

Il ruolo del laboratorio nella clinica delle tossicodipendenze

Roberta PACIFICI (a), Annunziata LOPEZ (b), Manuela PELLEGRINI (a)
e Piergiorgio ZUCCARO (a)

(a) Laboratorio di Biochimica Clinica, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Istituto di Medicina Legale, Università degli Studi "La Sapienza", Roma

Riassunto. - Il laboratorio di tossicologia clinica interviene in due settori precisi nella tematica della tossicodipendenza eseguendo sia analisi finalizzate alla diagnosi e al trattamento dei tossicodipendenti sia analisi per scopi amministrativi e medico-legali. Un laboratorio che analizza sostanze d'abuso nei liquidi biologici deve garantire l'affidabilità e la validità della prestazione erogata operando in un sistema di qualità. E' possibile differenziare laboratori che svolgono solo analisi di *screening* con tecniche immunochimiche e laboratori che svolgono analisi di conferma, le uniche che abbiano valore medico-legale, con tecniche cromatografiche. La matrice di elezione in questo tipo di analisi è l'urina, sebbene in alcuni casi specifici l'analisi sui capelli può affiancare quella tradizionale. Il laboratorio deve essere sottoposto ad un aggiornamento continuo tramite corsi di riqualificazione del personale, seguire le nuove scoperte scientifiche e le normative utilizzando anche siti internet specifici.

Parole chiave: organizzazione del laboratorio, analisi, sostanze d'abuso, liquidi biologici.

Summary (*The role of the clinical toxicological laboratory*). - Clinical toxicological laboratory is involved in two different topics related to drug addiction: tests devoted to diagnosis and treatment of addicted and analyses for administrative and forensic purposes. A laboratory which analyses drugs of abuse has to guarantee reliability and performance of its services working with a quality system. It can be possible to differentiate between laboratories which perform only screening tests with immunological methods and laboratories which execute confirmations with a forensic meaning using chromatographic techniques. The primary biological matrix for this kind of tests is urine, although in some specific cases hair analysis can be a support of traditional investigations. Internet sites on specific topics can be of assistance for questions of different nature to be faced by a clinical toxicological laboratory.

Key words: laboratory organization, drugs of abuse testing, biological fluids.

Introduzione

I settori di intervento di un laboratorio di tossicologia clinica sono principalmente due: il primo riguarda le analisi finalizzate alla diagnosi e al trattamento dei tossicodipendenti afferenti alle strutture pubbliche e private; il secondo riguarda analisi per scopi amministrativi e medico-legali. In questo caso, le richieste possono arrivare dalle commissioni medico-legali che si occupano del rilascio di patenti di guida o del porto d'armi, dalle forze dell'ordine che si occupano dell'accertamento dello stato di ebbrezza o assunzione di sostanze stupefacenti nella guida o anche da enti pubblici e privati che compiano accertamenti sui lavoratori le cui mansioni comportino rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi.

I servizi pubblici per le tossicodipendenze (SERT) sono coinvolti non solo nel primo settore ma anche nel secondo per gli adempimenti posti dal DRP 309/1990 riguardante il testo unico delle leggi in materia di

disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza (GU n. 255 del 31 ottobre 1990).

La riforma del Servizio Sanitario Nazionale negli ultimi anni ha portato a delegare alle regioni gran parte delle attività sopraelencate lasciando alla autorità centrale compiti di indirizzo e di coordinamento. Inoltre, nel DPR del 14 gennaio 1997 sono stati indicati requisiti minimi strutturali, tecnologici ed organizzativi per l'esercizio dell'attività sanitaria da parte delle strutture pubbliche e private (GU n. 42 del 20 febbraio 1997).

Se tutto questo coinvolge solo in minima parte le strutture di riabilitazione, educative ed assistenziali per i tossicodipendenti in quanto riporta agli atti di intesa tra Stato e Regione, per quanto riguarda invece i laboratori di analisi, il tradizionale concetto del controllo della qualità (inteso come controllo di qualità interno ed esterno) viene ampliato ad un concetto di un miglioramento continuo della qualità. Ecco quindi che

il significato di qualità nella accezione più ampia del termine esce dall'ambito prettamente industriale dove è nato ed entra nell'ambito dei servizi.

Organizzazione del laboratorio

Al laboratorio di analisi viene chiesto di svolgere un servizio che sia il risultato di attività svolte sia nell'interfaccia tra fornitore e cliente che all'interno dell'organizzazione per soddisfare le aspettative del cliente. Nell'ambito sanitario queste aspettative sono quelle che il cliente-utente richiede, cioè l'affidabilità e la garanzia della qualità della prestazione che viene erogata. Diventa necessario quindi costruire un sistema di qualità inteso come: la struttura organizzativa, le responsabilità, le procedure, i processi di produzione e le risorse che si mettono in atto per la conduzione della qualità [1].

Di tutti questi punti, prenderemo in considerazione quelli strettamente peculiari per un laboratorio di tossicologia clinica [2-5].

In primo luogo tratteremo della struttura organizzativa logistica e della raccolta del campione biologico. Riguardo ai locali, un laboratorio che esegue dosaggi di sostanze d'abuso è un laboratorio particolare per la valenza medico-legale dei dati che in esso si producono e quindi deve essere separato dagli altri settori del laboratorio di analisi. Il locale dove viene raccolta l'urina deve essere allestito in modo che, pur salvaguardando il riserbo individuale, si possa comunque assicurare l'identità, l'integrità e l'autenticità del campione.

L'urina è considerata matrice di elezione in questo tipo di analisi, in quanto consente un prelievo non invasivo, la possibilità di campionare grandi volumi e la possibilità di determinare le sostanze e i loro metaboliti a distanza di giorni dall'assunzione. Vi sono però degli svantaggi legati alla scarsa rilevanza clinica delle concentrazioni trovate e al rischio che l'aggiunta di sostanze possa variare il volume di urina o le sue caratteristiche chimico-fisiche. Per questo si rende necessario controllare visivamente il momento del prelievo e alcuni parametri chimico-fisici come il pH, la temperatura e la densità. Inoltre è importante determinare il valore urinario della creatinina. In uno studio eseguito su 100 campioni si è visto infatti che concentrando campioni urinari con valori di creatinina inferiori a circa 4 $\mu\text{mol/l}$ fino ad un valore di 9 $\mu\text{mol/l}$ si aveva un aumento della positività mantenendo lo stesso *cut-off*: nel caso della morfina tale aumento era del 14%, mentre per i cannabinoidi e per le benzodiazepine era del 5% [6].

Per quel che concerne le procedure, per poter essere sicuri della identità del campione è necessario allestire una catena di custodia che parta dal momento del prelievo fino al momento di arrivo al laboratorio di analisi. Inoltre

è importante che il campione venga diviso in due aliquote per poter procedere alle controanalisi in caso di contestazione.

Le metodiche analitiche utilizzate in un laboratorio che analizza sostanze d'abuso nelle urine sono di due tipi: metodiche iniziali e metodiche di conferma [7-9].

Le metodiche iniziali escludono i campioni che non contengono la sostanza e quelli in cui la concentrazione è al disotto di una concentrazione soglia o *cut-off*. Il *cut-off* è una soluzione amministrativa scelta per stabilire e discriminare i campioni positivi da quelli negativi.

Le tecniche immunochimiche più usate sono: radioimmunologiche, immunoenzimatiche, immuno-fluorescenti a luce polarizzata, e di inibizione dell'agglutinazione.

Per quanto riguarda i test immunochimici, la sensibilità e la specificità sono funzione dell'anticorpo utilizzato che può essere policlonale o monoclonale. La maggior parte dei test oggi in commercio ha una specificità di gruppo, cioè non riconosce il singolo analita ma la classe di sostanze.

Oltre ai test sopraelencati esistono i test speditivi o monotest che sono quei test che consentono la determinazione di una o più sostanze d'abuso e dei loro metaboliti ad un valore soglia stabilito senza apparecchiature e in tempi ridotti. Si basano sugli stessi principi dei test immunochimici e sono affidabili se usati correttamente dallo stesso personale di laboratorio. Il loro utilizzo tiene conto del numero e finalità delle analisi da eseguire, del costo dei reattivi e del personale a disposizione. Possono essere utilizzate anche in strutture diverse dal laboratorio di analisi. Un test speditivo, così come tutti gli immunochimici è un test che non può fare diagnosi se non confermato con un metodo cromatografico.

Le analisi di conferma servono a verificare che non ci siano falsi positivi a causa della non specificità dei test iniziali. Quindi devono poter identificare i singoli analiti, avere una sensibilità uguale o maggiore al valore soglia dei test iniziali, devono poter fornire un dato quantitativo e devono basarsi su principi chimico-fisici diversi da quelli dei test iniziali. Le metodiche comunemente utilizzate per i test di conferma sono: la cromatografia liquida accoppiata con rivelatori di varia natura (ad assorbimento di luce ultravioletta, elettrochimico, ecc.), la gascromatografia con rivelatore a cattura di elettroni o a ionizzazione di fiamma, ma soprattutto la gascromatografia accoppiata ad uno spettrometro di massa, considerata tecnica di elezione.

La Tab. 1 riporta le concentrazioni soglia proposte per i test iniziali per definire la positività nell'urina per le varie classi di sostanze d'abuso; la Tab. 2 riporta invece i *cut-off* proposti nelle analisi di conferma per la quantificazione dei singoli analiti nelle urine. Sarebbe auspicabile che tutti i laboratori utilizzassero stessi valori di *cut-off* e uniformassero le procedure per poter confrontare i risultati delle analisi eseguite in tutto il territorio nazionale. Questi valori di *cut-off* sono stati inseriti in una "proposta di linee guida per le analisi delle

Tabella 1. - Concentrazione soglia (*cut-off*) nei test iniziali per la positività delle classi di sostanze nelle urine

Classe di sostanze	Concentrazione
Oppiacei	300 ng/ml ^(a)
Cocaina metaboliti	300 ng/ml
Cannabinoidi	30 ng/ml
Amfetamine ed analoghi	1000 ng/ml
Benzodiazepine	500 ng/ml
Metadone	300 ng/ml

(a) 25 ng/ml per test immunochimico specifico per la morfina libera.

sostanze d'abuso nei liquidi biologici" che l'Istituto Superiore di Sanità ha preparato per gli operatori del SSN [10]. Alcune regioni hanno recepito queste proposte, altre regioni le hanno modificate e integrate secondo le loro esigenze. In ogni caso, secondo il DPR del 1997 riguardante i "requisiti minimi" è responsabilità delle singole Regioni approntare linee guida per i percorsi diagnostici.

Oltre ai fluidi biologici che vengono normalmente usati nella determinazione di sostanze d'abuso e loro metaboliti, cioè l'urina ed in alcuni rari casi il sangue, da diversi anni si è posta l'attenzione sulla possibilità di analisi di matrici biologiche non convenzionali quali: saliva, sudore, capelli, peli pubici, peli ascellari ed infine unghie [11, 12].

Tra queste, i capelli sono stati la matrice biologica su cui si è focalizzato l'interesse della ricerca internazionale. Il motivo che ha portato ad utilizzare le matrici non convenzionali nelle analisi farmacotossicologiche risiede soprattutto nella possibilità di incrementare la finestra di tempo in cui la sostanza d'abuso è rilevabile in tale matrice. Infatti, se questa finestra di tempo è solo di ore nel caso del sangue, diventa di alcuni giorni nel caso dell'urina e di mesi nel caso dei capelli [13].

La Fig. 1 illustra un possibile meccanismo di incorporazione di droghe e metaboliti durante la crescita del capello. E' chiaro che nella parte prossimale del capello, quella cioè vicina alla cute, è possibile rilevare una esposizione immediatamente precedente al prelievo, mentre spostandosi nella parte distale, nella punta, si determina una esposizione passata. Ricordando inoltre che la velocità di crescita del capello varia da 0,8 a 1,3 cm al mese, con una media intorno al cm/mese, l'analisi dei segmenti della lunghezza di 1 cm potrebbe fornire, in teoria, l'esposizione avvenuta in ogni singolo mese. La possibilità di una correlazione tra l'analisi segmentale del capello e l'esposizione mensile può essere problematica a causa di diversi fattori come ad esempio la crescita non sempre costante del capello. Infatti, ogni bulbo pilifero (e quindi anche del capello) possiede un

proprio ciclo di crescita distribuito nel seguente modo: uno stadio di crescita detto "anagenico" (l'unico stadio in cui avverrebbe l'incorporazione delle droghe), uno stadio intermedio detto "catagenico" e uno stadio di riposo detto "telogenico". Questa crescita "irregolare" (ossia ogni singolo capello può trovarsi in una fase di crescita differente per cui la crescita media diventa irregolare) comporta dei limiti teorici nella valutazione del significato della presenza di una droga in un certo punto della intera lunghezza di un capello [14].

Per chiarire meglio questo punto possiamo fare un esempio. Se preleviamo 7 cm di capelli a due assuntori, uno che ha ripreso a drogarsi da tre mesi dopo una sospensione di 4 mesi e un altro che non si droga più da un mese, vediamo come nel primo caso in teoria avremo i 3 cm prossimali alla radice positivi e gli altri 4 negativi, nel secondo caso esiste la possibilità che il primo cm

Tabella 2. - Concentrazione soglia (*cut-off*) nei test di conferma per la quantizzazione delle singole sostanze nelle urine

Classe di sostanze	Concentrazione
<i>Oppiacei</i>	
Morfina (libera+coniugata)	300 ng/ml
Morfina 3-glucuronide	(a)
Morfina 6-glucuronide	(a)
6-monoacetilmorfina	(b)
Codeina	300 ng/ml
<i>Cocaina metaboliti</i>	
Benzoilecgonina	150 ng/ml
Ecgoninamilestere	(b)
<i>Cannabinoidi</i>	
Delta 9 tetraidrocannabinolo-acido carbossilico	15 ng/ml
Glucuronide del delta 9 tetraidrocannabinolo-acido carbossilico	(b)
<i>Amfetamine e analoghi</i>	
Amfetamina	500 ng/ml
Metamfetamina	500 ng/ml
3,4 metilendioossimetamfetamina (MDMA)	1000 ng/ml
Metilendioossiamfetamina (MDA)	1000 ng/ml
<i>Benzodiazepine</i>	
7 amminoflunitrazepam	500 ng/ml
Nordiazepam	500 ng/ml
Oxazepam	500 ng/ml
<i>Metadone</i>	
2 etilidene-1,5-dimetil-3,3-difenil-pinolidene (EDDP)	(b)

(a) Metabolita presente nell'urina che può essere dosato tal quale oppure insieme alla morfina in seguito ad un processo di idrolisi (acida o enzimatica) per rompere il legame con il glucuronide. (b) Altro metabolita presente nell'urina.

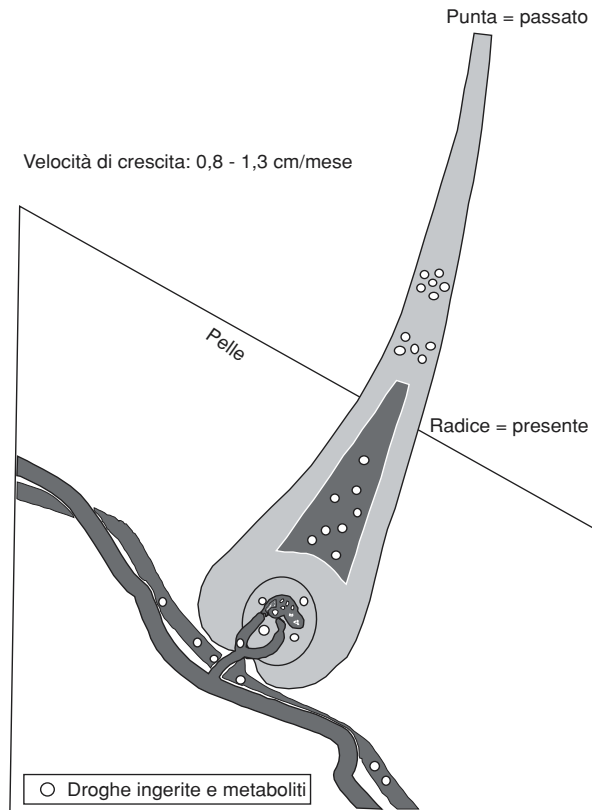


Fig. 1. - Meccanismo di incorporazione di droghe e metaboliti durante la crescita del capello.

prossimale risultati negativi, mentre gli altri positivi. Per distinguere le due situazioni è dunque necessaria un'analisi segmentale, la quale necessita però di grandi quantità di capelli, poiché l'analisi dei 7 cm *in toto*, risultando positiva in entrambi i casi, non permette alcuna differenziazione. Possiamo quindi concludere che la matrice cheratinica permette con chiarezza l'individuazione della esposizione media negli ultimi mesi, mentre il rilievo dell'esposizione mensile risulta di più difficile interpretazione.

Ricordiamo infine che i markers dell'abuso di droga nella matrice cheratinica possono essere diversi da quelli presenti nelle urine: nel caso della cocaina, nelle urine è presente quasi esclusivamente la benzoilecgonina, mentre nei capelli è la cocaina la sostanza più abbondante, lo stesso per la nicotina, marker principale dell'esposizione al fumo di sigarette che troviamo nei capelli, mentre nelle urine è presente il suo principale metabolita la cotinina [15, 16].

In base a tutte queste considerazioni, i laboratori di analisi nella clinica delle tossicodipendenze possono essere così classificati:

1) laboratori di I livello che eseguono analisi preliminari, utilizzano metodi immunochimici, non attuano la catena di custodia, però eseguono controlli di qualità interni e partecipano a programmi di valutazione esterna della qualità;

2) laboratori di II livello che attuando una catena di custodia, avendo la possibilità di utilizzare sia metodiche immunochimiche, che metodiche cromatografiche per l'analisi di diverse matrici biologiche (sangue, urina, capelli), partecipando a programmi di valutazione esterna di qualità, possono fornire risultati che hanno valore medico-legale.

Determinazioni analitiche

Prenderemo ora in esame alcune problematiche analitiche che si possono presentare in un laboratorio di tossicologia clinica in situazioni reali nella determinazione di sostanze d'abuso in liquidi biologici.

Oppiacei

La Fig. 2 illustra il metabolismo dell'eroina, la sostanza d'abuso per la quale sono maggiori le richieste di analisi da parte dei servizi territoriali. Il suo metabolita primario è la 6-monoacetilmorfina, metabolizzata rapidamente in morfina, la quale per coniugazione con l'acido glucuronico si trasforma in morfina-3 e morfina-6-glucuronide. La 6-monoacetilmorfina è una sostanza con azione farmacologica simile a quella della eroina, e che condivide con la droga parente un'azione circa 10 volte più potente della morfina sul modello animale. [17]

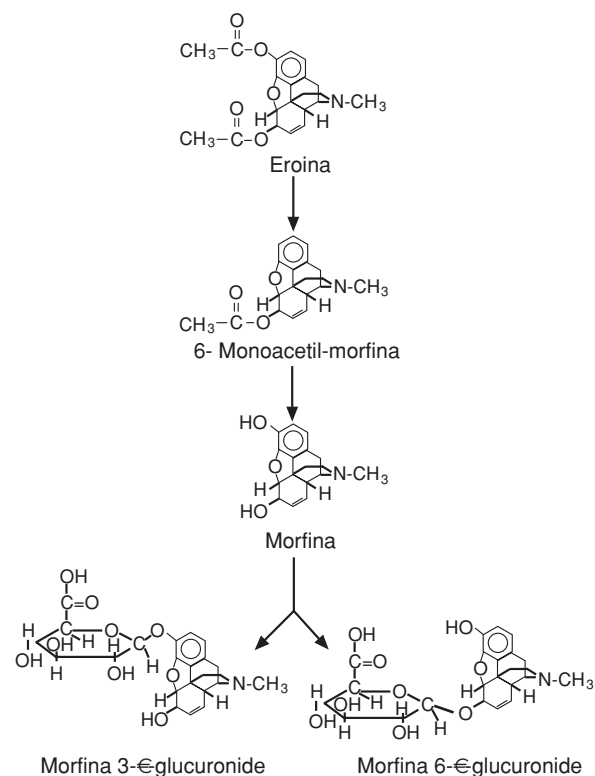


Fig. 2. - Metabolismo dell'eroina.

Il tempo di rilevamento dei metaboliti dell'eroina, dopo somministrazione di una singola dose intramuscolare di 6 mg di eroina in uno studio controllato su sei soggetti, nell'urina varia rispetto alla sostanza presa in considerazione: la 6-monocetilmorfina si rileva dopo entro le prime ore dopo la somministrazione della sostanza parente però poi scompare, la morfina libera intorno alle 20 ore se consideriamo un *cut-off* di 25 ng/ml, ma la morfina totale con il *cut-off* a 300 ng/ml si rileva per 25 ore, mentre con un *cut-off* a 40 ng/ml il tempo di rilevamento aumenta fino a 46 ore [18].

Cocaina

La Fig. 3 illustra il metabolismo della cocaina. I metaboliti evidenziabili nelle urine sono: la benzoilecgonina, ma anche la cocaina stessa e l'ecgonina-metilestere [19]. Utilizzando diverse vie di somministrazione della cocaina (endovena, intranasale e fumata) è possibile dimostrare sia nel caso della cocaina che in quello della benzoilecgonina che dopo un'ora l'andamento delle curve farmacocinetiche è lo stesso indipendentemente dalla via di somministrazione [20]. Quando la cocaina è assunta a dosi diverse e attraverso diverse vie di somministrazione il recupero maggiore (tra il 30 e il 50%) si ha per la benzoilecgonina, seguita dalla ecgonina metilestere e infine in piccolissima percentuale dalla cocaina.

In una simulazione dell'*excretion rate* della cocaina, benzoilecgonina ed ecgonina metilestere si evidenzia che con 100 mg endovena di cocaina, il tempo di rilevabilità della benzoilecgonina in urina può raggiungere le 60 ore [21].

Le ditte costruttrici di kit hanno tenuto conto che il metabolita che si rileva nelle urine è la benzoilecgonina e per questo la maggior parte degli anticorpi dei kit in commercio sono specifici per la benzoilecgonina con una bassa *cross*-reattività nei confronti della cocaina. C'è però almeno un kit che presenta un'alta percentuale di *cross*-reattività nei confronti della cocaina e che potrebbe essere usato per la determinazione della cocaina nel capello [7].

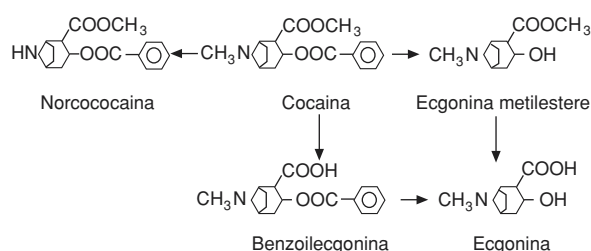


Fig. 3. - Metabolismo della cocaina.

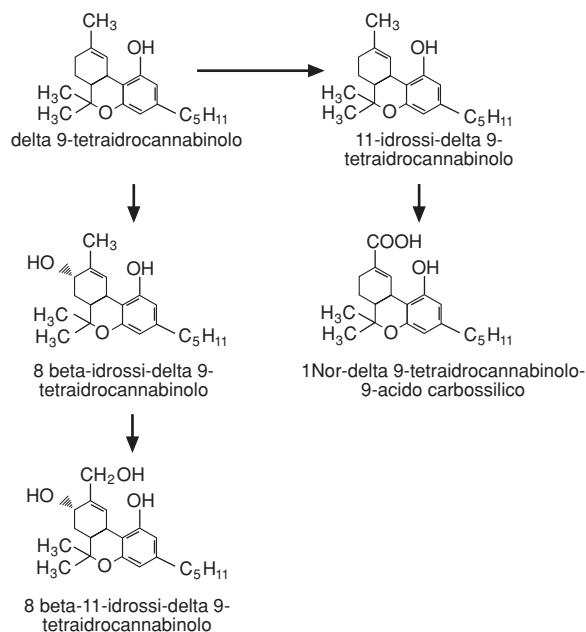


Fig. 4. - Metabolismo del delta-9-THC.

Marijuana

In Fig. 4 è presentato il metabolismo del delta-9-THC, principale principio attivo della marijuana, nell'uomo. Recenti studi hanno dimostrato che le concentrazioni di 11-nor-9-carbossi-delta-9-tetraidrocannabinolo nelle prime urine raccolte dopo aver fumato una sigaretta con una percentuale di 1,75 e 3,55% rispettivamente di THC sono rispettivamente di 47 e 73,5 ng/ml [22, 23]. Il metabolita in entrambi i casi è rilevabile dopo 3 ore circa, la concentrazione di picco invece nel primo caso è di 7 ore circa, mentre nel secondo si arriva alle 14 ore [24]. Infine, si osserva anche in questo caso che il tempo di rilevamento dei metaboliti della marijuana nelle urine è funzione della dose somministrata e del *cut-off* stabilito. A conferma di ciò uno studio nel 1997 [25] dimostra che abbassando il *cut-off* sia dei metodi di screening da 50 ng/ml a 20 ng/ml che di quelli di conferma da 10 a 5 ng/ml, la percentuale di positività per i cannabinoidi su 6427 urine testate aumenta da un 2,8 ad un 4,4%. Infatti durante un *follow-up* di circa 100 giorni di un fumatore di cannabis che diminuisce nel tempo le dosi assunte, l'utilizzo di un *cut-off* di 100 ng/ml permette di accertare la positività ai cannabinoidi nelle urine solo nei momenti di recente consumo, mentre un *cut-off* di 20 ng/ml consente di monitorare il soggetto in tutto il periodo. La misura contemporanea della creatinina urinaria si rivela interessante in quanto correla perfettamente con quella dei cannabinoidi urinari. Questo conferma che nelle determinazioni urinarie può essere importante fornire non solo le concentrazioni di una droga, ma anche il rapporto sostanza/creatinina al fine di normalizzare i valori con la diluizione dell'urina [26].

Amfetamine

Si tratta di un gruppo di sostanze d'abuso la cui analisi nelle urine e l'interpretazione dei risultati è resa difficile da molti fattori:

- un numero elevato di composti che nell'uomo producono amfetamine. Alcuni di questi composti sono utilizzati su prescrizione medica [27];

- alcuni farmaci che *cross*-reagiscono nei test immunochimici (es. efedrina, ferifluramina fenilpropanolamina, ecc.) [28];

- la possibilità di alcalinizzare le urine (es. con assunzione di bicarbonato sodico) che diminuisce l'escrezione urinaria delle amfetamine, le quali permangono più a lungo nelle urine ma in concentrazioni che possono essere al di sotto del *cut-off* stabilito, prolungandone l'effetto farmacologico [29];

- possibilità di falsi positivi in gascromatografia/spettrometria di massa per modificazioni strutturali di principi attivi durante il processo analitico [30].

Sono stati proposti due tipi di soluzioni a questo ultimo problema. La soluzione metodologica prevede di variare le condizioni di analisi gascromatografica delle amfetamine abbassando ad esempio la temperatura dell'iniettore per evitare le modificazioni strutturali di sostanze per pirolisi o aggiungendo un agente chimico (es. periodato di sodio) che con una reazione di riduzione blocchi eventuali interferenti cromatografici. La soluzione amministrativa, adottata ad esempio dal Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA), ha stabilito che per confermare in gascromatografia/spettrometria di massa come positivo un campione per la metamfetamina, utilizzando un *cut-off* di 500 ng/ml, bisogna trovare positivo lo stesso campione per l'amfetamina utilizzando un *cut-off* di 200 ng/ml [31].

La Fig. 5 presenta infine il metabolismo completo dell'MDMA in assuntori della sostanza. Sebbene ci siano pubblicazioni internazionali riguardanti l'argomento, il pattern metabolico completo di queste sostanze è ancora oggetto di studio [32].

Conclusioni

Dopo aver esaminato alcune delle problematiche amministrative e analitiche di un laboratorio di tossicologia clinica, concludiamo facendo riferimento ai rapporti che intercorrono tra un laboratorio di analisi che analizza sostanze d'abuso nei liquidi biologici e i servizi (SERT).

A tale scopo si può far riferimento alla circolare del Ministero della Sanità del 30 settembre 1994 (GU n. 241 del 14 ottobre 1994) riguardante le linee guida per i trattamenti sostitutivi nei tossicodipendenti, in cui viene ribadita l'importanza non solo del recupero totale ma,

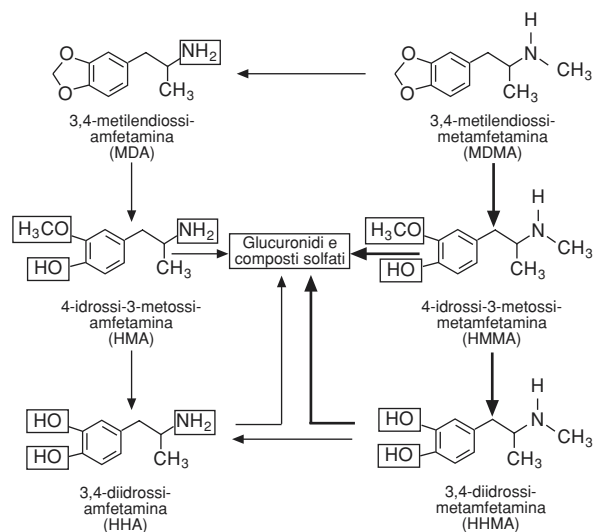


Fig. 5. - Metabolismo completo dell'MDMA in assuntori della sostanza.

laddove non sia possibile per la presenza di patologie quali ad esempio l'HIV, il mantenimento in vita del paziente, cioè la ritenzione del paziente al servizio. Nel caso della terapia metadonica, non è utile un monitoraggio della terapia da parte del laboratorio in quanto vari studi [33] hanno messo in luce che parametri farmacocinetici calcolati su volontari sani non sono stati utili per calcolare la dose di metadone e hanno mostrato una mancanza di correlazione tra la dose di metadone amministrata e i livelli ematici misurati in soggetti eroinomani in trattamento. Rimane comunque compito del laboratorio verificare la presenza/assenza del metadone e dell'eroina nelle urine dei soggetti in trattamento. Questa verifica può avere diverse ripercussioni da parte dei servizi che possono intervenire o con un aumento del dosaggio del farmaco o un aumento dell'intervento psicosociale o con la sospensione del trattamento con farmaci sostitutivi. Spesso in passato una positività alla morfina nelle urine veniva considerata come unico elemento per decidere una sospensione del trattamento. Ora invece l'approccio è integrato e quindi la positività non viene utilizzata ai fini di un intervento punitivo e viene posta attenzione ad ogni diniego del paziente per la possibilità di un falso positivo.

Sono attivi a tutt'oggi (12/01/2000) alcuni siti Internet dove è possibile trovare informazioni e fonti legislative che possono aiutare gli operatori nel loro lavoro, quali: il sito della Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare SiBioC (www.sibioc.it), quello del Bollettino delle Farmacodipendenze e Alcolismo del Ministero della Sanità (www.unicri.it/min.san.bollettino) e quello del Centro Tossicologico Forense dell'Università di Padova (www.cbft.unipd.it/cbft/activ.html).

Ringraziamenti

Si ringrazia Claudia Mortali per la preziosa collaborazione nel reperimento del materiale bibliografico.

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 12 gennaio 2000.

BIBLIOGRAFIA

- JANSEN, R.T.P., BLATON, V., BURNETT, D., HUISMAN, W., QUERALTO, J.M. & ZERAH, S. 1997. European Communities Confederation of Clinical Chemistry: essential criteria for quality system of medical laboratories. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **35**(2): 123-132.
- DHHS/SAMSHA. 1998. Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs (1994). *Fed. Reg.* **63**(219): 63483-63484.
- DE LA TORRE, R., SEGURA, J., DE ZEEUW, R. & WILLIAM, J. 1997. Recommendations for the reliable detection of illicit drugs in urine in the European Union, with special attention to the workplace. *Ann. Clin. Biochem.* **34**: 399-444.
- ZUCCARO, P., PICHINI, S., ALTIERI, I., PELLEGRINI, M. & PACIFICI, R. 1998. Procedure per l'analisi delle sostanze d'abuso nelle urine e organizzazione di un laboratorio di tossicologia analitica. *Ligand Assay* **3**(1): 12-20.
- FERRARA, D., TEDESCHI, L., FRISON, G. & BRUSINI, G. 1998. Quality control in toxicological analysis. *J. Chromatogr. B* **713**: 227-243.
- LUCERI, F., GODI, F., & MESSERI, G. 1997. Reducing false-negative tests in urinary drugs of abuse screening. *J. Anal. Toxicol.* **2**: 244-245.
- BRAITHWAITE, R.A., JARVIE, D.R., MINTY, P.S.B., SIMPSON, D. & WIDDOP, B. 1995. Screening for drugs of abuse. I. Opiates, amphetamines and cocaine. *Ann. Clin. Biochem.* **32**: 123-153.
- SIMPSON, D., BRAITHWAITE, R.A., JARVIE, D.R., STEWART, M.J., WALKER, S., WATSON, J.W. & WIDDOP, B. 1997. Screening for drugs of abuse. II. Cannabinoids, lysergic acid diethylamide, buprenorphine, methadone, barbiturates, benzodiazepines and other drugs. *Ann. Clin. Biochem.* **34**: 460-510.
- PEAT, M.A. 1988. Analytical and technical aspects of testing for drug abuse: confirmatory procedures. *Clin. Chem.* **34**(3): 471-473.
- ZUCCARO, P., PICHINI, S., ALTIERI, I. & PACIFICI, R. 1996. *Proposta di linee guida per l'analisi delle sostanze d'abuso nei liquidi biologici*. Istituto Superiore di Sanità, Roma. (Rapporti ISTISAN, 96/29).
- PICHINI, S., ALTIERI, I., ZUCCARO, P. & PACIFICI, R. 1996. Drug monitoring in non conventional fluids and matrices. *Clin. Pharmacokinet.* **30**(3): 211-228.
- PALMERI, A., PICHINI, S., PACIFICI, R., ZUCCARO, P. & LOPEZ, A. 2000. Drugs in nails. *Clin. Pharmacokinet.* **38**(2): 95-110.
- KIDWELL, D.A. & BLANK, D.L. 1995. Mechanisms of incorporation of drugs into hair and the interpretation of hair analysis data. In: *Hair testing for drugs of abuse: international research on standards and technology*. E.J. Cone, M.J. Welch & M.B. Grigson Babeki (Eds). National Institute on Drug Abuse, NIH, Rockville, MD. p. 19-90.
- SACHS, H. 1995. Theoretical limits of the evaluation of drug concentrations in hair due to irregular hair growth. *Forensic Sci. Int.* **70**: 53-61.
- HARKEY, M.R., HENDERSON, G.L. & ZHOU, C. 1991. Simultaneous quantification of cocaine and its major metabolites in human hair by mass-chromatography/chemical ionization mass-spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* **15**: 260-265.
- PICHINI, S., ALTIERI, I., PELLEGRINI, M., PACIFICI, R. & ZUCCARO, P. 1997. Hair analysis for nicotine and cotinine: evaluation of extraction procedures, hair treatments, and development of reference material. *Forensic. Sci. Int.* **84**: 243-252.
- OSBORNE, R., JOEL, S., TREW, D. & SLEVIN, M. 1990. Morphine and metabolite behaviour after different routes of morphine administration: demonstration of the importance of active metabolite morphine-6-glucuronide. *Clin. Pharmacol. Ther.* **47**: 12-19.
- CONE, E.J., WELCH, P., MITCHELL, J.M. & PAUL, B.D. 1991. Forensic drug testing for opiates. I. Detection of 6-acetylmorphine in urine as an indicator of recent heroin exposure; drug and assay considerations and detection times. *J. Anal. Toxicol.* **15**: 1-7.
- CONE, E.J. 1995. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cocaine. *J. Anal. Toxicol.* **19**: 459-479.
- AMBRE, J., RUO, T.I., NELSON, J. & BELKNAP, S. 1988. Urinary excretion of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in human. *J. Anal. Toxicol.* **12**: 301-306.
- AMBRE, J. 1985. The urinary excretion of cocaine and metabolites in humans: a kinetic analysis of published data. *J. Anal. Toxicol.* **9**: 241-245.
- HUESTIS, M.A., MITCHELL, J.M. & CONE, E.J. 1995. Detection times of marijuana metabolites in urine by immunoassay and GC-MS. *J. Anal. Toxicol.* **19**: 443-449.
- HUESTIS, M.A., MITCHELL, J.M. & CONE, E.J. 1996. Urinary excretion profiles of 11-Nor-9-carboxy-*O*-tetrahydrocannabinol in humans after single smoked doses of marijuana. *J. Anal. Toxicol.* **20**: 441-452.
- HUESTIS, M.A., HENNINGFIELD, J.E. & CONE, E.J. 1992. Blood cannabinoids. I. Absorption of THC and formation of 11-OH-9-THC and THCCOOH during and after smoking marijuana. *J. Anal. Toxicol.* **16**: 276-282.
- WINGERT, W.E. 1997. Lowering cutoffs for initial and confirmation testing for cocaine and marijuana: large scale study of effects on the rates of drug-positive results. *Clin. Chem.* **43**(1): 100-103.
- LAFOLIE, P., BECK, O., BLENNOW, G., BORÉUS, L., BORG, S., ELWIN, C.E., KARLSSON, L., ODELIUS, G. & HJEMDAHL, P. 1991. Importance of creatinine analyses of urine when screening for abused drugs. *Clin. Chem.* **37**: 1927-1931.
- ELSOHLY, M.A. & JONES, A.B. 1995. Drug testing in the workplace: could a positive test for one of the mandated drugs be for reasons other than illicit use of the drug? *J. Anal. Toxicol.* **19**: 450-458.

28. ELSOHLY, M.A., STANFORD, D.F., SHERMAN, D., SHAH, H., BERNOT, D. & TURNER, C.E. 1992. A procedure for eliminating interferences from ephedrine and related compounds in the GC/MS analysis of amphetamine and methamphetamine. *J. Anal. Toxicol.* **16**: 109-111.
29. SMITH-KIELLAND, A., SKUTERUD, B. & MÝRLAND, J. 1997. Urinary excretion of amphetamine after termination of drug abuse. *J. Anal. Toxicol.* **21**: 325-329.
30. HORNBECK, C.L., CARRIG, J.E. & CZARNY, R.J. 1993. Detection of a GC/MS artifact peak as methamphetamine. *J. Anal. Toxicol.* **17**: 257-263.
31. VALENTINE, J.L., KEARNS, G.L., SPARKS, C., LETZIG, L., VALENTINE, C.R., SHAPPELL, S.A., NERI, D.F. & DEJOHN, C.A. 1995. GC/MS determination of amphetamine and methamphetamine in human urine for 12 hours following oral administration of dextro-methamphetamine: lack of evidence supporting the established forensic guidelines for methamphetamine confirmation. *J. Anal. Toxicol.* **19**: 581-590.
32. HELMLIN, H.J., BRACHER, K., BOURQUIN, D., VONLANTHEN, D., BRENNEISEN, R. & STYK, J. 1996. Analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its metabolites in plasma and urine by HPLC-DAD and GC-MS. *J. Anal. Toxicol.* **20**: 432-440.
33. WOEFF, K., ROSTAMI-HODJEGAN, A., SHIRES, S., HAY, A.W.M., FEELY, M., CALVERT, R., RAISTRICK, D. & TUCKER, G.T. 1997. The pharmacokinetics of methadone in healthy subjects and opiate users. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **44**: 325-334.