

PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

PROCEDURA
CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SU FLUIDO DEL CAVO ORALE

	Nome/Funzione	Data	Firma
Redazione	Dott. ssa Maria Fascetto Sivillo Direttore LSP e Responsabile Qualità LSP	19/10/23	<i>M. Fascetto Sivillo</i>
	Dott. ssa Rosalba Salerno Biologo ambulatoriale	19/10/23	<i>Rosalba Salerno</i>
	Lisa Meschini T.L. LSP	19/10/23	<i>Lisa Meschini</i>
	Antonia Ardica T.L. LSP	19/10/23	<i>Antonia Ardica</i>
	Gaetano Pastro C.P.S.I. LSP	19/10/23	<i>Gaetano Pastro</i>
Verifica	Dott. ssa Maria Fascetto Sivillo Direttore LSP e Responsabile Qualità LSP	19/10/23	<i>M. Fascetto Sivillo</i>
Verifica formale	Dott. Pierfranco Mirabile Dirigente UOS Qualità e Rischio Clinico	24/10/23	<i>Pierfranco Mirabile</i>
Approvazione	Dott. Emanuele Cassarà Direttore Sanitario Aziendale	26/10/23	<i>Emanuele Cassarà</i>
Adozione	Dott. Francesco Iudica Commissario Straordinario ASP Enna	26.10.23	<i>Francesco Iudica</i>

PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Sommario

1.	Premessa	3
2.	Scopo	3
3.	Campo di applicazione	4
4.	Scheda di registrazione delle modifiche	4
5.	Definizioni ed acronimi.....	4
6.	Responsabilità	7
7.	Descrizione delle attività	8
7.1.	ATTIVITÀ PRE-ANALITICHE	8
7.1.1.	Operazioni di screening e prelievo campioni per analisi di conferma	8
7.1.2.	Modalità di trasporto e consegna (catena di custodia)	9
7.2.	ATTIVITÀ ANALITICHE.....	10
7.2.1.	Controanalisi	16
7.2.2.	Smaltimento campioni.....	16
8.	Documenti di riferimento.....	17
9.	Allegati.....	18
10.	Lista di distribuzione.....	18



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

1. Premessa

La presente procedura contiene una sintetica descrizione delle modalità operative adottate per il controllo delle sostanze stupefacenti e/o psicotrope su fluido del cavo orale (saliva) prelevato dal personale della Polizia di Stato durante i servizi di contrasto al fenomeno della guida in stato di alterazione a seguito dell'assunzione di sostanze stupefacenti e/o psicotrope ex art. 187 del Codice della Strada, basate sull'applicazione di un Sistema di Gestione per la Qualità (S.G.Q.) attivato presso il Laboratorio di Sanità Pubblica dell'ASP di Enna ai sensi della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 "Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura" e che soddisfa anche i principi della norma ISO 9001:2015.

Il fluido orale è una matrice alternativa per il monitoraggio delle droghe di abuso. Durante gli ultimi anni sono stati raggiunti progressi scientifici e tecnologici riguardanti i dispositivi di raccolta della saliva e nei metodi di screening e conferma. La saliva offre molteplici vantaggi come matrice alternativa per il monitoraggio delle droghe (il fluido del cavo orale ha infatti dimostrato di avere una buona correlazione con il sangue in termini di comparsa/scomparsa, e quindi attività biologica, delle droghe).

I principali vantaggi del fluido orale sono la semplicità e la non invasività della raccolta dei campioni, che può essere facilmente eseguita ovviando alla necessità di speciali servizi igienici o di raccolta del campione da parte di personale dello stesso sesso. Inoltre si rende più difficile l'adulterazione. Il rischio di infezione è sicuramente inferiore rispetto al sangue ed inoltre il fluido orale può riflettere meglio l'uso recente di droghe. La droga principale non metabolizzata è spesso prominente nella saliva e può riflettere concentrazioni plasmatiche libere, fornendo una migliore correlazione con effetti farmacodinamici.

La presente procedura detta le modalità operative per la determinazione di Morfina, Codeina, 6-Monoacetilmorfina, 3,4-MDA, 3,4-MDE, 3,4-MDMA, MBDB, Amfetamina, Metamfetamina, Ketamina, Benzoilecgonina, Cocaina, Cocoetilene, Metadone, EDDP, Buprenorfina, THC mediante determinazione in Cromatografia Liquida accoppiata alla Spettrometria di Massa (LC-MS).

2. Scopo

Lo scopo della presente procedura è quello di fornire supporto al personale del Laboratorio di Sanità Pubblica dell'ASP di Enna e al personale della Polizia di Stato che opera nell'ambito del contrasto al fenomeno della guida in stato di alterazione a seguito dell'assunzione di sostanze stupefacenti e/o psicotrope ex art. 187 del Codice della Strada", garantendo l'esecuzione di attività analitiche di secondo livello, nella fattispecie, mediante prove di conferma della presenza di sostanze stupefacenti e/o psicotrope su campioni di fluido del cavo orale, analizzati con metodica LC/MS.



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

3. Campo di applicazione

La presente procedura si applica al controllo, mediante metodiche di conferma in LC/MS, effettuato dal personale del Laboratorio di Sanità Pubblica dell'ASP di Enna, delle sostanze stupefacenti e/o psicotrope su fluido del cavo orale (saliva) prelevato dal personale sanitario che ha partecipato al dispositivo di controllo della Polizia di Stato.

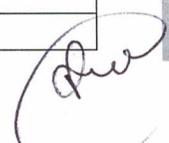
4. Scheda di registrazione delle modifiche

DATA	REVISIONE (REV.)	DESCRIZIONE
10/10/2023	0.3	Tempi di conservazione dei campioni, informativa e modulo consenso al trattamento dei dati
15/09/2023	0.2	Revisione modulistica
2019	0.1	Prima emissione

5. Definizioni ed acronimi

Acronimi

3,4-MDA	3,4 metilendiossiamfetamina
3,4-MDE	3,4 metilendiossietilamfetamina
3,4-MDMA	3,4-metilendiossi-metamfetamina
6-MAM	6-Monoacetilmorfina
AC	Azione Correttiva
AMP	Amfetamine
ASP	Azienda Sanitaria Provinciale
BEG	Benzoilecgonina
COC	Cocaina
Delta-9-THC	Delta-9-Tetraidrocannabinolo
Ed	Edizione
EDDP	2-etiliden-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina
EN	Normazione europea
ISO	Organizzazione Internazionale per la Standardizzazione
LC/MS	Cromatografia Liquida con Spettrometria di Massa
LOQ	Limite inferiore di Quantificazione (Limit of Quantification)
LSP	Laboratorio di Sanità Pubblica
M.C.A.U.	Medicina e Chirurgia d'Accettazione e Urgenza
MBDB	N-metil 1-(1,3 benzodiossol-s-il) 2 butanina
MET	Metamfetamina
MQ	Manuale della Qualità
MTD	Metadone
NC	Non Conformità
NC	Non conformità
OPI	Oppiacei



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

PO	Presidio Ospedaliero
RdP	Rapporto di prova
Rev	Revisione
SDA	Sostanze D'Abuso
SGQ	Sistema di Gestione per la Qualità
THC	Tetraidrocannabinolo
THC-COOH	acido 11-nor-delta-9-THC-9-carbossilico
UNI	Ente Italiano di Normazione

Definizioni

Accreditamento: processo volontario, volto al miglioramento continuo della qualità, mediante il quale un'istituzione o un programma si sottopongono alla valutazione di un organismo indipendente al fine di verificare e documentare se soddisfano requisiti predeterminati.

Analisi: ai fini della presente procedura è riferito alle analisi di sostanze d'abuso in campione biologico di fluido del cavo orale

Analisi qualitativa: Analisi che fornisce soltanto un risultato in termini di presenza/assenza di un analita in riferimento ad un valore di cut - off prestabilito.

Analisi quantitativa: Analisi in grado di misurare la concentrazione di uno o più analiti con un livello predefinito di precisione e accuratezza

Assicurazione della qualità: rispetto delle Procedure Operative Standard attraverso l'applicazione rigorosa delle istruzioni operative e il monitoraggio continuo delle varie fasi gestionali.

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

Bianco: campione biologico in precedenza sottoposto ad analisi per una o più sostanze e risultato negativo.

Bias (inaccuratezza): misura dell'inaccuratezza di un metodo analitico quantitativo ad una determinata quantità o concentrazione di analita.

Calibratore: campione contenente una quantità definita di analita, nota al Laboratorio che lo esamina, allestito in matrice biologica uguale, o comunque simile a quella dei campioni da analizzare, e utilizzato per l'allestimento della curva di calibrazione.

Carry - over (effetto di "trascinamento"): caratteristica di un metodo analitico, misurabile attraverso l'Analisi di un bianco successivamente all'analisi di un campione contenente una quantità/concentrazione elevata

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



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Coefficiente di Variazione (CV) o deviazione standard relativa: è dato dal rapporto percentuale della deviazione standard di una serie di misurazioni eseguite su aliquote diverse di uno stesso campione sul valore medio di tali misurazioni.

Controcampione (campione di revisione): campione avente caratteristiche del tutto sovrapponibili e prelevato contestualmente al campione sul quale sarà eseguita un'analisi.

Controllo cieco: campione contenente una predeterminata concentrazione di analita, ignota al Laboratorio a cui tale campione è inviato, utilizzato per valutare se, e in che misura, il risultato analitico prodotto dal Laboratorio soddisfa caratteristiche di qualità prestabilite.

Controllo noto (controllo negativo, controllo positivo): campione contenente una quantità definita di analita, nota al Laboratorio che lo esamina, e allestito in matrice biologica uguale o, se questa non è disponibile, simile a quella dei campioni reali.

Controllo di qualità interno: monitoraggio dell'affidabilità analitica di un Laboratorio

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

Effetto matrice: capacità di un substrato biologico e o delle condizioni analitiche adottate di interferire nella rilevazione/identificazione/quantificazione di un composto da parte di un metodo analitico.

Incertezza di misura: misura della somma dell'effetto di tutte le possibili sorgenti di variabilità legate all'applicazione di un metodo analitico.

Limite inferiore di quantificazione LOQ: E' la concentrazione o quantità più piccola di analita che il metodo analitico è in grado di misurare con sufficiente accuratezza e precisione.

Limite inferiore di rivelabilità LOD: Corrisponde generalmente alla concentrazione o quantità di analita che produce un segnale analitico pari ad almeno 3 volte il corrispondente segnale prodotto da un controllo negativo (bianco).

Processo analitico: insieme di attività correlate o interagenti costituito da elementi in entrata (richiesta analisi - input) ed elementi in uscita (emissione rapporto di prova - output)

Proficiency Testing (PT): percorso di miglioramento della qualità di un Laboratorio svolto mediante l'esame periodico di controlli ciechi acquistati da un organismo indipendente

Rapporto di Prova: prodotto del processo analitico svolto all'interno del Laboratorio, contenente i parametri determinati su una determinata matrice, i relativi risultati e tutte le informazioni utili per l'interpretazione del dato analitico.

Robustezza: caratteristica di un metodo analitico riferita alla capacità di produrre risultati validi sotto il profilo qualitativo e/o quantitativo anche in presenza di modificazioni delle caratteristiche del campione e/o della Procedura Operativa.



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Sistema di gestione per la qualità: insieme di elementi tra loro correlati o interagenti, per stabilire politica ed obiettivi e per conseguire tali obiettivi, nonché per guidare e tenere sotto controllo un'organizzazione, con riferimento alla qualità.

Specificità analitica (o Selettività): capacità di un metodo analitico di differenziare e, nel caso di un metodo quantitativo, quantificare correttamente un determinato analita nella matrice biologica in presenza di altre sostanze, quali metaboliti, prodotti di degradazione, componenti endogeni della matrice, impurezze, altri xenobiotici.

Taratura: definizione delle caratteristiche metrologiche di uno strumento di misura tramite confronto con un campione o materiale 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) o Controllo di Qualità Esterno: 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 obbligatoria e determinare provvedimenti di natura limitativa e/o sanzionatoria nei confronti dei Laboratori che non rispettano gli standard minimi previsti dalla VEQ.

Committente: Organo di Polizia che opera ai sensi dell'art. 187 C.d.S. e commissiona l'accertamento urgente sulla persona sottoposta a controllo.

6. Responsabilità

Legenda R: responsabile, C: coinvolto.

RESPONSABILITÀ ATTIVITA'	Personale sanitario Dispositivo di controllo	Richiedente	LSP	Soggetto controllato
Campionamento in doppia aliquota	R			C
Catena di custodia fino alla consegna al LSP	R		I	
Accettazione campioni	C	C	R	
Catena di custodia fino a eliminazione campioni	I	I	R	
Processazione campioni			R	
Elaborazione dati analitici			R	
Emissione rapporto di prova	C	C	R	C



7. Descrizione delle attività

7.1. ATTIVITÀ PRE-ANALITICHE

Le analisi a scopo medico-legale devono essere eseguite in modo da assicurare certezza, affidabilità, trasparenza e uniformità alla "prova giudiziaria". Per ottenere tale risultato è necessario garantire che venga data evidenza oggettiva della tenuta sotto controllo di tutte le fasi operative dal prelievo all'emissione del rapporto di prova.

7.1.1. Operazioni di screening e prelievo campioni per analisi di conferma

Gli accertamenti sanitari, ai sensi dell'art. 187 del Codice della Strada, consistono in una visita medica volta ad accertare la presenza di un eventuale stato di alterazione psico-fisica e nella raccolta, con procedura non invasiva, di un campione di fluido del cavo orale da sottoporre ad esame preliminare di *screening* per la ricerca di sostanze stupefacenti-psicotrope mediante apposito dispositivo portatile. In caso di risultato positivo di tale esame preliminare, o anche in caso di negatività se richiesto dalla Polizia qualora abbia fondato motivo di ritenere che il conducente si trovi in stato di alterazione psico-fisica dopo l'assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope, il personale sanitario procede al prelievo di due aliquote di saliva come indicato al successivo punto 2.

Per garantire l'autenticità e l'appartenenza certa del campione al soggetto a cui è stato prelevato, il personale sanitario adotta la modalità di prelievo effettuato sotto osservazione e documentato attraverso la redazione di un "*verbale di raccolta*"

In particolare, il personale sanitario deve prelevare contestualmente n. 2 (due) campioni di fluido del cavo orale (ALIQUOTA A come *campione di prova* e ALIQUOTA B come *controcampione*) mediante apposito dispositivo in uso alla Polizia di Stato, posti in due provette identiche appositamente confezionate.

Entrambe le provette devono essere singolarmente sigillate con apposita etichetta adesiva antimanomissione, recante: data e ora della raccolta, firma della persona sottoposta all'accertamento, firma del prelevatore e un codice identificativo univoco. Il medesimo codice deve essere riportato sul "*modulo di catena di custodia*" che accompagna i campioni e nel riquadro del "*Verbale di raccolta*". Entrambe le aliquote sigillate e controfirmate vanno inserite in una busta antimanomissione, opportunamente sigillata e recante un codice identificativo univoco che, qualora diverso da quello sopra indicato, verrà annotato in fase di accettazione.

Le provette in busta di sicurezza sigillata possono essere conservate a cura del personale sanitario che fa parte del dispositivo di controllo senza refrigerazione fino a sette giorni, tuttavia al fine di evitare esposizioni



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

alla luce e al calore è consigliabile stoccare i campioni raccolti in frigo alla temperatura compresa tra 2°C e 8°C. Per periodi superiori ai sette giorni i campioni devono essere stoccati a -20 °C.

7.1.2. Modalità di trasporto e consegna (catena di custodia)

Le provette sigillate e controfirmate ed inserite in una busta di sicurezza antimanomissione opportunamente sigillata, recante un codice identificativo univoco, sono conservate a cura del personale sanitario che fa parte del dispositivo di controllo fino alla consegna al Laboratorio di Sanità Pubblica dell'ASP di Enna, sito in via Messina 106.

Ogni passaggio di consegna del campione deve essere opportunamente registrato.

Il personale che assolve alle funzioni di trasporto viene di seguito individuato come "trasportatore".

I campioni per il trasporto vengono collocati in un contenitore refrigerato sigillato recante la sottoscrizione del personale sanitario che ha partecipato al dispositivo di controllo.

La consegna dei campioni al LSP, corredati della copia della documentazione prodotta in fase di prelievo e il documento di trasporto, può avvenire nei *giorni feriali, in orari d'ufficio (da lunedì a venerdì dalle ore 8:00 alle ore 14:00)*.

Il Laboratorio non è responsabile delle fasi del campionamento, bensì del campione così come pervenuto in Laboratorio, dall'accettazione fino all'emissione del Rapporto di prova.

L'accettazione deve essere effettuata da parte del personale del Laboratorio che, verificate l'integrità del campione, la presenza del codice identificativo, del sigillo antimanomissione, le modalità di trasporto e la temperatura, redige l'apposito **verbale di accettazione**.

La temperatura dei campioni, in accettazione, viene controllata con un termometro digitale che viene inserito all'interno del contenitore di trasporto o di un campione civetta posto all'interno dello stesso contenitore dei campioni. Il termometro utilizzato è il termometro digitale Hanna Instrument HI9040, soggetto a taratura annuale, usando come campione di riferimento la sonda SPY RF U1, matricola n. B07019.

In caso di riscontrata NC in fase di accettazione, il responsabile del controllo provvede alla compilazione del **Verbale di Non Conformità** ed alla registrazione nell'apposito **Registro verbali di non conformità**; il campione riconosciuto come "campione non conforme", viene processato tenendo conto della non conformità, che dovrà essere riportata sul rapporto di prova.

Completata l'accettazione viene attribuito al campione un codice identificativo interno (n.QUANTISAL/20--) che lo accompagnerà per tutto l'iter processuale, consentendo anche una processazione in condizione di anonimato e la riservatezza dei dati.



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Il codice identificativo è un codice alfa numerico progressivo e unico, che resterà tale per tutta la permanenza del campione nel Laboratorio e a cui si fa riferimento in tutte le registrazioni, dal foglio di lavoro al rapporto di prova, per garantire la tracciabilità del campione e l'impossibilità di scambio di oggetto da provare.

In Laboratorio i campioni vanno conservati in appositi frigoriferi forensi e/o congelatori forensi dotati di sonda di rilevazione temperatura, collegata al Data Logger Spy Marconi, soggetta a taratura annuale, mediante il campione di riferimento "sonda SPY RF U1", matricola n. B07019.

Ogni operatore è responsabile della conservazione del campione (catena di custodia) durante lo svolgimento della prova, in modo da mantenere le caratteristiche iniziali, e mette in atto ogni precauzione affinché esso non subisca danni, che possano invalidare i risultati.

7.2. ATTIVITÀ ANALITICHE

L'operatore incaricato ad eseguire la prova inizia l'attività analitica con l'apertura del campione e la redazione di un **Verbale di apertura campione**, che viene datato, firmato (dall'esecutore della prova e, se presente, dal rappresentante legale e/o consulente tecnico) e archiviato insieme con la eventuale nomina del consulente, il consenso informato, il documento informativo, il verbale di prelevamento, il verbale di accettazione (l'eventuale verbale di non conformità), il foglio di lavoro e una copia del rapporto di prova.

Per le determinazioni analitiche viene utilizzato il metodo analitico allegato alla presente, messo a punto e validato dalla ditta **EUREKA LAB DIVISION S.r.l.** sita a Chiaravalle (Ancona).

Acquisito il KIT messo a disposizione dalla ditta **EUREKA LAB DIVISION S.r.l.**, presso questo laboratorio sono state verificate le "performances" del metodo del suddetto metodo mediante l'apparecchiatura in dotazione costituita da un **LC/MS/MS**, modello TSQ Fortis, della ditta **Thermo Scientific**.

Il Kit in dotazione fornito dalla Ditta EUREKA LAB DIVISION S.r.l. è costituito da:

- *Starter Kit* necessario per identificare le transizioni e le energie di collisione delle molecole sul detector di massa collegato al sistema cromatografico, per: Morfina, Codeina, Ketamina, 6-Mam, 3,4-MDA, 3,4-MDE, 3,4-MDMA, Amfetamina, Metamfetamina, MBDB, Benzoilecgonina, Cocaina, Metadone, Buprenorfina, EDDP, Cocaetilene, Delta-9-THC, Cocaina-D3, Metadone-D9, Morfina-D6, 6-Mam-D6, Buprenorfina-D4, Delta-9-THC-D3, Cocaetilene-D3, Benzoilecgonina-D8, Amfetamina-D11, Metamfetamina-D11, MDMA-D5, MDA-D5, MDE-D5, EDDP-D3, Codeina-D6
- *Calibratori liofili in matrice*, per 6-MAM, Cocaine, Benzoylcgonine, delta-9-THC, Buprenorphine, Morphine, Codeine, Amphetamine, Methamphetamine, 3,4-MDA, 3,4-MDE, 3,4-MDMA, Ketamina, MBDB, Methadone, EDDP, utilizzati per la costruzione della curva di taratura dello strumento a 6 punti, escluso il bianco.



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Analita	Calibratore C0	Calibratore C1	Calibratore C2	Calibratore C3	Calibratore C4	Calibratore C5	Calibratore C6
6-MAM, Cocaina, Beg, Buprenorfina, delta-9-THC	0 ng/ml	0.5 ng/ml	5 ng/ml	15 ng/ml	25 ng/ml	40 ng/ml	50 ng/ml
Morfina, Codeina, Amfetamina, Metamfetamina, MDA, MDE, MDMA, Metadone, MBDB, Cocaetilene, Ketamina, EDDP	0 ng/ml	5 ng/ml	50 ng/ml	100 ng/ml	150 ng/ml	200 ng/ml	250 ng/ml

- *Controlli liofili in matrice*, per 6-MAM, Cocaine, Benzoylecgonine, delta-9-THC, Buprenorphine, Morphine, Codeine, Amphetamine, Methamphetamine, 3,4-MDA, 3,4-MDE, 3,4-MDMA, Ketamina, MBDB, Methadone, EDDP, Cocaethylene, utilizzati per i controlli interni

Analita	Controllo L1	Controllo L2
6-MAM, Cocaina, Beg, Buprenorfina, delta-9-THC	10 ng/ml	30 ng/ml
Morfina, Codeina, Amfetamina, Metamfetamina, MDA, MDE, MDMA, Metadone, MBDB, Cocaetilene, Ketamina, EDDP	75 ng/ml	180 ng/ml

- *Test/ ISTD Deuterated* per 6-MAM, Cocaine, Benzoylecgonine, delta-9-THC, Buprenorphine, Morphine, Codeine, Amphetamine, Methamphetamine, 3,4-MDA, 3,4-MDE, 3,4-MDMA, Ketamina, MBDB, Methadone, EDDP, Cocaethylene utilizzati come standard interni

Lo strumento in dotazione (LC/MS/MS, modello TSQ Fortis, della ditta Thermo Scientific) possiede le seguenti caratteristiche tecniche:

- La strumentazione è controllata da un'unica piattaforma software in grado di gestire dall'inizio l'intera strumentazione
- Analizzatore a Triplo Quadrupolo, con barre iperboliche sul primo e terzo quadrupolo
- Lo strumento è in grado di lavorare ad elevata risoluzione sul primo e terzo quadrupolo, isolando l'ione con risoluzione fino a 0,5 Dalton (FWHM) e presenta una cella di collisione a barre quadrate con geometria curvata per minimizzare il noise dovuto alle specie neutre.
- Lo spettrometro di massa opera nel range di massa m/z 10 – 2200, con velocità di scansione non inferiore a 2000 Da/s e con una stabilità di massa non inferiore a 0.05 Da nell'arco delle 24h.
- Lo spettrometro lavora nelle seguenti modalità di scansione:



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Full Scan

SIM (Single Ion monitoring)

H-SIM (Single Ion Monitoring con possibilità di isolamento dello ione con risoluzione fino a 0.4 Da (FWHM))

Full MS/MS

SRM (Selected Reaction Monitoring)

H-SRM (Selected Reaction Monitoring con possibilità di isolamento dello ione sul primo e/o terzo quadrupolo con risoluzione fino a 0.4 Da (FWHM)).

Product Ion Scanning

Parent Ion Scanning

Neutral Loss

- Lo strumento consente di acquisire in un unico segmento un numero di transizioni SRM non inferiore a 300, con uno switch veloce fra le transizioni non superiore a 5msec e possiede una modalità di scansione intelligente (QED) che consente di acquisire automaticamente lo spettro Full MS/MS completo di una sostanza qualora questa venga rivelata nelle scansioni SRM, ai fini di ottenere dati spettrali di conferma aggiuntivi, eseguendo quindi analisi qualitativa e quantitativa contemporaneamente.
- Lo strumento possiede una funzione (RER) che consente di variare linearmente l'energia collisione della cella Q2 in funzione delle masse mentre esegue la scansione in Full MS/MS, in modo da acquisire uno spettro completo full-MS/MS in un'unica scansione, senza mediare più spettri a energie di collisione diverse.
- Il sistema garantisce la rivelazione di ioni positivi e negativi, anche in modalità polarity switching continua, con tempo di switching inferiore a 100 msec.
- Dinodo di conversione continuo fuori asse ed elettromoltiplicatore per il Sistema di rivelazione
- Le sorgenti ESI e APCI consentono uno spray fuori asse di 60° rispetto all'orifizio di entrata per maggiore robustezza.
- La sorgente ESI consente l'infusione post-colonna di calibranti per la calibrazione delle masse esatte, contemporaneamente al flusso dell'HPLC.
- La sorgente ESI consente di lavorare a flussi massimi di 1 mL/min e 2 mL/min rispettivamente, senza splittaggio.
- L'interfaccia API possiede un programma di tuning automatico che ottimizza tutti i potenziali per la focalizzazione degli ioni e tutti i gas della sorgente.



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

- Lo spettrometro di massa è dotato di un sistema che consente di pulire la sorgente senza ventilare lo strumento.
- L'interfaccia API consente di installare la sorgente combinata APPI/APCI in grado di operare solo in APCI, solo in APPI o simultaneamente in APCI e APPI.
- Lo strumento possiede una valvola divert integrata controllata dal sistema di gestione software e una pompa a siringa integrata controllata dal sistema di gestione software per permettere le infusioni di campioni in sorgente.

Prima di verificare le performance del metodo il personale addetto alle determinazioni analitiche ha effettuato un corso specifico per l'utilizzo del Kit e un corso specifico per l'utilizzo del LC/MS.

I risultati analitici verranno presentati mediante un **Rapporto di prova** che viene redatto dall'operatore sulla base dei dati registrati sui fogli di lavoro durante l'effettuazione delle prove.

Nel rapporto di prova i risultati di ogni prova vengono registrati in modo accurato, chiaro, non ambiguo ed oggettivo e possono essere emessi in forma cartacea o mediante supporto elettronico.

Il rapporto di prova contiene:

- Un titolo (rapporto di prova)
- Nome e indirizzo del laboratorio
- Numero identificativo del rapporto di prova
- Committente/utente
- Richiedente/cliente
- Tipo di campione
- Numero campioni/aliquote
- Controllo richiesto
- Registro analisi n.
- Data di accettazione
- Campionamento eseguito da
- Data prelievo
- Sigla identificativa del soggetto controllato
- Data inizio analisi
- Data fine analisi
- Parametri
- Unità di Misura
- Metodo analitico
- Valori ottenuti
- Limite di Quantificazione LOQ del Laboratorio
- Note
- Data di emissione
- Firme non autografe di: esecutore prova, responsabile procedimento, responsabile emissione del rapporto di prova



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Le modifiche dei Rapporti di prova, successivamente all'emissione, devono essere effettuate mediante un "Supplemento al Rapporto di prova n. / del", che riporta la dicitura "Annulla e sostituisce il Rapporto di prova n./del".

Il Rapporto di prova riporta sempre una dichiarazione che lo stesso si riferisce esclusivamente al campione sottoposto a prova così come pervenuto in Laboratorio e che lo stesso non può essere riprodotto parzialmente, salvo l'approvazione scritta del Responsabile del Laboratorio.

Nel caso di *verificate anomalie strumentali* prima dell'esecuzione delle analisi, ne viene data immediata comunicazione al committente al fine di definire congiuntamente le sopravvenute modalità di gestione del campione; qualora l'anomalia viene riscontrata dopo l'emissione del rapporto di prova, si comunica, mediante un supplemento al Rapporto di prova n. / del", che riporta la dicitura " Annulla e sostituisce il Rapporto di prova n./del", indicandone in calce le motivazioni.

L'accesso al laboratorio di rappresentanti legali e/o consulenti tecnici, per presenziare alle attività analitiche, è permesso ai fini della garanzia del diritto alla difesa in fase di controanalisi.

L'accesso è consentito previa presentazione di documentazione attestante il diritto di accesso.

Dopo il recepimento della documentazione, l'accesso prevede le seguenti fasi:

- **registrazione** su apposito "**Registro di Accesso**" contenente: dati anagrafici rappresentanti legali e/o consulenti tecnici, data, ora e firma;
- acquisizione del "**consenso informato**" per il trattamento dei dati personali ai sensi dell'Articolo 13 del D.Lgs.196/03.
- consegna di un "**documento informativo**" (che verrà riconsegnato controfirmato per presa visione) sulle modalità di assistenza alle analisi (permanenza in spazi appositamente individuati, divieto di interferenze con l'operatore mediante manipolazione matrici e/o attrezzature, utilizzo di specifico equipaggiamento ed eventuali dispositivi di protezione individuale), sui potenziali rischi chimici e biologici attinenti il laboratorio e l'attività inerente la prova, sulle misure di prevenzione e protezione da attuare in ogni specifica situazione.

Tutti i suddetti documenti andranno conservati, con eventuale altra documentazione inerente la prova, per un periodo di almeno 10 anni. La "correttezza del dato analitico" è subordinata a numerosi fattori, tra cui:

- fattori umani
- condizioni ambientali e postazione di lavoro
- metodi di prova e metodi di validazione
- apparecchiature
- riferibilità delle misure
- campionamento
- manipolazione campioni



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

Attribuita la qualifica al personale e verificata la funzionalità della strumentazione in dotazione, tutto il personale, ciascuno per le proprie competenze e in funzione degli incarichi affidati, dovrà:

- attuare un piano di monitoraggio per verificare la correttezza e l'affidabilità delle prove
- impostare una metodologia per l'elaborazione dei risultati ottenuti (linee di tendenza) utile per il riesame del controllo di qualità
- assicurarsi che il programma di assicurazione della qualità sia conforme allo scopo prefissato ed efficace nel tempo
- gestire le apparecchiature al fine di garantire che le misurazioni siano conformi ai requisiti per l'utilizzazione prevista
- definire programmi, responsabilità e attività per la manutenzione e la taratura degli strumenti che hanno un significativo effetto sull'accuratezza e significatività dei dati delle prove.

In particolare, dovranno essere effettuati i seguenti controlli di qualità interni:

- Prove con campione a titolo noto
- Controllo del bianco
- Carte di controllo

Per i controlli di qualità esterni verrà pianificata la partecipazione a Proficiency test con Enti accreditati ISO 17043.

Le carte di controllo utilizzate sono quelle tradizionali per variabili (Carte di Shewhart).

Per tutte le attività, a fronte di risultati non soddisfacenti, verranno pianificate opportune azioni correttive per ricondurre i risultati alle prestazioni attese o prevenire risultati non soddisfacenti.

Ogni processo verrà gestito in modo da individuare e gestire i rischi e le opportunità.

La documentazione risultante dai controlli di qualità dovrà essere inserita nei documenti di registrazione riguardanti le singole prove e nei documenti di registrazione riguardanti la qualifica del personale.

La validazione dei metodi di prova, la stima dell'incertezza di misura, la qualifica e il mantenimento di qualifica del personale, la gestione delle apparecchiature, il controllo di qualità interno e quant'altro necessario per l'assicurazione della qualità dei risultati, devono essere effettuati secondo i documenti prescrittivi previsti per il SGQ già attivato in Laboratorio e verificato dall'Ente di Accreditamento Accredia.

Il Personale del Laboratorio, completate le analisi, trasmette il **Rapporto di Prova** al Committente, mediante protocollo informatico DOCUMIT e mediante PEC.

L'emissione del rapporto di prova può essere effettuata entro 10 (dieci) giorni, dal prelievo dei campioni medesimi, a meno di problematiche documentabili, e solo se il committente consegnerà i campioni al LSP entro tre giorni dalla data del prelievo.



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

7.2.1. Controanalisi

Consiste nella ripetizione dell'indagine analitica con metodica di conferma sul controcampione (Aliquota B, adeguatamente conservato in laboratorio) del medesimo campione salivare oggetto di precedenti accertamenti ed è eseguita solo **su richiesta del soggetto controllato, che ne assume l'onere economico.**

Il controcampione destinato ad eventuale analisi di revisione, nelle modalità dettate dall'Autorità Giudiziaria e a spese dell'interessato, è conservato, sigillato e controfirmato, per un periodo non inferiore a 90 giorni dalla data di accettazione fatte salve diverse disposizioni da parte dell'Autorità Giudiziaria medesima.

La controanalisi è eseguita dal Laboratorio di Sanità Pubblica alla presenza del soggetto controllato e/o di suo legale rappresentante e/o consulente tecnico, entro 30 giorni dal recepimento della richiesta del soggetto controllato.

La data delle analisi deve essere comunicata al medesimo soggetto controllato e al committente che ha disposto il prelievo con un anticipo di almeno dieci giorni, da parte del laboratorio.

I risultati definitivi delle controanalisi verranno comunicati, mediante protocollo informatico "Documit" e via PEC, al Committente nel più breve tempo possibile al soggetto controllato e/o ai suoi legali rappresentanti e al committente che ha disposto il prelievo.

7.2.2. Smaltimento campioni

I campioni non negativi (controcampioni) vengono conservati per un periodo non inferiore a 90 giorni dalla data di accettazione. I campioni risultati negativi, così come le aliquote residue, non necessitano di conservazione per cui possono essere sottoposti a smaltimento dopo la refertazione dell'analisi, fatte salve diverse disposizioni da parte dell'Autorità Giudiziaria medesima.

I campioni vengono eliminati come "rifiuti sanitari pericolosi", a rischio infettivo, con codice CER 180103*; la vetreria sporca viene sanificata ed avviata alla sterilizzazione. Le soluzioni di lavaggio e di condizionamento delle colonnine e gli eluati contenenti sostanze chimiche vengono eliminati come "rifiuti da laboratorio" con codice CER 180106* (sostanze chimiche pericolose o contenenti sostanze pericolose) e/o con codice CER 180103* (rifiuti che devono essere raccolti e smaltiti applicando precauzioni particolari per eventuali infezioni).



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

8. Documenti di riferimento

RIFERIMENTI NORMATIVI

- Norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 - Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*
- Norma UNI CEI EN ISO/IEC 17000:2005 - Valutazione della conformità- Vocabolario e principi generali*
- Norma UNI CEI EN 45020:2007 - Normazione ed attività connesse - Vocabolario generale*
- Norma UNI CEI 70099:2008 - Vocabolario Internazionale di Metrologia - Concetti fondamentali e generali e termini correlati (VIM).*
- Norma UNI EN ISO 9001:2015 - Sistemi di Gestione della Qualità- Requisiti*
- Norma UNI EN ISO 19011:2003 - Linee guida per gli Audit dei Sistemi di Gestione della Qualità e/o di Gestione ambientale*
- Norma UNI EN ISO 10012:2004. Sistemi di gestione della misurazione - Requisiti per i processi e le apparecchiature di misurazione*
- Norma UNI 4546:1984 - Misure e misurazioni - Termini e definizioni fondamentali.*
- Norma UNI CEI ENV 13005:2000 - Guida all'espressione dell'incertezza di misura*
- Guida EURACHEM/CITAC - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third edition, (2012).*
- Norma ISO 21748:2010 - Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation.*
- EA-4/02 - Expression of the uncertainty of measurement in calibration (<http://www.european-accreditation.org>).*
- Norma ISO/IEC 17043:2010 - Requisiti generali per prove valutative interlaboratorio*
- Norma ADR UN 3373 - Imballaggio ed etichettatura per il trasporto di sostanze biologiche categoria B*
- Accordo Stato, Regioni e Prov. autonome, 18 settembre 2008, Accertamento assenza tossicodipendenza GTFI - Gruppo Tossicologi Forensi Italiani, Linee Guida per i Laboratori di Analisi di Sostanze d'Abuso con Finalità Tossicologico-Forensi e Medico-Legali, marzo 2010; Rev 3.*
- Department of Health and Human Services 2004;Lillsunde P et al. 2008*
- Metodiche analitiche EUREKA – LAB DIVISION*
- Part one: "Methodology and analytical techniques". Pharmaceutical Press ed. 2004*
- Jehuda Y. Forensic Applications of Mass Spectrometry. CRC Press ed. 1995*
- Normativa di riferimento Contratti e Codice Comportamentale*
- Regolamento in materia di procedimenti e sanzioni disciplinari per il personale dell'Azienda Sanitaria Provinciale di Enna*



PROCEDURA CONTROLLO SOSTANZE D'ABUSO
SUL FLUIDO DEL CAVO ORALE
Pro. CTR SDA FCO

9. Allegati

1. Verbale di accettazione saliva
2. foglio di lavoro sostanze d'abuso su fluido del cavo orale
3. Metodo analitico LC98010
4. Schema Rapporto di prova saliva
5. Verbale di Non Conformità sostanze d'abuso su fluido del cavo orale
6. Verbale di apertura campioni sostanze d'abuso su fluido del cavo orale
7. Verbale azioni correttive Azioni Correttive sostanze d'abuso su fluido del cavo orale
8. Registro verbali di Non Conformità
9. Registro Azioni Correttive
10. Registro accessi
11. Documento informativo
- 12A Informativa dati personali
- 12B Consenso dati personali

10. Lista di distribuzione

LSP ASP ENNA
Forze di Polizia

