

## Accertamenti tossicologici su sangue a seguito dell'applicazione dell'articolo 187 del Codice della Strada: uno studio retrospettivo nei territori di Milano e provincia

Adriano Masarin, Cecilia Gechtman, Stefania Paccagnini, Giovanni Pietro Gesu

Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Niguarda Ca' Granda, Milano

### ABSTRACT

**Toxicological investigations on blood for driving under the influence of drug of abuse: a retrospective study in Milan and districts.** In Italy driving under the influence of drug of abuse (DRUID) is prosecuted since 1992. Controls are performed according to a two-step procedure: blood immunoscreening followed, in case of result positivity, by confirmation using a separative technique coupled to mass spectrometry. This study reports a two-year (2012-2014) retrospective review of blood analyses performed in this framework in our hospital. Over this period, 1384 subjects [1170 (84.5%) were male, mean age 36.7 years] were controlled on request by the authorities of Traffic Police. 426 subjects (30.7%) were found positive to at least one drug. Among them, 212 were positive for cannabis, 150 for cocaine and its metabolites, 24 for opiates, 16 for methadone and 9 for amphetamine-type stimulants. Out of the 212 subjects tested positive for cannabis, 141 had detectable levels of  $\delta$ -9-tetrahydrocannabinol (THC) for engaging prosecution against the drivers. Blood THC concentrations were in the range between 2-38  $\mu$ g/L. Our results clearly illustrate the huge prominence of cannabis among substances involved in DRUID. According to our data, 9.9% of drivers found positive for cannabis and cocaine metabolites, probably no longer under the influence of drug of abuse at time they were driving, should be submitted to other investigations (e.g., on hair).

### INTRODUZIONE

La guida sotto l'effetto di sostanze stupefacenti o psicotrope rappresenta una violazione al Codice della Strada perseguita in Italia dal 1992 (Decreto Legge n. 285 del 30/04/1992, articolo 187), come d'altro canto quella in stato di ebbrezza (articolo 186). Peraltro, la Direttiva Europea 439 del 29 luglio 1991 sottolinea come non debba essere rilasciata o rinnovata la patente di guida a chi è dipendente o abusa di sostanze psicotrope, demandando agli organi legislativi dei singoli Stati di stabilire il regime sanzionatorio per coloro che vengono colti a guidare sotto il loro effetto. A questo proposito, l'articolo 186 ha subito numerose modifiche nel corso degli anni, mentre il 187 ha visto un unico cambiamento: l'equiparazione delle sanzioni a quelle per concentrazioni di alcol etilico  $>1,5$  g/L (articolo 186 comma 2 lettera c). Le sanzioni per chi guida in stato di alterazione psicofisica dopo aver assunto sostanze stupefacenti o psicotrope possono arrivare a 6000 €, è previsto l'arresto

fino a un anno (pena sostituita con lavori socialmente utili) e la sanzione amministrativa accessoria della sospensione della patente di guida fino a due anni (Decreto Legge n. 92 del 27/05/2008). Le pene sono raddoppiate se, in queste condizioni, il guidatore provoca un incidente stradale e l'ammenda è aumentata fino alla metà quando il reato è commesso dopo le ore 22 e prima delle ore 7 (Legge 94 del 15/07/2009). Va' sottolineato che "gli organi di polizia stradale.. accompagnano il conducente... presso le strutture sanitarie pubbliche o accreditate o comunque a tali fini equiparate per il prelievo di campioni di liquidi biologici ai fini dell'effettuazione degli esami necessari ad accertare la presenza di sostanze stupefacenti o psicotrope. Inoltre le strutture sanitarie... su richiesta degli organi di polizia stradale... effettuano gli accertamenti sui conducenti coinvolti in incidenti stradali e sottoposti a cure mediche... contestualmente possono riguardare anche il tasso alcolemico" (articolo 187 comma 3 e 4).

La collaborazione del nostro laboratorio con le Forze

Corrispondenza a: Adriano Masarin, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, A.O. Niguarda Ca' Granda, Piazza Ospedale Maggiore 3, 20162 Milano. Tel. 0264442769, Fax 0264442073, E-mail [adriano.masarin@ospedaleniguarda.it](mailto:adriano.masarin@ospedaleniguarda.it).

Ricevuto: 17.12.2014

Revisionato: 13.02.2015

Accettato: 23.02.2015

dell'Ordine è iniziata nel 1994 e fino al 15 luglio 2012 prevedeva l'esecuzione degli accertamenti per le sostanze stupefacenti solo su campioni urinari. Dal 16 luglio 2012, la Regione Lombardia con una sua nota ha disposto l'esecuzione degli accertamenti tossicologici riguardanti l'articolo 187 secondo un protocollo che prevede l'utilizzo della matrice ematica (1). In realtà, fin dal giugno 2010 il Corpo di Polizia Locale e la Procura della Repubblica di Milano avevano preso contatto con il laboratorio per poter eseguire tali accertamenti su sangue. In questa ottica, proprio in quel periodo, era stata acquisita dal nostro laboratorio una nuova strumentazione per lo screening delle droghe d'abuso, che consentiva di lavorare anche su matrice ematica (2). Nel corso dei due anni successivi questo metodo è stato validato e ha mostrato un'ottima correlazione con i risultati ottenuti con la tecnica di conferma utilizzata.

Questo lavoro presenta una revisione retrospettiva dei risultati degli accertamenti su sangue di due anni (dal 16 luglio 2012 al 13 luglio 2014). In particolare, lo scopo principale della nostra ricerca era quello di verificare l'applicabilità del nostro protocollo corroborandolo con una casistica molto ampia e utilizzando una matrice più consona ai dettami legislativi.

## MATERIALI E METODI

### Procedimento

Il guidatore, coinvolto in un incidente stradale o sospettato di guidare sotto l'effetto di sostanze, viene accompagnato dalle Forze dell'Ordine presso il più vicino Pronto Soccorso (PS). Qui il personale medico, dopo aver informato l'interessato delle conseguenze derivanti dal rifiuto, è tenuto a chiedere il consenso al prelievo di sangue e alla raccolta di un campione urinario. Nel caso la persona sottoposta ad accertamenti rifiuti il proprio consenso firma l'apposito modulo e l'agente delle Forze dell'Ordine procede secondo quanto previsto dal comma 8 del articolo 187 del Codice della Strada. Se invece l'interessato accetta e fornisce il proprio consenso, il personale infermieristico provvede a prelevare 3 provette di sangue intero. Viene contestualmente compilato il verbale di prelievo e attivata la relativa catena di custodia. Lo stesso infermiere che ha effettuato il prelievo ripone, in presenza dell'interessato, i campioni in 3 sacchetti antimanomissione che a questo punto sono pronti per l'invio al laboratorio.

Una volta che i sacchetti vengono consegnati in laboratorio le provette subiranno destini differenziati: la prima verrà utilizzata per lo screening iniziale con tecnica immunochimica, la seconda servirà per l'eventuale conferma mediante tecnica separativa in cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa (LC-MS) e la terza viene conservata per l'eventuale controanalisi (analisi di revisione).

Tra i liquidi biologici, il campione ematico evidenzia "l'attualità d'uso delle sostanze illecite" ovvero la sussistenza degli effetti prodotti da una sostanza

d'abuso, cioè l'assunzione avvenuta poche ore prima del prelievo e quindi risponde a pieno titolo ai requisiti richiesti dall'articolo 187 (3, 4).

### Metodi

Tutti i campioni utilizzati in questo lavoro sono stati prelevati con disinfettanti privi di alcol. Per ogni guidatore sottoposto ad accertamenti sono state prelevate 3 provette Vacutainer (Beckton Dickinson), contenenti K<sub>2</sub> EDTA e sodio fluoruro, per complessivi 12 mL di sangue. Nei 24 mesi considerati, tutti i campioni sono stati processati in due sessioni: la prima comprendeva un test di screening semi-quantitativo su plasma con metodica immunochimica eseguito su strumentazione semiautomatica Evidence Randox (5, 6) e la seconda richiedeva, in caso di positività, la conferma e quantificazione su sangue intero mediante una tecnica LC-MS, con l'utilizzo di un triplo quadrupolo TSQ della ThermoFisher con sistema di estrazione in linea Turboflow. L'identificazione degli analiti sottoelencati è avvenuta utilizzando gli standard forniti dalla ditta LGC Promochem e la quantificazione è stata eseguita con standard interni deuterati forniti dalla stessa ditta. Gli analiti testati erano: THC ( $\delta$ -9-tetraidrocannabinolo), 11-OH-THC (11-idrossi- $\delta$ -9-tetraidrocannabinolo) e THC-COOH (11-nor-9-carbossi- $\delta$ -9-tetraidrocannabinolo) per i derivati della cannabis; morfina, codeina e 6-MAM (6-monoacetilmorfina) per gli oppiacei; cocaina, benzoilecgonina e cocaetilene per cocaina e metaboliti; amfetamina, metamfetamina, MDMA (3,4-metilendiossimetamfetamina), MDA (3,4-metilendiossiamfetamina), MDEA (3,4-metilendiossietilamfetamina) e MBDB [N-metil-(3,4-metilendiossifenil)-2-butanamina] per gli "amphetamine-type stimulants" (ATS) e loro derivati; metadone, buprenorfina e norbuprenorfina. I cut-off utilizzati rispettavano le indicazioni della nota della Regione Lombardia (1).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Nei due anni valutati sono stati analizzati 1384 campioni, di cui 1245 presentavano contestualmente la richiesta per alcolemia. Mensilmente, sono stati analizzati tra 37 e 80 campioni (media, 58). Gli accertamenti sono stati richiesti per il 60% dalla Polizia Locale di Milano, la restante quota distribuita tra Carabinieri (20%), Polizia Stradale (15%) e Polizie Locali di altri Comuni (5%). La Procura della Repubblica di riferimento è stata quella di Milano, salvo pochi casi seguiti dalle Procure di Monza, Busto Arsizio, Varese e Pavia. Nella maggior parte dei casi si è trattato di guidatori coinvolti in incidenti stradali, ma, in alcuni casi, anche di persone fermate per normali controlli del traffico stradale. Dal punto di vista sanitario è stato coinvolto il personale medico e infermieristico di 22 Pronto Soccorso di altrettanti ospedali e strutture accreditate di Milano e provincia.

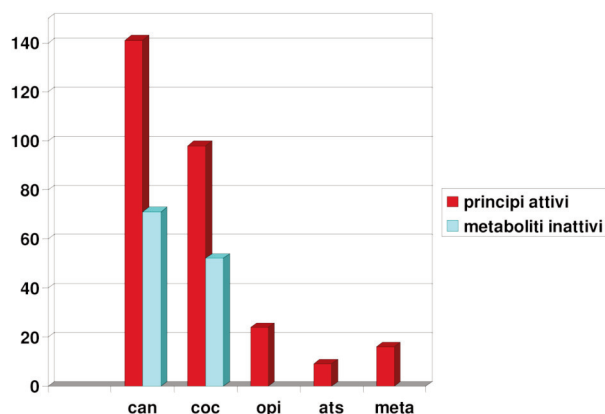
La popolazione era costituita da 1170 maschi (84,5%) e con età media di 36,7 anni. Su 1384 campioni

analizzati col metodo di screening, 450 hanno richiesto la conferma e di questi 426 (30,7%) hanno evidenziato una positività per le sostanze d'abuso o loro metaboliti. Complessivamente, i falsi positivi sono risultati 1,7% (24 campioni).

La distribuzione delle sostanze identificate è riportata nella Figura 1. In particolare, analizzando le positività è possibile affermare che la tecnica cromatografica ha confermato la presenza di principi o metaboliti attivi in 288 campioni (pari al 20,8%), mentre in 138 (9,9%) erano presenti solo quelli inattivi. Nel 78,2% dei campioni positivi era presente una sola sostanza o un suo metabolita, nella restante quota (71 campioni) due o più sostanze e di queste 27 avevano contemporaneamente due principi attivi. Cannabis e cocaina rappresentano le due famiglie più evidenziate: in particolare, THC e 11-OH-THC costituiscono il 49% delle positività (141 campioni), seguite dal 34% di cocaina e cocaetilene (98 campioni). Oppiacei (8,3% con 24 campioni), metadone (5,6% con 16 campioni) e ATS (3,1% con 9 campioni) completano il restante 17% dei soggetti positivi. Tra i campioni con soli metaboliti inattivi, THC-COOH con 51,4% e benzoilecgonina con 31,7% sono ai primi posti; è interessante sottolineare come il restante 10,9% è costituito dalla contemporanea presenza di entrambi questi analiti. Poiché la presenza di principi e/o metaboliti attivi nel sangue nel momento della guida è il requisito legale per perseguire il guidatore secondo l'articolo 187 del Codice della Strada, questi soggetti non sono considerati sotto l'influenza di sostanze stupefacenti e quindi risultano per la legge negativi. In realtà, lo stesso Codice della Strada all'articolo 119 vieta il rilascio della patente a coloro che sono dipendenti o abusano di sostanze stupefacenti, anche se al momento dell'accertamento non è stato possibile dimostrarne l'attualità d'uso. Sarebbe quindi quantomeno auspicabile che i guidatori, nel cui sangue sono stati riscontrati dei metaboliti inattivi, siano sottoposti a ulteriori approfondimenti da parte delle

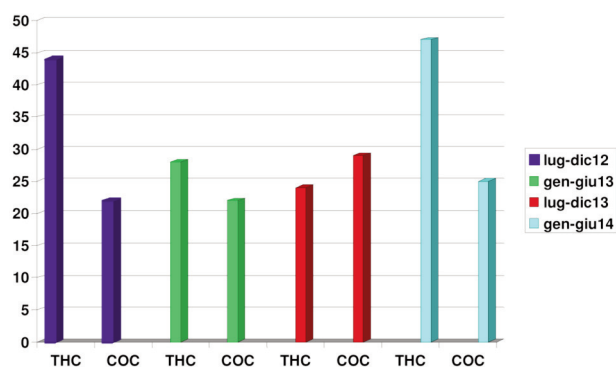
Commissioni Mediche Locali. È interessante notare per quanto riguarda il THC che, tra i 141 individui risultati positivi, sono state riscontrate concentrazioni nell'intervallo tra 2 e 38 µg/L: in particolare, il sangue di 84 soggetti (59,6%) presentava concentrazioni di THC <5 µg/L; se a questi aggiungiamo i 17 soggetti con concentrazioni tra 6 e 8 µg/L arriviamo al 71,6% del totale. A questo proposito bisogna ricordare come numerosi autori hanno sottolineato l'aumentato rischio di incidenti stradali correlato al consumo di cannabis e come concentrazioni basse di THC comportino effetti paragonabili a quelli derivanti dal consumo di alcol con deterioramento di alcune facoltà cognitive e psicomotorie indispensabili per guidare (7-13). Analizzando le positività alla cocaina possiamo evidenziare che più della metà dei campioni (57 su 98) presentavano concentrazioni significative di cocaetilene, indice di un'assunzione concomitante di etanolo. In due soli campioni è stata rilevata la presenza di 6-MAM, mentre nei campioni di 15 guidatori è stata confermata la somministrazione di morfina da parte del personale di primo soccorso intervenuto sul luogo dell'incidente o al momento dell'accesso al PS. Significative le positività alle ATS (n=9), con 7 campioni contenenti MDMA e due campioni con amfetamina e con metamfetamina. Da questi dati si può affermare che è la cocaina la seconda sostanza più utilizzata dai guidatori, mentre sono un numero trascurabile le persone che si mettono alla guida dopo aver assunto eroina.

Dall'analisi dei dati si evince come le positività riscontrate non abbiano un andamento omogeneo nel corso dei mesi: se vengono raggruppate per semestre possiamo vedere come nel primo semestre preso in considerazione (luglio-dicembre 2012) e nell'ultimo (gennaio-giugno 2014) le positività per il principio attivo della cannabis siano state il doppio rispetto alla cocaina (44 vs. 22 e 47 vs. 25), mentre negli altri due semestri (2013) le positività sono risultate simili (Figura 2). Le positività a sostanze parentali o metaboliti attivi hanno



**Figura 1**

Distribuzione delle positività in funzione delle sostanze identificate. can, cannabis; coc, cocaina; opi, oppiacei; ats, stimolanti amfetaminici; meta, farmaci sostitutivi.



**Figura 2**

Distribuzioni semestrali delle positività per  $\delta$ -9-tetraidrocannabinolo (THC) e cocaina (COC).

avuto due picchi nei bimestri settembre-ottobre 2012 (37 su 163 accertamenti) e marzo-aprile 2014 (33 su 138 accertamenti).

Scopo di questo lavoro era un'analisi retrospettiva dei risultati ottenuti negli anni 2012-2014 per quanto riguarda l'applicazione dell'articolo 187 a Milano e provincia utilizzando il protocollo messo a punto dal nostro laboratorio che prevede lo screening direttamente sul plasma. I dati ottenuti non ci possono far trascurare il problema etanolo, visto che il 90% degli accertamenti richiedeva contestualmente il dosaggio dell'alcolemia (14). Proprio questa tipologia di richieste ha fatto emergere delle problematiche tuttora irrisolte dovute, ad esempio, alla tempistica con cui i guidatori vengono condotti in PS o ai ritardi nell'esecuzione dei prelievi in attesa dell'arrivo della richiesta di accertamenti da parte delle Forze dell'Ordine.

Da quanto esposto emerge che, a Milano e nella sua provincia, un guidatore su 5 sottoposto ad accertamenti risulta in stato di alterazione psicofisica al momento dell'incidente stradale.

#### CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

#### RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano le Forze dell'Ordine, il personale del Pronto Soccorso e del Laboratorio per la disponibilità e la collaborazione fornita.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Nota Regione Lombardia DG Sanità del 9 luglio 2012. Protocollo H1.2012.0021314.
2. Grassin Delyle S, Mathieu B, Abe E, et al. Évaluation du dépistage de quatre classes des stupéfiants et des benzodiazépines dans le sang total laqué par l'analyseur Evidence Investigator®. *Annales de Toxicologie Analytique* 2008;20:17-24.
3. Linee Guida del Gruppo Tossicologi Forensi Italiani revisione n. 4. *Italian Journal on Addiction* 2012;2:34-47.
4. Pacifici R, Gori P, Martucci L, et al. Considerazioni sulle matrici biologiche idonee alla valutazione dell'"attualità d'uso di sostanze illecite" ai fini degli articoli 186 e 187 del nuovo Codice della Strada. *Biochim Clin* 2014;38:27-31.
5. Fitzgerald SP, Lamont JV, Mc Connell RI, et al. Development of a high-throughput automated analyzer using Biochip Array Technology. *Clin Chem* 2005;51:1165-76.
6. Marchioro L, Trombin A, Castagna F, et al. Biochips e droghe d'abuso: valutazione del sistema Evidence in confronto con la metodologia KIMS. *Biochim Clin* 2007;31:197-200.
7. Farrell L, Kerrigan S, Logan B. Recommendations for toxicological investigation of drug impaired driving. *J Forensic Sci* 2007;52:1214-8.
8. Grotenhermen F, Leso G, Berghaus G, et al. Developing limits for driving under cannabis. *Addiction* 2007;102:1910-7.
9. Hartman RL, Huestis MA. Cannabis effects on driving skills. *Clin Chem* 2013;59:478-92.
10. Volkow N, Baler R, Compton W, et al. Adverse health effects of marijuana use. *N Engl J Med* 2014;370:2219-27.
11. Ramaekers JG, Berghaus G, van Laar M et al. Dose related risk of motor vehicle crashes after cannabis use. *Drug Alcohol Depend* 2004;73:109-19.
12. Ramaekers JG, Moeller MR, van Ruitenbeek et al. Cognition and motor control as a function  $\Delta^9$ -THC concentration in serum and oral fluid: limits of impairment. *Drug Alcohol Depend* 2006;85:114-22.
13. Jones A, Holmgren A, Kulgelberg F. Driving under the influence of cannabis: a 10-year study of age and gender differences in the concentrations of tetra hydrocannabinol in blood. *Addiction* 2008;103:452-61.
14. Dubois S, Mullen N, Wear B, et al. The combined effects of alcohol and cannabis on driving: Impact on crash risk. *Forensic Sci Int* 2015;248:94-100.