformarsi alle linee guida CONSORT (consultabili all’indirizzo web: <http://www.consort-statement.org>) e riempire il modulo sulla Dichiarazione Etica, sempre disponibile sul sito web del Journal, nel quale dovrà essere specificato che lo studio è stato sottoposto e approvato da un comitato etico e che la sperimentazione è stata condotta rispettando tutti i parametri etici, incluso l’ottenimento del consenso informato e il rispetto dell’anonimato dei partecipanti e sulla base di tutte le disposizioni e le linee guida di buona pratica clinica adottata dall’istituzione/i affiliata/e alla ricerca.

Proprietà letteraria

La proprietà letteraria è riservata alla rivista. I testi pubblicati non possono essere riprodotti senza l’autorizzazione scritta dell’Editore. Gli autori debbono ottenere l’autorizzazione scritta per la riproduzione di qualsiasi materiale protetto da copyright. Tale autorizzazione dovrà essere allegata ai manoscritti.

Preparazione dei manoscritti

In generale, i lavori dovranno essere preparati sulla base dell’ultima edizione degli “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” stabiliti dal “Gruppo di Vancouver” (International Committee of Medical Journal Editors, pubblicato all’indirizzo: <http://www.icmje.org/index.html>).

Gli autori sono anche invitati a consultare: West, R. (2000). “A checklist for writing up research reports”. *Addiction* 95(2), 1759-1761 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1360-0443.2000.951217594.x/pdf>

I manoscritti che non aderiscono alle istruzioni specifiche di seguito riportate verranno rispediti all’autore per la revisione tecnica prima di essere avviati alla valutazione.

Istruzioni specifiche

Tutti i manoscritti dovranno essere inviati in formato Word. Le tabelle dovranno essere inviate preferibilmente in formato Word. Le figure ed i grafici potranno essere inviate in uno dei seguenti formati: GIF JPEG o TIF.

I manoscritti dovranno aderire al seguente ordine: pagina del titolo che includerà i nomi degli autori e la struttura di appartenenza, abstract, testo del contributo, riferimenti bibliografici, tabelle, figure e grafici, appendici (se presenti). Di seguito le istruzioni più dettagliate per le varie sezioni:

Titolo

Il titolo sarà incluso in una pagina fuori testo che conterrà:

- 1) Il titolo del lavoro in italiano e in inglese. Il titolo deve essere conciso, chiaro e informativo. Eventuali sottotitoli devono essere necessari a compendiare il concetto predominante del lavoro.
- 2) Nomi e cognomi degli Autori (il nome precede e deve essere indicato per esteso); se gli Autori appartengono a più Istituti, questi dovranno essere indicati con numero arabo progressivo.
- 3) Qualifica professionale degli AA., l'istituzione pubblica o privata presso la quale il lavoro è stato svolto.
- 4) Eventuale fonte di finanziamento della ricerca o dello studio e dichiarazione di conflitto di interesse.
- 5) Indirizzo del primo autore, completo di recapito telefonico, fax ed e-mail che verrà pubblicato sull'articolo per la corrispondenza scientifica.

Abstract

Un abstract strutturato in italiano ed inglese non superiore alle 250 parole, per i contributi originali e le rassegne critiche. L'abstract dovrà includere le seguenti informazioni, sotto i titoli indicati. Obiettivi: lo scopo principale dell'articolo; Metodi: le fonti dei dati, i soggetti, l'impianto generale, l'analisi dei dati; Risultati-chiave; Conclusioni: implicazioni ed orientamenti futuri, significato della ricerca.

Per uniformità redazionale, la traduzione in inglese dell'abstract è sottoposta a revisione a cura della Redazione.

Parole chiave

L'abstract dovrà essere accompagnato da un minimo di 4 ad un massimo di 8 parole chiave, in italiano ed in inglese. Per la terminologia si dovrà fare riferimento al Medical Subjects Headings (MeSH) dell'Index Medicus (US National Library of Medicine. <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

Testo

Il testo del manoscritto dovrà essere organizzato nel seguente ordine: Introduzione, Materiali e Metodi, Risultati, Discussione, Conclusioni, Ringraziamenti, Bibliografia, Tabelle e Figure. Le sigle dovrebbero essere evitate e comunque dovranno essere esplicitate quando menzionate per la prima volta. La posizione delle tabelle e figure dovrà essere indicata nel testo.

Bibliografia

La bibliografia dovrà riferirsi unicamente a lavori citati nel testo. Gli autori sono responsabili dell'accuratezza delle citazioni. La bibliografia dovrà essere presentata secondo lo stile "Vancouver" (International Committee of Medical Journal Editors, pubblicato all'indirizzo: <http://www.icmje.org/index.html>). Le citazioni nel testo dovranno riportare il numero di riferimento bibliografico esponenziale, preferibilmente alla fine della frase. La bibliografia dovrà essere presentata alla fine del testo, numerata progressivamente, nell'ordine in cui i riferimenti sono citati nel testo. Gli articoli accettati per la pubblicazione, ma non ancora pubblicati, saranno citati con la dicitura "in corso di stampa". Comunicazioni individuali, osservazioni non pubblicate etc. dovranno essere solamente citate nel testo. Gli articoli citati da Internet dovranno essere accompagnati dalla URL specifica e dalla data nella quale il materiale è stato consultato.

Materiale iconografico

Tabelle, grafici e figure dovranno essere presentate su pagine separate, in sequenza numerica, usando i numeri arabi, nell'ordine in cui vengono citate, corredate da un titolo esplicativo. Le tabelle dovranno essere chiare e concise e non debbono rappresentare una duplicazione di quanto già esposto nel testo. Allo stesso modo, tabelle e figure debbono essere evitate se i dati possono essere forniti in maniera succinta nel testo. Le tabelle o le figure precedentemente pubblicate dovranno riportare la citazione della fonte e dovranno essere accompagnate da un permesso scritto di pubblicazione da parte della Rivista che ne detiene il copyright.

I Ringraziamenti dovranno esplicitare tutte le forme di supporto, incluso quello finanziario ricevute dalla studio.

Le Appendici conterranno tutto il materiale supplementare che si vuole allegare al testo. In generale, le appendici non dovrebbero contenere materiale che risulti essenziale per la comprensione e la valutazione del testo.

Gli autori dovranno assicurarsi di aver fornito tutte le informazioni richieste, prima di sottoporre il manoscritto alla redazione per la valutazione indipendente esterna.

L'accettazione dei lavori sarà comunicata agli autori entro 4 mesi dalla data di spedizione dell'articolo. I manoscritti ed il materiale iconografico non saranno restituiti.

I lavori proposti per la pubblicazione vanno inviati a:

Italian Journal on Addiction
Ufficio Editoriale
Dipartimento Politiche Antidroga
Presidenza del Consiglio dei Ministri
Via Po, n.16/A - 00198 - Roma - Italia
tel. +39 06 67796350 - fax +39 06 67796843
redazionejournaldpa@governo.it

Guidelines for Contributors

The Italian Journal on Addiction (IJA) is the official scientific journal of the Italian Department for Antidrug Policy of the Presidency of the Council of the Ministers. The Journal mission is the dissemination of the most recent and scientifically rigorous information of international significance in the field of prevention, treatment and rehabilitation of addiction and its related medical, psychological and social phenomena. The IJA aims to contribute to the exchange and the advancement of knowledge and understanding of addiction and addiction related phenomena, in order to enable policy makers, researchers and practitioners to be more effective in their actions. Founded in 2011, it is published in collaboration with the United Nations interregional Crime and Justice Research Institute and the Italian Ministry of Health.

The journal covers the specialized research on addiction, in particular related to neuroscience, pharmacology, clinical practice, analytical techniques, epidemiology, psychological, social and criminological aspects, prevention and education. The IJA is published six times a year in Italian, with abstracts and keywords in Italian and in English. The web site (<http://www.italianjournalonaddiction.it>) contains an Italian and an English version. Manuscripts submitted in other languages are published with an abstract in Italian.

The journal is available free of charge, upon registration, at the web site address <http://www.italianjournalonaddiction.it>. The works are published free of charge. Off prints may be ordered by authors upon payment of a fee. Files in PDF format can be downloaded free of charge from the journal web site (<http://www.italianjournalonaddiction.it>).

The IJA publishes unsolicited papers or papers commissioned by the Editor-in-Chief. Manuscripts considered for publication range from original contributions, critical reviews on specific issues, translations and summaries from the international scientific literature, health policy papers and documents, international and national legislation, reports on conferences and meetings and letters to the Editor.

Contributions are published in the following sections:

EDITORIALS

Authoritative reviews, comments and analysis on a topic related to the journal's main themes. These should not exceed 800-1000 words.

LEGISLATION

This section publishes the international and national documents and instruments of law in the field of drug dependence and related issues.

HEALTH POLICY AND PRACTICES

This section presents a synthesis of the projects, the initiatives and the research studies that the Department for Anti-

drug Policy implements and co-ordinates at the international, national and regional levels. Manuscripts should not exceed 1500 words, including an abstract (max. 150 words), bibliography and not more than one table or figure.

EPIDEMIOLOGY

This section presents the critical revision and synthesis of the statistics and the epidemiological reports prepared by the Italian Government and by other scientific organizations working in the field. Manuscripts should not exceed 1500 words, including an abstract (max. 150 words), bibliography and not more than three tables or figures.

ORIGINAL CONTRIBUTIONS

Original contributions shall be published in full-text in the Italian language with Italian and English abstracts and keywords. These should not exceed 3.500 words of text. Manuscripts shall be accompanied by keywords, a structured abstract of 250 words in the Italian and English versions, bibliographical references, tables and figures. The abstract should clearly state the main purposes of the study, the basic procedures and the most important conclusions drawn; the text should be divided into sections headed: Introduction, Methods, Results and Discussion.

CRITICAL REVIEWS

Evidence based review articles that focus on important aspects of science and health policy within the scope of the journal or reviews of the international literature on specific themes related to drug abuse prevention and care. Not exceeding 3000 words, including abstracts, keywords and bibliographical references.

CONFERENCES, MEETINGS AND TRAININGS

This space is dedicated to the diffusion of initiatives at the local level, such as conferences, meetings and trainings, as well as information campaigns. Not exceeding 500 words

FORUM

Brief letters (maximum of 500 words, including references; no tables or figures) will be considered if they include the notation "for publication." Letters critical of an article published in the IJA must be received within 8 weeks of the article's publication.

Peer-Review System

Manuscripts should be submitted online, using our web-based manuscripts submission and tracking system, available at <http://www.italianjournalonaddiction.it>.

Manuscripts are initially screened by the Editor in Chief and the Editorial Board for originality, relevance to the scope of the journal and scientific rigor, as well as adherence to the ethical guidelines. Following to this initial screening, manu-

scripts are sent for peer-review. The Editor in Chief and the Editorial Board are assisted by a Scientific Board in the peer-review process. Final acceptance of manuscripts is subject to editorial judgment and to the results of peer review.

The Editorial Board communicates to the authors the results of the scientific review and requests their revision. Revisions may be subject to the following outcomes:

- to be published as is;
- to be published with minor modifications,
- to be published after major revisions and to be resubmitted for peer review and consideration by the Editorial Board
- to be published after major revisions with recommendations for tutoring
- to be rejected.

The IJA aims to promote involvement of early career research colleagues and colleagues from countries where there may be less access to traditional forms of support to research. To this purpose, Authors who are asked major revision can obtain assistance from a Tutor, who is put at disposal of authors by the Editorial Board and shall assist in the revisions for a subsequent submission. The Tutor shall be selected by the Editorial Board, in order to avoid any conflict of interest (he/she shall not be selected among the experts who have been involved in the peer-review process of the manuscript). Authors may consider including the name of the Tutor as co-author, if the revision of the manuscript has been extensive. At any rate, the revised manuscript must still address the request formulated in the first peer-review process and shall be again submitted for peer-review and for consideration by the Editorial Board before being considered for publication. The Editorial Board shall make every effort to ensure that the peer review process is carried out according to the most rigorous criteria of anonymity and independence and that identities of authors and reviewers remain unknown to each other. To this purpose, authors are required to prepare their manuscript for submission accordingly. Manuscripts should not contain any reference to the authors identities or to the institutional affiliation. Manuscripts shall be accompanied by a separate cover page with the author's name, title, name of office, institutional affiliation and complete address, telephone, fax number and email address. All correspondence will be sent to this address, unless otherwise specified.

Editorial Policy on Ethics

The Italian Journal on Addiction adheres to the Farmington Consensus (Addiction (1997) 92(12), 1617-1618). <http://www.parint.org/isajewebsite/farmcon.pdf>.

When submitting a manuscript for publication, through the web-based system, authors are required to fill in the Ethical Statement form. Submission of ethical statement commits the author to declare that the manuscripts represent original material, have not been published previously, are not

being considered for publication elsewhere, and have been approved by each author. Authors of manuscripts bear sole responsibility for the articles published. Reports of randomized trials must conform to the CONSORT guidelines (available from <http://www.consort-statement.org>). Authors shall be requested to fill in an Ethical statement in which it is specified that the study was submitted for approval to an Ethical Committee and that the trials have been conducted according to the ethical guidelines, including the obtainment of the informed consensus and of the respect of anonymity and confidentiality of research participants and following all the guidelines of good clinical practice adopted and endorsed by the affiliated institution/s.

Copyright

The Italian Journal on Addiction holds literary rights to the articles printed. No portion of articles printed may be reproduced without written permission. Authors must obtain written permission to reproduce any material enjoying copyright protection. Permission should be attached to the manuscript.

Submission of Manuscripts

As a general guideline, papers should be prepared in accordance with the last edition of the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" established by the Vancouver Group (International Committee of Medical Journal Editors (the complete document is available at <http://www.icmje.org/index.html>).

Authors are invited to review the checklist for writing research reports (West, R. (2000). A check list for writing up research reports. *Addiction* 95(2), 1759-1761 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1360-0443.2000.951217594.x/pdf> .

Manuscripts that do not adhere to the following instructions will be returned to the corresponding author for technical revision before undergoing peer review.

Style Specifications

Manuscripts must be submitted in a Word format document. Tables should be submitted in a Word format. GIF, JPEG or TIF formats should be used for figures.

Manuscripts should adhere to the following order: title page including authors names and affiliations, abstract, main text, references, tables, figures, appendices (if appropriate).

Title page

The title page shall be separate from the text and shall contain:

- 1) Title of the work in Italian and in English. The title must be concise, clear and informative. Subtitles should only be used when necessary to clarify the main theme.
- 2) The Authors' names and surnames written in full. Affiliation to different Institutions shall be indicated by progressive numerals.
- 3) Professional title of authors and the name of the affiliated institution/s.
- 4) Source of funding of the study, if applicable.

5) Full address (including telephone and fax numbers, e-mail address) that will appear on the text, for scientific correspondence.

Abstract

A structured abstract in Italian and in English, not exceeding 250 words for original contributions and critical reviews and 150 words for case reports and brief communications. Abstract should include the following information, under the headings indicated: Objective: the primary purpose of the article; Method: data sources, subjects, design, measurements, data analysis; Results: key findings; and Conclusions: implications, future directions, significance of the research.

For purposes of uniformity, the English version of the summary can be subject to editorial revision.

Keywords

The abstract should be followed by a minimum of 4 to a maximum of 8 keywords, in Italian and English. Authors may refer to the terms from the Medical Subjects Headings (MeSH) list of Index Medicus (US National Library of Medicine. (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>)).

Text

Original contributions should be organized into the following main headings: Introduction, Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgments, References, Tables, Figures. Abbreviations or acronyms should be avoided to the extent possible. When used, they should be defined at first mention in the text and in each table and figure. The approximate location for tables and figures should be indicated in the text.

Bibliographic References

Bibliographic references should include only those works cited in the text. Accuracy of citation is the author's responsibility. References should be prepared according to the "Vancouver" style: "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" established by the Vancouver Group (International Committee of Medical Journal Editors (the complete document is available at <http://www.icmje.org/index.html>)).

In the text, references should be identified by Arabic numerals in parentheses preferably at the end of a sentence, and be numbered and listed consecutively at the end of the manuscript in the order in which they are first cited in the text.

Papers accepted but not yet published should be included in the references followed by '(in press)'. Those in preparation, personal communications and unpublished observations should be referred to as such in the text only. Articles cited from the Internet should be accompanied by the URL and the date in which the material has been accessed.

Illustrations

Tables and figures should be grouped at the end of the text, numbered consecutively, in the order in which they are mentioned (e.g. Table 2, Fig. 1). They should be presented on

separate pages with clear, concise and self-explanatory titles. Figures should represent data visually rather than numerically. Only the most widely recognized abbreviations may be used. Tables and figures should be essential and clear. They should not duplicate material contained elsewhere in the manuscript (in text, figures, or other tables). Authors are encouraged to avoid tables or figures containing data that could be given succinctly in text.

If tables and figures have been previously adapted from an earlier publication, the author must secure written permission from the holder of copyright for use in the Journal. The author should submit a copy of the permission release and credit lines if the manuscript is accepted for publication.

Acknowledgements

Acknowledgments shall explicit all type of support, including of financial nature, provided to the authors.

Appendices

Appendices shall contain all supplementary materials about the study. In general appendices should not contain materials that are essential for the understanding, evaluation and interpretation of the study.

Authors must ensure to have provided all requested information, before submitting the manuscript to the Editorial Board for peer-review.

Authors shall be notified of acceptance of publication of the manuscripts within four months from the date of arrival of the article. The manuscripts and illustrations of the works will not be returned.

Manuscripts should be submitted to:

Italian Journal on Addiction
Editorial Office
Department for Antidrug Policies
Presidency of the Council of Ministers
Via Po, n.16/A 00198 - Rome – Italy
ph. +39 06 67796350 - fax +39 06 67796843
redazionejournaldpa@governo.it

IJA



PRESIDENZA DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI
Ministro per la Cooperazione Internazionale e l'Integrazione
Dipartimento Politiche Antidroga

Via Po, 16/A - 00198 - Roma
Tel. 06/67796350 - Fax 06/67796843
e-mail: dipartimentoantidroga@governo.it

<http://www.politicheantidroga.it>
<http://www.allertadroga.it>
<http://www.droganograzie.it>
<http://cocaina.dronet.org>
<http://drugsonstreet.it>
<http://www.drogaedu.it>
<http://italianjournalonaddiction.it>
<http://www.drogaprevenzione.it>

<http://www.dronet.org>
<http://www.droganews.it>
<http://www.drugfreedu.org>
<http://www.neuroscienzedipendenze.it>
<http://alcol.dronet.org>
<http://www.dreamonshow.it>
<http://www.dpascientificcommunity.it>
<http://cannabis.dronet.org>