

ASSOCIAZIONE SCIENTIFICA
Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (GTFI)

LINEE GUIDA PER LA DETERMINAZIONE
DI SOSTANZE STUPEFACENTI E PSICOTROPE
SU MATERIALE NON BIOLOGICO
CON FINALITÀ TOSSICOLOGICO-FORENSI

Revisione n. 01 del 29 maggio 2017

*Queste Linee Guida sono dedicate alla
memoria del collega e caro amico
Fausto Gigli*

ASSOCIAZIONE SCIENTIFICA
Gruppo Tossicologi Forensi Italiani (GTFI)

LINEE GUIDA
PER LA DETERMINAZIONE DI SOSTANZE STUPEFACENTI E PSICOTROPE SU
MATERIALE NON BIOLOGICO CON FINALITÀ TOSSICOLOGICO-FORENSI

Revisione n. 01 del 29 maggio 2017

1. Introduzione

Il presente documento descrive le Linee Guida elaborate dall'Associazione Scientifica Gruppo Tossicologi Forensi Italiano (GTFI) per la determinazione di sostanze stupefacenti e psicotrope (SSP) su materiali non biologici con finalità tossicologico-forensi.

Le Linee Guida sono indirizzate ai laboratori di tossicologia forense che effettuano determinazioni analitiche quali-quantitative di SSP su materiali di natura non biologica sequestrati dalle forze di Polizia (di seguito reperti), su incarico dell'Autorità Giudiziaria (di seguito AG).

Le Linee Guida sono state elaborate da una Commissione formata dai seguenti membri del GTFI, su incarico del Direttivo della medesima società scientifica:

- Prof.ssa Elisabetta Bertol – Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze;
- Prof.ssa Elvira Della Casa – Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate, Università di Napoli Federico II;
- Prof.ssa Donata Favretto – Medicina Legale e Tossicologia, Dipartimento SCTV e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Padova;
- Dr. Giampietro Frison – Laboratorio di Igiene Ambientale e tossicologia Forense, Dipartimento di Prevenzione, Azienda ULSS 3 Serenissima, Venezia-Mestre;
- Dr.ssa Nadia Fucci – Istituto di Sanità Pubblica, Sezione di Medicina Legale, Università Cattolica "S. Cuore" di Roma;
- Prof. Roberto Gagliano Candela – Dipartimento Interdisciplinare di Medicina, Università degli Studi di Bari;
- Dr. Fausto Gigli – Istituto di Medicina Legale e delle Assicurazioni, Università degli Studi di Milano;
- Prof. Mario Giusiani – Dipartimento di Patologia Chirurgica, Molecolare e dell'Area Critica, Università di Pisa;
- Dr.ssa Manuela Licata – Dipartimento di Medicina Diagnostica, Clinica e Sanità Pubblica – UOSC di Medicina Legale, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia;
- Prof. Guido Romano – Laboratorio di Tossicologia Forense, Dipartimento G.F. Ingrassia di Scienze Mediche Chirurgiche e Tecnologie Avanzate, Università degli Studi di Catania;
- Dr. Luca Zamengo – Laboratorio di Igiene Ambientale e tossicologia Forense, Dipartimento di Prevenzione, Azienda ULSS 3 Serenissima, Venezia-Mestre.

Le Linee Guida si articolano nelle seguenti sezioni:

1. Introduzione
2. Scopo ed ambito applicativo
3. Requisiti del laboratorio
4. Procedure del laboratorio
5. Principi e caratteristiche generali della determinazione di SSP in reperti non biologici
6. Acquisizione e gestione pre-analitica di reperti in giudiziale sequestro
7. Analisi morfologica, presuntiva, qualitativa, quantitativa, comparativa di reperti
8. Qualità dei risultati
9. Refertazione
10. Breve glossario metrologico
11. Bibliografia

2. Scopo ed ambito applicativo

Gli accertamenti analitici per la determinazione di SSP in reperti non biologici, assumendo carattere di prova giudiziaria, devono possedere requisiti di elevata affidabilità (dimostrabili attraverso la documentazione e la tracciabilità di ogni fase analitica) nonché di trasparenza e possibilmente di uniformità nazionale.

L'elevato livello di tali accertamenti analitici deve essere assicurato non solo dall'utilizzo di tecniche analitiche appropriate, e di procedure e metodi analitici consolidati e condivisi dalla comunità scientifica nazionale ed internazionale in ambito tossicologico-forense, ma anche dall'assicurazione che gli stessi risultati provengano da strutture culturalmente preparate, dotate di organizzazione efficiente, caratterizzate da elevata affidabilità nel tempo, e costantemente aggiornate.

2.1 Scopo

Lo scopo delle presenti Linee Guida è riassumibile nei seguenti punti:

- Diffondere e promuovere la cultura analitico-tossicologica con finalità forensi, frutto dell'esperienza maturata negli anni dal GTFI nello sviluppo e nell'esecuzione degli accertamenti analitici sia su materiale non biologico che biologico;
- Favorire l'acquisizione, da parte dei laboratori di tossicologia forense che effettuano determinazioni analitiche di SSP su materiali di natura non biologica, delle conoscenze e dei requisiti per un'organizzazione efficiente, efficace ed affidabile;
- Mettere a disposizione dei suddetti laboratori uno strumento di riferimento per un corretto approccio analitico che garantisca uno standard di qualità, improntato all'armonizzazione e alla confrontabilità dei risultati, fornendo indicazioni e raccomandazioni sulla gestione dei processi analitici, ed un riferimento per la corretta refertazione degli accertamenti tossicologico-forensi.

2.2 Ambito applicativo

Le presenti Linee Guida devono essere recepite ed applicate da tutti i laboratori che intendano eseguire accertamenti analitici su reperti non biologici, con finalità applicativa di disposti di legge dettati dalla normativa vigente.

I laboratori 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 massima affidabilità in ordine a:

- Organigramma, qualificazione scientifica, compiti e responsabilità del personale;
- Procedure di acquisizione e gestione pre-analitica (identificazione, pesatura, campionamento) di reperti in giudizioale sequestro;
- Tecniche analitiche, procedure e criteri per l'analisi morfologica, presuntiva, gravimetrica, qualitativa, quantitativa, e comparativa di reperti contenenti SSP e relative sostanze di interesse (ad es. adulteranti, diluenti, impurezze di origine e lavorazione, precursori);
- Validazione dei metodi analitici, incertezza di misura, controllo di qualità interno ed esterno della prestazione analitica;
- Stesura ed emissione del rapporto analitico (referto), con interpretazione dei risultati sotto il profilo tossicologico-forense, in relazione alla normativa vigente.

2.3 Sostanze stupefacenti e psicotrope

Le sostanze stupefacenti e psicotrope (SSP) sono composti chimici di origine naturale, sintetica, o semi-sintetica, farmacologicamente attivi, idonei ad alterare in diversa misura la sfera psichica e comportamentale, con effetti di tipo psicolettico, psicoanalettico, e psicodislettico sul sistema nervoso centrale (SNC), ed in grado di generare fenomeni di tolleranza, assuefazione, dipendenza.

Si tratta di sostanze il cui numero è estremamente vasto, caratterizzate da strutture chimiche assai varie, incluse in regolamenti nazionali e internazionali e raggruppate in tabelle sottoposte a continuo aggiornamento.

Le SSP possono essere classificate secondo criteri:

- giuridici (legali ed illegali)
- di pericolosità (ad es. capacità di generare dipendenza)
- di struttura chimica (naturali, semisintetiche e sintetiche)
- farmacologici (in base a caratteristiche farmacodinamiche e strutturali).

Le SSP sono di seguito riassunte secondo il criterio farmacologico, e sono inoltre menzionate le sostanze più frequentemente presenti come principi attivi in preparazioni illecite, e pertanto di preminente interesse tossicologico-forense.

Psicolettici (sostanze sedative del SNC)

- Ipnotici e ipnoinduttori (es. barbiturici);
- Tranquillanti minori o ansiolitici (es. benzodiazepine);
- Tranquillanti maggiori o neurolettici;
- Regolatori dell'umore.

Psicoanalettici (sostanze che elevano il tono psichico)

- Stimolanti dell'umore o antidepressivi;
- Stimolanti della vigilanza (es. amfetamine, caffeina)

Psicodislettici (sostanze che alterano e perturbano il tono psichico)

- Depressivi: oppiacei (es. eroina, morfina, acetilmorfina, codeina, etc.) e oppioidi (metadone, buprenorfina, idrocodone, ossicodone, fentanile ed analoghi, etc.) etanolo, GHB, inalanti (es. nitriti alchilici), etc.;
- Stimolanti: cocaina, amfetamine (amfetamina, metamfetamina, MDA, MDMA, MDEA, MBDB, etc.);
- Allucinogeni: LSD, mescalina, psilocibina, DMT, etc.;

- Dissociativi: ketamina ed analoghi, fenciclidina, etc.;
- Cannabinoidi: preparati della cannabis (hashish, marijuana, etc.) contenenti THC.

Tra i psicodislettici vanno annoverate anche le cosiddette "Nuove Sostanze Psicoattive (NSP)", eterogeneo e vasto gruppo di sostanze di recente comparsa nel mercato clandestino delle SSP e conseguente uso ricreazionale. Le NSP sono chimicamente e farmacologicamente riconducibili alle seguenti maggiori classi: amfetamino-simili (catinoni sintetici, amminoindani, feniletilammine, piperazine, triptammine, etc.) e cannabinoidi sintetici. I cannabinoidi sintetici o cannabinomimetici producono effetti qualitativamente simili al THC, ma quantitativamente talvolta molto maggiori, presentando pertanto maggiori pericoli di intossicazione acuta e letale. Le altre classi di sostanze producono generalmente effetti simili alle amfetamine tradizionali (psicostimolanti, empatogeni, entactogeni), ma per alcuni principi attivi prevalgono gli effetti di tipo allucinogeno e dissociativo. Le NSP sono attualmente costituite da diverse centinaia di composti, prodotti per sintesi o semi-sintesi, e rappresentano un'importante sfida sia sotto il profilo tossicologico-clinico, con un sempre maggiore numero di casi di intossicazione anche letale, che tossicologico-forense ed analitico, in quanto principi attivi incessantemente prodotti diversificando reiteratamente la struttura chimica di composti progenitori. Un elevato numero di NSP è attualmente già incluso nelle tabelle degli stupefacenti sia in ambito nazionale che internazionale, citate come singole sostanze o come classi di sostanze. Tali tabelle vengono costantemente aggiornate includendo altre NSP, una volta caratterizzate chimicamente ed accertate le peculiari caratteristiche farmaco-tossicologiche.

I laboratori che eseguono accertamenti analitici di interesse tossicologico-forense su reperti non biologici devono necessariamente:

- Ottenere l'autorizzazione da parte del Ministero della Salute a detenere ed utilizzare sostanze stupefacenti;
- Provvedere, per l'analisi quali-quantitativa di SSP presenti nei reperti non biologici, all'approvvigionamento di materiali di riferimento certificati presso le autorizzate industrie produttrici ed importatrici;
- Compilare ed aggiornare un registro di entrata ed uscita delle SSP ed inviare annualmente al Ministero della Salute una relazione comprendente la descrizione delle attività effettuate, il nome dei ricercatori che hanno utilizzato nel corso dell'anno le SSP, la copia dei buoni di acquisto delle SSP.

2.4 Riferimenti normativi *(aggiornato a Maggio 2017)*

I laboratori di tossicologia forense effettuano di norma accertamenti analitici su reperti in giudiziale sequestro a seguito di incarico e nomina del loro direttore o altro dirigente, da parte della AG, come ausiliari di polizia giudiziaria (APG), consulenti tecnici del pubblico ministero (CT), periti del giudice.

Gli incaricati, oltre a compiere i necessari accertamenti tecnici sui reperti in sequestro, e a produrre i relativi referti, o elaborati di consulenza tecnica o perizia, sono inoltre chiamati a rendere testimonianza in sede dibattimentale. Operando in tale ambito, oltre a possedere una preparazione specifica in campo tossicologico-analitico e forense, essi devono conoscere ed applicare le normative vigenti in materia, di seguito citate nei testi in vigore al momento della pubblicazione delle presenti Linee Guida, e richiamate negli elementi salienti.

D.P.R. 9 ottobre 1990, n. 309 (G.U. 31/10/1990)

“Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza (aggiornato con le modifiche apportate dal D.M. 8 gennaio 2015 e dal D.M. 10 febbraio 2015)”.

Le SSP sono raggruppate nel citato decreto in quattro tabelle ed è prevista una aggiuntiva tabella di medicinali a base di SSP. Nelle prime quattro tabelle, collegate al sistema sanzionatorio per gli usi illeciti, sono elencate le SSP poste sotto controllo internazionale e nazionale. Nella tabella dei medicinali, a sua volta suddivisa in cinque sezioni (A, B, C, D, E) sono indicati i medicinali a base di SSP di corrente impiego terapeutico ad uso umano o veterinario, ed il regime di dispensazione ad uso di medici, farmacisti e operatori del settore farmaceutico.

Tabella I:

1. *Oppio e derivati naturali, semisintetici e sintetici;*
2. *Foglie di coca e gli alcaloidi ad azione eccitante da esse estraibili;*
3. *Sostanze di tipo amfetaminico ad azione eccitante sul S.N.C.;*
4. *Ogni altra sostanza che produca effetti sul S.N.C. ed abbia capacità di determinare dipendenza fisica o psichica dello stesso ordine o di ordine superiore a quelle precedentemente indicate;*
5. *Indolici: triptaminici, feniletilamminici, LSD, e ogni altra sostanza ad effetto allucinogeno in grado di provocare distorsioni sensoriali.*
6. *i tetraidrocannabinoli: i loro analoghi e sostanze ottenute per sintesi o semisintesi ad essi riconducibili;*
7. *Ogni pianta o sostanza naturale o semisintetica che possa provocare allucinazioni o gravi distorsioni sensoriali;*
8. *Preparazioni contenenti le sostanze di cui alla presente lettera, in conformità alle modalità indicate nella tabella dei medicinali.*

Tabella II:

1. *Cannabis e i prodotti da essa ottenuti;*
2. *Preparazioni contenenti le sostanze di cui alla presente lettera, in conformità alle modalità indicate nella tabella dei medicinali.*

Tabella III:

1. *Barbiturici che hanno notevole capacità di indurre dipendenza fisica o psichica o entrambe, nonché altre sostanze ad effetto ipnotico sedativo ad essi assimilabili.*
2. *Preparazioni contenenti le sostanze di cui alla presente lettera, in conformità alle modalità indicate nella tabella dei medicinali.*

Tabella IV:

1. *Sostanze per le quali sono stati accertati concreti pericolo di induzione di dipendenza fisica o psichica di intensità e gravità minori di quelli prodotti dalle sostanze elencate nelle tabelle I e III;*
2. *Preparazioni contenenti le sostanze di cui alla presente lettera, in conformità alle modalità indicate nella tabella dei medicinali.*

Tabella dei medicinali:

Medicinali a base di sostanze attive stupefacenti o psicotrope, di corrente impiego terapeutico ad uso umano o veterinario.

Di precipuo interesse in ambito tossicologico-forense risultano gli Artt. 60, 73, 75, 78, 80, 87 del DPR 309/90, i cui commi di maggiore valenza sono di seguito citati.

Art. 60. Registro di entrata e uscita

1. *Ogni acquisto o cessione, anche a titolo gratuito, di sostanze e di medicinali di cui alle tabelle previste dall'articolo 14, è iscritto in un registro speciale nel quale, senza alcuna lacuna, abrasione o aggiunta, in*

ordine cronologico, secondo una progressione numerica unica per ogni sostanza o medicinale, è tenuto in evidenza il movimento di entrata e di uscita delle stesse sostanze o medicinali. Tale registro è numerato e firmato in ogni pagina dal responsabile dell'azienda unità sanitaria locale o da un suo delegato che riporta nella prima pagina gli estremi della autorizzazione ministeriale e dichiara nell'ultima il numero delle pagine di cui il registro è costituito. Il registro è conservato da parte degli enti e delle imprese autorizzati alla fabbricazione, per la durata di dieci anni dal giorno dell'ultima registrazione. Detto termine è ridotto a cinque anni per le officine autorizzate all'impiego e per le imprese autorizzate al commercio all'ingrosso. Lo stesso termine è ridotto a due anni per le farmacie aperte al pubblico e per le farmacie ospedaliere. I direttori sanitari e i titolari di gabinetto di cui all'articolo 42, comma 1, conservano il registro di cui al presente comma per due anni dal giorno dell'ultima registrazione.

2. I responsabili delle farmacie aperte al pubblico e delle farmacie ospedaliere nonché delle aziende autorizzate al commercio all'ingrosso riportano sul registro il movimento dei medicinali di cui alla tabella dei medicinali, sezioni A, B e C, secondo le modalità indicate al comma 1 e nel termine di quarantotto ore dalla dispensazione.

3. Le unità operative delle strutture sanitarie pubbliche e private, nonché le unità operative dei servizi territoriali delle aziende sanitarie locali sono dotate di registro di carico e scarico dei medicinali di cui alla tabella dei medicinali, sezioni A, B e C, prevista dall'articolo 14.

4. I registri di cui ai commi 1 e 3 sono conformi ai modelli predisposti dal Ministero della salute e possono essere composti da un numero di pagine adeguato alla quantità di stupefacenti normalmente detenuti e movimentati.

5. In alternativa ai registri di cui ai commi 1 e 3, il Ministero della salute stabilisce con proprio decreto le modalità di registrazione su supporto informatico della movimentazione delle sostanze e dei medicinali di cui alle tabelle previste dall'articolo 14.

6. Il registro di cui al comma 3 è vidimato dal direttore sanitario, o da un suo delegato, che provvede alla sua distribuzione. Il registro è conservato, in ciascuna unità operativa, dal responsabile dell'assistenza infermieristica per due anni dalla data dell'ultima registrazione.

7. Il dirigente medico preposto all'unità operativa è responsabile della effettiva corrispondenza tra la giacenza contabile e quella reale dei medicinali di cui alla tabella dei medicinali, sezioni A, B e C, prevista dall'articolo 14.

8. Il direttore responsabile del servizio farmaceutico compie periodiche ispezioni per accertare la corretta tenuta dei registri di reparto di cui al comma 3 e redige apposito verbale da trasmettere alla direzione sanitaria.

Art. 73. Produzione, traffico e detenzione illeciti di sostanze stupefacenti o psicotrope

1. Chiunque, senza l'autorizzazione di cui all'articolo 17, coltiva, produce, fabbrica, estrae, raffina, vende, offre o mette in vendita, cede, distribuisce, commercia, trasporta, procura ad altri, invia, passa o spedisce in transito, consegna per qualunque scopo sostanze stupefacenti o psicotrope di cui alla tabella I prevista dall'articolo 14, è punito con la reclusione da sei a venti anni e con la multa da euro 26.000 a euro 260.000.

1-bis. Con le medesime pene di cui al comma 1 è punito chiunque, senza l'autorizzazione di cui all'articolo 17, importa, esporta, acquista, riceve a qualsiasi titolo o comunque illecitamente detiene:

a) sostanze stupefacenti o psicotrope che per quantità, in particolare se superiore ai limiti massimi indicati con decreto del Ministro della salute emanato di concerto con il Ministro della giustizia sentita la Presidenza del Consiglio dei Ministri-Dipartimento nazionale per le politiche antidroga-, ovvero per modalità di presentazione, avuto riguardo al peso lordo complessivo o al confezionamento frazionato, ovvero per altre circostanze dell'azione, appaiono destinate ad un uso non esclusivamente personale;

b) medicinali contenenti sostanze stupefacenti o psicotrope elencate nella tabella II, sezione A, che eccedono il quantitativo prescritto. In questa ultima ipotesi, le pene suddette sono diminuite da un terzo alla metà.

2. Chiunque, essendo munito dell'autorizzazione di cui all'articolo 17, illecitamente cede, mette o procura che altri metta in commercio le sostanze o le preparazioni indicate nelle tabelle I e II di cui all'articolo 14, è punito con la reclusione da sei a ventidue anni e con la multa da euro 26.000 a euro 300.000.

3. Le stesse pene si applicano a chiunque coltiva, produce o fabbrica sostanze stupefacenti o psicotrope diverse da quelle stabilite nel decreto di autorizzazione.

4. Quando le condotte di cui al comma 1 riguardano i medicinali ricompresi nella tabella II, sezioni A, B, C e D, limitatamente a quelli indicati nel numero 3-bis) della lettera e) del comma 1 dell'articolo 14 e non ricorrono le condizioni di cui all'articolo 17, si applicano le pene ivi stabilite, diminuite da un terzo alla metà.

5. Salvo che il fatto costituisca più grave reato, chiunque commette uno dei fatti previsti dal presente articolo che, per i mezzi, la modalità o le circostanze dell'azione ovvero per la qualità e quantità delle sostanze, è di lieve entità, è punito con le pene della reclusione da sei mesi a quattro anni e della multa da euro 1.032 a euro 10.329. (6)

5-bis. Nell'ipotesi di cui al comma 5, limitatamente ai reati di cui al presente articolo commessi da persona tossicodipendente o da assuntore di sostanze stupefacenti o psicotrope, il giudice, con la sentenza di condanna o di applicazione della pena su richiesta delle parti a norma dell'articolo 444 del codice di procedura penale, su richiesta dell'imputato e sentito il pubblico ministero, qualora non debba concedersi il beneficio della sospensione condizionale della pena, può applicare, anziché le pene detentive e pecuniarie, quella del lavoro di pubblica utilità di cui all'articolo 54 del decreto legislativo 28 agosto 2000, n. 274, secondo le modalità ivi previste. Con la sentenza il giudice incarica l'ufficio locale di esecuzione penale esterna di verificare l'effettivo svolgimento del lavoro di pubblica utilità. L'ufficio riferisce periodicamente al giudice. In deroga a quanto disposto dal citato articolo 54 del decreto legislativo n. 274 del 2000, il lavoro di pubblica utilità ha una durata corrispondente a quella della sanzione detentiva irrogata. Esso può essere disposto anche nelle strutture private autorizzate ai sensi dell'articolo 116, previo consenso delle stesse. In caso di violazione degli obblighi connessi allo svolgimento del lavoro di pubblica utilità, in deroga a quanto previsto dal citato articolo 54 del decreto legislativo n. 274 del 2000, su richiesta del pubblico ministero o d'ufficio, il giudice che procede, o quello dell'esecuzione, con le formalità di cui all'articolo 666 del codice di procedura penale, tenuto conto dell'entità dei motivi e delle circostanze della violazione, dispone la revoca della pena con conseguente ripristino di quella sostituita. Avverso tale provvedimento di revoca è ammesso ricorso per cassazione, che non ha effetto sospensivo. Il lavoro di pubblica utilità può sostituire la pena per non più di due volte (8).

5-ter. La disposizione di cui al comma 5-bis si applica anche nell'ipotesi di reato diverso da quelli di cui al comma 5, commesso, per una sola volta, da persona tossicodipendente o da assuntore abituale di sostanze stupefacenti o psicotrope e in relazione alla propria condizione di dipendenza o di assuntore abituale, per il quale il giudice infligga una pena non superiore ad un anno di detenzione, salvo che si tratti di reato previsto dall'articolo 407, comma 2, lettera a), del codice di procedura penale o di reato contro la persona. (9)

6. Se il fatto è commesso da tre o più persone in concorso tra loro, la pena è aumentata.

7. Le pene previste dai commi da 1 a 6 sono diminuite dalla metà a due terzi per chi si adopera per evitare che l'attività delittuosa sia portata a conseguenze ulteriori, anche aiutando concretamente l'autorità di polizia o l'autorità giudiziaria nella sottrazione di risorse rilevanti per la commissione dei delitti.

Art. 75. Condotte integranti illeciti amministrativi

1. Chiunque, per farne uso personale, illecitamente importa, esporta, acquista, riceve a qualsiasi titolo o comunque detiene sostanze stupefacenti o psicotrope è sottoposto, per un periodo da due mesi a un anno, se si tratta di sostanze stupefacenti o psicotrope comprese nelle tabelle I e III previste dall'articolo 14, e per un periodo da uno a tre mesi, se si tratta di sostanze stupefacenti o psicotrope comprese nelle tabelle II e IV previste dallo stesso articolo, a una o più delle seguenti sanzioni amministrative:

- a) sospensione della patente di guida, del certificato di abilitazione professionale per la guida di motoveicoli e del certificato di idoneità alla guida di ciclomotori o divieto di conseguirli per un periodo fino a tre anni;
- b) sospensione della licenza di porto d'armi o divieto di conseguirla;
- c) sospensione del passaporto e di ogni altro documento equipollente o divieto di conseguirli;
- d) sospensione del permesso di soggiorno per motivi di turismo o divieto di conseguirlo se cittadino extracomunitario.

1-bis. Ai fini dell'accertamento della destinazione ad uso esclusivamente personale della sostanza stupefacente o psicotropa o del medicinale di cui al comma 1, si tiene conto delle seguenti circostanze:

- a) che la quantità di sostanza stupefacente o psicotropa non sia superiore ai limiti massimi indicati con decreto del Ministro della salute, di concerto con il Ministro della giustizia, sentita la Presidenza del Consiglio dei ministri - Dipartimento per le politiche antidroga, nonché della modalità di presentazione

delle sostanze stupefacenti o psicotrope, avuto riguardo al peso lordo complessivo o al confezionamento frazionato ovvero ad altre circostanze dell'azione, da cui risulti che le sostanze sono destinate ad un uso esclusivamente personale;

b) che i medicinali contenenti sostanze stupefacenti o psicotrope elencate nella tabella dei medicinali, sezioni A, B, C e D, non eccedano il quantitativo prescritto.

Art. 78. Quantificazione delle sostanze

1. Con decreto del Ministero della salute, emanato previo parere dell'Istituto superiore di sanità e del Comitato scientifico di cui all'articolo 1-ter, e periodicamente aggiornato in relazione all'evoluzione delle conoscenze nel settore, sono determinate le procedure diagnostiche, medico-legali e tossicologico-forensi per accertare il tipo, il grado e l'intensità dell'abuso di sostanze stupefacenti o psicotrope ai fini dell'applicazione delle disposizioni di cui agli articoli 75 e 75-bis.

Art. 80. Aggravanti specifiche

1. Le pene previste per i delitti di cui all'articolo 73 sono aumentate da un terzo alla metà':

a) nei casi in cui le sostanze stupefacenti e psicotrope sono consegnate o comunque destinate a persona di età minore;

b) nei casi previsti dai numeri 2), 3) e 4) del primo comma dell'articolo 112 del codice penale;

c) per chi ha indotto a commettere il reato, o a cooperare nella commissione del reato, persona dedita all'uso di sostanze stupefacenti o psicotrope;

d) se il fatto è stato commesso da persona armata o travisata;

e) se le sostanze stupefacenti o psicotrope sono adulterate o commiste ad altre in modo che ne risulti accentuata la potenzialità lesiva;

f) se l'offerta o la cessione è finalizzata ad ottenere prestazioni sessuali da parte di persona tossicodipendente;

g) se l'offerta o la cessione è effettuata all'interno o in prossimità di scuole di ogni ordine o grado, comunità giovanili, caserme, carceri, ospedali, strutture per la cura e la riabilitazione dei tossicodipendenti.

2. Se il fatto riguarda quantità ingenti di sostanze stupefacenti o psicotrope, le pene sono aumentate dalla metà a due terzi; la pena è di trenta anni di reclusione quando i fatti previsti dai commi 1, 2 e 3 dell'articolo 73 riguardano quantità ingenti di sostanze stupefacenti o psicotrope e ricorre l'aggravante di cui alla lettera e) del comma 1.

3. Lo stesso aumento di pena si applica se il colpevole per commettere il delitto o per conseguirne per sé o per altri il profitto, il prezzo o l'impunità ha fatto uso di armi.

4. Si applica la disposizione del secondo comma dell'articolo 112 del codice penale.

Art. 87. Destinazione delle sostanze sequestrate dall'autorità giudiziaria

1. L'autorità che effettua il sequestro deve darne immediata notizia al Servizio centrale antidroga specificando l'entità ed il tipo di sostanze sequestrate.

2. Quando il decreto di sequestro o di convalida del sequestro effettuato dall'autorità giudiziaria non è più assoggettabile al riesame, l'autorità giudiziaria dispone il prelievo di uno o più campioni, determinandone l'entità, con l'osservanza delle formalità di cui all'articolo 364 del codice di procedura penale e ordina la distruzione della residua parte di sostanze.

3. Se la conservazione delle sostanze di cui al comma 2 sia assolutamente necessaria per il prosieguo delle indagini, l'autorità giudiziaria dispone in tal senso con provvedimento motivato.

4. In ogni caso l'autorità giudiziaria ordina la distruzione delle sostanze stupefacenti e psicotrope, ed ove possibile delle sostanze classificate di cui all'articolo 70, confiscate.

5. Per la distruzione di sostanze stupefacenti e psicotrope l'autorità giudiziaria si avvale di idonea struttura pubblica locale, ove esistente, o statale ed incarica la polizia giudiziaria del regolare svolgimento delle relative operazioni. Il verbale delle operazioni è trasmesso all'autorità giudiziaria procedente e al Ministero della sanità.

6. La distruzione avviene secondo le modalità tecniche determinate con decreto del Ministro della sanità in data 19 luglio 1985, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 184 del 6 agosto 1985.

Decreto Ministero della Salute 11 aprile 2006 (G.U. n. 95 del 24-4-2006)

"Indicazione dei limiti quantitativi massimi delle sostanze stupefacenti e psicotrope, riferibili ad un uso esclusivamente personale delle sostanze elencate nella tabella I del Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e delle sostanze psicotrope, prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza, di cui al decreto del Presidente della Repubblica 9 ottobre 1990, n. 309, come modificato dalla legge 21 febbraio 2006, n. 49, ai sensi dell'articolo 73, comma 1-bis".

Il DM 11 aprile 2006 contiene i riferimenti alla Dose Media Singola (DMS) e al Quantitativo Massimo Detenibile (QMD) di alcune delle sostanze stupefacenti e psicotrope elencate nella tabella I del DPR n. 309 del 1990. Esso fu inizialmente travolto dall'incostituzionalità del sistema sanzionatorio introdotto dalla Legge n. 49 del 2006, ma risulta tuttavia attualmente recuperato, salva successiva determinazione ministeriale. Infatti, ai sensi dell'art. 75, comma 1 bis, del DPR n. 309 del 1990, come modificato dalla legge 16 maggio 2014 n. 79, di conversione, con modificazioni, del decreto legge 20 marzo 2014 n. 36, comma 1 bis del DPR n. 309 del 1990, nel fornire i parametri probatori utili per dimostrare l'illecito amministrativo o penale è attribuita valenza al parametro della "quantità" della droga ed al decreto ministeriale di riferimento, appunto il DM 11 aprile 2006.

Inoltre, ai fini dell'attribuzione delle aggravanti specifiche relative alla detenzione di "quantità ingenti"¹ di sostanze stupefacenti o psicotrope, di cui all'Art.80, comma 2, DPR n. 309 del 1990, la Corte di Cassazione (Sezione VI, sentenza 19 novembre 2014, n. 47907) ha rilevato che, per effetto dell'espressa reintroduzione della nozione di quantità massima detenibile, ai sensi dell'art. 75, comma 1 bis, del DPR n. 309 del 1990, come modificato dalla legge 16 maggio 2014 n. 79, mantengono validità i criteri basati sul rapporto tra quantità di principio attivo e valore massimo tabellarmente detenibile.

Codice di Procedura Penale

Con riferimento al testo coordinato del Codice di Procedura Penale (aggiornato con le modifiche apportate dalla L. 16 aprile 2015, n. 47, dalla L. 28 aprile 2015, n. 58 e dalla L. 27 maggio 2015, n. 69) risultano di particolare interesse nell'ambito delle presenti Linee Guida i seguenti articoli.

Libro III: Prove - Titolo II: Mezzi di prova - Capo VI: Perizia

- Art. 220. Oggetto della perizia
- Art. 221. Nomina del perito
- Art. 222. Incapacità e incompatibilità del perito
- Art. 223. Astensione e ricusazione del perito
- Art. 224. Provvedimenti del giudice
- Art. 225. Nomina del consulente tecnico
- Art. 226. Conferimento dell'incarico
- Art. 227. Relazione peritale
- Art. 228. Attività del perito
- Art. 229. Comunicazioni relative alle operazioni peritali
- Art. 230. Attività dei consulenti tecnici
- Art. 231. Sostituzione del perito
- Art. 233. Consulenza tecnica fuori dei casi di perizia

¹ Per la determinazione del quantitativo *ingente*, assume rilievo la sentenza delle Sezioni unite, 24 maggio 2012, nella quale si esplicita che: "la circostanza aggravante dell'ingente quantità di sostanza stupefacente, prevista dall'articolo 80, comma 2, del DPR 9 ottobre 1990 n. 309, non è di norma ravvisabile quando la quantità sia inferiore a "2000 volte" il valore massimo in milligrammi (valore-soglia), determinato per ogni sostanza nella tabella allegata al DM 11 aprile 2006, ferma restando la discrezionale valutazione del giudice di merito, quando tale quantità sia superata".

Libro V: Indagini preliminari e udienza preliminare - Titolo IV: Attività a iniziativa della polizia giudiziaria

- Art. 348. Assicurazione delle fonti di prova
- Art. 354. Accertamenti urgenti sui luoghi, sulle cose e sulle persone. Sequestro
- Art. 355. Convalida del sequestro e suo riesame
- Art. 356. Assistenza del difensore
- Art. 357. Documentazione dell'attività di polizia giudiziaria

Libro V: Indagini preliminari e udienza preliminare - Titolo V: Attività del pubblico ministero

- Art. 359. Consulenti tecnici del pubblico ministero
- Art. 360. Accertamenti tecnici non ripetibili

Libro VII: Giudizio - Titolo II: Dibattimento

- Art. 501. Esame dei periti e dei consulenti tecnici.

3. Requisiti del laboratorio

3.1. Direzione del laboratorio

La direzione del laboratorio comporta l'assunzione di responsabilità professionali, organizzative, educative ed amministrative. 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. Organigramma, qualificazione scientifica, compiti e responsabilità del personale

Il personale del laboratorio deve possedere una preparazione specifica in campo tossicologico-analitico e forense, associata ad una documentata formazione professionale adeguata alle responsabilità specifiche e deve approfonditamente conoscere le normative vigenti che riguardano le SSP, soprattutto in relazione alla loro determinazione nei reperti non biologici. L'attività di addestramento e di aggiornamento del personale del laboratorio deve essere documentata e conservata. La numerosità del personale preposto alle analisi deve essere adeguata al numero degli accertamenti svolti nel laboratorio. Oltre al direttore è raccomandata la presenza di almeno un altro dirigente, 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 i requisiti di qualità.

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 regolamentati da specifiche procedure, nel rispetto della normativa vigente.

4. Procedure del laboratorio

4.1. Generalità

Il Laboratorio deve redigere e conservare in forma documentale le procedure relative a tutte le attività gestionali e tecniche realizzate.

4.2. Procedure documentate

Le procedure documentate descrivono in dettaglio tutte le attività necessarie al corretto svolgimento di ogni tipo di accertamento analitico che il laboratorio dichiara di effettuare; contengono anche i metodi analitici 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 controllate.

Per l'Attività Gestionale sono necessarie procedure documentate relative a:

- Caratteristiche e finalità delle analisi e dei relativi risultati;
- Accettazione e catena di custodia dei reperti;
- Utilizzo, manutenzione ordinaria e taratura degli strumenti di misura e della strumentazione analitica;
- Redazione, consegna/invio del rapporto analitico o referto;
- Tutela e riservatezza dei dati personali e giudiziari sensibili e dei relativi risultati analitici;
- Archiviazione e conservazione della documentazione analitica e dei dati ad essa correlati;
- Utilizzo di controlli di qualità interni ed esterni, monitoraggio e miglioramento della qualità;
- Qualificazione, formazione ed aggiornamento del personale.

Per l'Attività Tecnica le procedure documentate devono riportare dettagliatamente:

- Finalità delle analisi (obiettivi e ambiti applicativi; elenco degli analiti che possono essere identificati e/o quantificati);
- Principi dei metodi analitici con eventuali riferimenti bibliografici;
- Elenco dei parametri di validazione utilizzati e dei rispettivi valori ottenuti;
- Dettagli operativi con riferimento ai materiali 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;
- Procedure per la gestione pre-analitica dei campioni e dei controlli, per la loro identificazione e posizionamento nella sequenza analitica;
- 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 dei risultati di una sessione analitica;
- Criteri minimi di identificazione e/o quantificazione di ciascun analita.

4.3. 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 taratura, della manutenzione ordinaria, del monitoraggio delle prestazioni.

Ad esempio, frigoriferi e congelatori devono essere dotati di un sistema di monitoraggio manuale (con cadenza almeno quotidiana) o automatico della temperatura. Analogamente, il laboratorio deve disporre, direttamente o indirettamente, di uno o più pesi di riferimento certificati per la taratura della bilancia analitica e di tamponi di riferimento per la taratura del pHmetro.

Per ciascuno strumento di misurazione, nonché per la strumentazione analitica, il laboratorio deve comunque garantire la completa riferibilità delle misurazioni eseguite attraverso una ininterrotta catena di riferimenti, e conservare le rispettive registrazioni per un tempo minimo di 5 anni.

4.4 Rintracciabilità della documentazione

Il laboratorio deve attuare un sistema di registrazione e archiviazione di tutte le informazioni in forma cartacea ed in forma elettronica relative alle determinazioni strumentali eseguite, in modo che ciascuna di esse sia completamente rintracciabile e documentabile. Nella procedura documentata vanno stabilite inoltre le modalità e la frequenza di creazione delle copie di sicurezza (back-up) della documentazione analitica.

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

- La documentazione cartacea relativa ai reperti/campioni (es. moduli di richiesta/nomina, verbali di accettazione/presa in carico/consegna);
- Copia del rapporto analitico o referto;
- La documentazione relativa alla certificazione (o alla verifica) del grado di purezza e della durata di validità dei materiali di riferimento;
- I dati relativi alla manutenzione, al monitoraggio e alla taratura degli strumenti di misurazione e della strumentazione analitica per almeno 5 anni dalla data di emissione del referto, se non diversamente indicato da normativa specifica;
- Copia della documentazione riguardante entrata/uscita/movimentazione/utilizzo delle SSP impiegate sotto forma di materiali di riferimento.

5. Principi e caratteristiche generali della determinazione di SSP in reperti non biologici

Le analisi chimico-tossicologiche per la determinazione qualitativa ed eventualmente quantitativa di SSP su reperti non biologici sottoposti a giudiziale sequestro vengono abitualmente richieste in relazione ai già citati Artt. 73 (Produzione, traffico e detenzione illeciti di sostanze stupefacenti o psicotrope) e 75 (Condotte integranti illeciti amministrativi) del D.P.R. 9 ottobre 1990, n. 309.

Le SSP possono essere:

- costituite esclusivamente da principi attivi in forma più o meno pura;
- contenute in piante, rizomi, tuberi, cactus, funghi, semi, etc. (ad es. piante di Cannabis, funghi di Psilocibe, cactus di Peyote) o preparazioni di origine vegetale (ad es. hashish, marijuana, altri preparati della Cannabis);
- contenute con percentuali altamente variabili in preparazioni costituite da polveri, agglomerati, liquidi;

- presenti in tracce in materiale residuale.

Le determinazioni laboratoristiche sono principalmente finalizzate alla determinazione qualitativa e quantitativa delle SSP, ed in alcuni casi delle relative sostanze di interesse, come ad es.:

- gli adulteranti (sostanze che esplicano un peculiare effetto farmacologico, aggiuntivo rispetto a quello dei principi attivi stupefacenti);
- i diluenti (sostanze che aumentano il volume complessivo della preparazione contenente il principio attivo);
- le impurezze di origine (sostanze, per es. di origine vegetale, che non sono modificate nei processi trasformativi delle preparazioni illecite) e di lavorazione (per es. prodotti secondari collegabili alla sintesi o semi-sintesi dei principi attivi, come i precursori).

Le analisi chimico-tossicologiche prevedono solitamente le fasi di:

- Accettazione ed identificazione dei reperti;
- Pesatura preliminare, campionamento ed analisi (morfologica, presuntiva, qualitativa, quantitativa, comparativa) dei reperti;
- Validazione ed interpretazione tossicologico-forense dei risultati;
- Refertazione.

I requisiti gestionali e tecnici relativi a ciascuna delle fasi descritte vengono di seguito riportati.

6. Acquisizione e gestione pre-analitica di reperti in giudiziale sequestro

6.1. Accesso al laboratorio

L'accesso al laboratorio deve essere limitato esclusivamente alle persone autorizzate; il laboratorio deve adottare misure atte a garantire che l'accesso di estranei non possa avvenire né durante, né al di fuori dell'orario di operatività. Le persone esterne al laboratorio ed autorizzate all'accesso devono essere compiutamente identificate al momento dell'ingresso.

6.2. Limitazioni e cautele

I laboratori che oltre ad eseguire accertamenti analitici su reperti non biologici eseguono analisi tossicologico-forensi su campioni biologici devono effettuare l'acquisizione, la manipolazione e lo stoccaggio di tali campioni in ambienti diversi rispetto a quelli in cui vengono accettati e trattati i reperti non biologici, allo scopo di evitare il rischio di contaminazione ambientale da principi attivi, adulteranti, diluenti, etc.

6.3 Accettazione dei reperti

L'accettazione dei reperti consiste nella presa in carico da parte del laboratorio del materiale in giudiziale sequestro sul quale verranno eseguiti gli accertamenti analitici su disposizione della AG competente. Tale materiale viene normalmente consegnato al laboratorio dalle forze di Polizia Giudiziaria (PG) operanti, su incarico della AG competente.

Al momento della consegna è raccomandata l'esecuzione di fotografie, eventualmente in presenza del personale di PG, sia degli involucri dei reperti che dei materiali costituenti i reperti,

includendo nella documentazione fotografica un riferimento scritto al procedimento amministrativo o penale del caso. È raccomandata inoltre l'effettuazione di una pesatura preliminare dei reperti consegnati.

Al termine della verifica qualitativa (tipologia) e quantitativa (numero e peso lordo dei reperti) della corrispondenza tra reperti acquisiti e riportati nella documentazione della PG operante o della AG competente, deve essere redatto apposito verbale con descrizione dettagliata del materiale trattenuto presso il laboratorio ed evidenza del passaggio di custodia.

6.4 Identificazione dei reperti

L'identificazione dei reperti consiste nell'assegnazione di identificativi univoci (caratteri alfanumerici) ai materiali che dovranno essere sottoposti ad analisi. Tali identificativi devono essere utilizzati nel corso delle attività analitiche per riferire e collegare univocamente materiali, dati analitici e documentazione prodotta. Durante la fase di identificazione si procederà inoltre alla documentazione fotografica dettagliata delle caratteristiche dei reperti (includendo pertanto nelle fotografie sia il riferimento al procedimento amministrativo o penale che gli identificativi univoci), in modo da costituire una raccolta fotografica da allegare al fascicolo documentale del caso.

6.5 Pesatura dei reperti

La fase di pesatura consiste nella determinazione del valore di peso netto (secco) dei reperti in giudiziale sequestro da sottoporre a successiva analisi. Tale valore è indispensabile in relazione al calcolo della concentrazione percentuale e della quantità assoluta di una o più SSP eventualmente presenti nel materiale, e quindi alla possibile verifica della conformità con i limiti quantitativi di Legge (ad es. in riferimento al D.M. 11 aprile 2006).

La pesatura è eseguita mediante l'utilizzo di bilance tecniche e/o analitiche. Lo strumento da utilizzare deve essere scelto in base alle caratteristiche del materiale da pesare (dimensioni, massa) e secondo le caratteristiche strumentali (ad es. portata, risoluzione) in modo da massimizzare l'accuratezza della misurazione. L'accurata determinazione del peso netto di ogni reperto rappresenta una condizione fondamentale per la complessiva affidabilità dei risultati.

Per reperti di origine vegetale (ad es. piante di Cannabis) è necessario riferirsi al peso netto secco del materiale vegetale (foglie e/o infiorescenze), al netto dell'umidità e delle eventuali ramaglie presenti nel reperto originale. Sarà quindi necessario procedere alla defogliazione/essicazione di un campione rappresentativo del materiale originale in sequestro, o della totalità dello stesso.

Un'ulteriore fase di pesatura, rilevante ai fini dell'affidabilità dei risultati, è rappresentata dalla determinazione ponderale dei campioni direttamente utilizzati per l'analisi quantitativa (di seguito denominati "aliquote per analisi") derivanti dai processi di campionamento eseguiti sui reperti originali. In questa fase devono essere utilizzate bilance di tipo analitico in modo da garantire un'elevata accuratezza della misurazione.

È necessario verificare periodicamente l'accuratezza delle misurazioni effettuate con tutte le bilance in uso presso il laboratorio, utilizzando pesiere certificate, e prevedendo apposite procedure operative di controllo per valutare la precisione delle misure e l'esattezza dei valori ponderali forniti.

6.6 Campionamento dei reperti

Il campionamento rappresentativo di un reperto è un processo che prevede la riduzione di massa del materiale originario costituente il reperto, con l'obiettivo di generare un campione che conserva le

proprietà intrinseche del reperto stesso. Essendo i reperti sottoposti a sequestro generalmente costituiti da materiali eterogenei, la composizione chimica del materiale può variare considerevolmente sia all'interno dello stesso reperto, sia tra reperti apparentemente simili di uno stesso sequestro. Se il campione prodotto non rappresenta adeguatamente il materiale originario si otterrà comunque un risultato non attendibile, a prescindere dall'accuratezza raggiunta nella determinazione analitica.

Possono essere necessarie una o più fasi di campionamento (campionamento primario, secondario, etc.). La fase di campionamento primario è usualmente quella che porta alla generazione del campione rappresentativo da trattenere presso il laboratorio e da cui saranno estratte le successive aliquote per le analisi. Possono o meno essere considerati ulteriori processi di campionamento intermedi. Di seguito sono descritte alcune raccomandazioni operative in relazione alla tipologia di reperto da campionare. Per ulteriori informazioni sul campionamento rappresentativo di reperti contenuti SSP è possibile consultare le specifiche linee guida dell'European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI).²

Piante e materiali/preparazioni di origine vegetale

Per reperti costituiti da piante e materiali/preparazioni di origine vegetale è opportuno procedere al campionamento di porzioni rappresentative, tenendo conto della grande variabilità intrinseca alla tipologia di materiale. A tale scopo è possibile riferirsi alle linee guida dello United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC)³. Qualora fosse necessario stimare in termini ponderali il quantitativo di principio attivo presente nei reperti, gli stessi dovranno essere preventivamente sottoposti ad una procedura di defogliazione ed essiccazione al fine di rimuovere ramaglie ed umidità eventualmente presenti. Il materiale risultante verrà in seguito trattato analogamente a quanto riportato nei successivi paragrafi. Nel caso di sequestri di elevate quantità di piante, provenienti ad es. da piantagioni, è possibile eseguire un campionamento basato sulla numerosità, operando per gruppi omogenei di elementi simili tra loro (vedi successivi paragrafi).

Reperti in polvere o assimilati (granulari, etc.)

Per reperti in polvere/granuli di dimensioni ponderali medio-grandi (ad es. 100-1000 g), è possibile ridurre inizialmente il loro volume utilizzando comuni tecniche di riduzione di massa, come ad es. la "quartatura", facendo attenzione ad evitare fenomeni di stratificazione differenziata. Successivamente, sarà necessario diminuire la granulometria delle particelle costituenti il campione risultante (ad es. attraverso macinazione in mortaio) ed omogeneizzare finemente il materiale prima di procedere al successivo campionamento per la produzione delle aliquote per analisi. Per reperti di piccole dimensioni è possibile procedere direttamente con l'omogeneizzazione della totalità del reperto, avendo cura di non alterare in alcun modo le proprietà chimiche del materiale originario.

Reperti in massa (agglomerati)

Per reperti di dimensioni ponderali medio-grandi (ad es. 100-1000 g), è indispensabile procedere ad un campionamento estraendo un numero di incrementi (sotto-campioni) tale da rappresentare la composizione complessiva del materiale costituente il reperto, prelevandoli da punti diversi del materiale. Dall'analisi individuale di tali incrementi si può ottenere una stima della variabilità composizionale del materiale (eterogeneità) e quindi valutare l'incertezza associata al processo di campionamento. E' possibile procedere alla generazione di un campione composito riunendo tra loro gli incrementi estratti. Il campione composito potrà quindi essere sottoposto ad ulteriori processi di campionamento al fine della produzione delle aliquote per analisi. Per reperti di piccole dimensioni è possibile procedere direttamente come riportato nella sezione precedente.

² UNODC-ENFSI, Guidelines on Representative Drug Sampling, 2009 (<http://www.enfsi.eu/>).

UNODC-ENFSI, Guidelines on Sampling of Illicit Drugs for Quantitative Analysis, 2015 (<http://www.enfsi.eu/>).

³ UNODC, Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products, 2009

Reperti liquidi

Per reperti liquidi a base acquosa, oleosa, o comunque organica, è necessario agitare accuratamente la massa liquida in modo da produrre completa omogeneizzazione prima di prelevare con pipetta analitica il campione per analisi.

Polveri/residui in tracce

Per reperti in tracce (ad es. polveri o residui adesi a superfici) è possibile dilavare (o tamponare) con opportuno solvente (variabile in funzione della tipologia, anche presunta, delle tracce), raccogliere i liquidi risultanti (o lasciare in contatto il tampone stesso con la soluzione estraente) e trattare le soluzioni/sospensioni ottenute alla stregua di reperti liquidi.

Esemplari macroscopicamente simili

Per reperti che presentano elevata numerosità e similitudine morfologica (ad es. centinaia di compresse con medesima forma/dimensione e logo impresso) è possibile eseguire un campionamento rappresentativo considerando il reperto come un unico gruppo omogeneo di elementi. Nel caso invece i reperti siano macroscopicamente disomogenei dovranno essere creati dei sottogruppi omogenei che andranno campionati separatamente. Per utilizzare metodi statistici di campionamento basati sulla probabilità (metodi Ipergeometrico o Bayesiano), è consigliabile effettuare una preliminare analisi di screening (ad es. FTIR, color tests) per valutare qualitativamente l'omogeneità degli esemplari. Si procederà quindi al campionamento statistico per la selezione degli esemplari da avviare all'analisi.⁴

6.7 Conservazione di reperti e campioni

La conservazione dei reperti e dei campioni di materiale sequestrato, dal momento della loro accettazione/presa in carico al momento della restituzione alle Forze dell'Ordine, dovrà avvenire garantendo la massima sicurezza (utilizzo di armadi blindati/casseforti) e limitando il più possibile qualsiasi tipo di degradazione dei principi attivi in essi contenuti. In generale, è necessario evitare che i materiali siano esposti direttamente alla luce e che la loro conservazione avvenga in ambienti umidi e ad alte temperature. L'accesso ai materiali deve essere garantito esclusivamente a personale appositamente autorizzato. La gestione della giacenza dovrà essere effettuata tenendo traccia delle movimentazioni dei materiali, in modo da avere un controllo continuativo sulle quantità detenute presso il laboratorio. È opportuno che la detenzione dei materiali presso il laboratorio sia ridotta al minimo, sia in termini di quantità detenuta che in termini di tempi di conservazione.

7. Analisi morfologica, presuntiva, qualitativa, quantitativa, comparativa di reperti

L'analisi chimico-tossicologica per la ricerca di SSP in reperti non biologici deve essere ordinariamente condotta in base alle seguenti fasi consequenziali:

1. Analisi Morfologica
2. Analisi Presuntiva
3. Analisi Qualitativa

⁴ I metodi di campionamento Ipergeometrico e Bayesiano sono applicabili utilizzando il software prodotto dall'ENFSI, disponibile su <http://www.enfsi.eu/>. Per maggiori informazioni sull'utilizzo del software prodotto da ENFSI è possibile consultare la guida "Drugs Working Group of the European Network of Forensic Science Institutes (DWG-ENFSI), Guidelines on Representative Drug Sampling, United Nations, New York, 2009".

4. Analisi Quantitativa
5. Analisi Comparativa

7.1 Analisi morfologica

L'analisi morfologica macroscopica e/o microscopica delle caratteristiche esteriori dei materiali in giudizio sequestro permette di distinguere e selezionare le tipologie di materiale in esame, riconoscere eventuali classi o sottogruppi, confrontare la consistenza dei materiali e degli involucri. Essa rappresenta solitamente l'iniziale accertamento eseguito. L'osservazione di forma, colore, consistenza e struttura dei materiali costituenti i reperti (compresi gli involucri), può fornire molteplici elementi utili all'approfondimento analitico, molto spesso anche nella comparazione di differenti reperti. Ad eccezione di alcuni rari casi, l'analisi morfologica è solitamente non distruttiva.

Per l'analisi morfologica possono essere utilizzate tecniche strumentali come la microscopia ottica o elettronica. L'utilizzo delle tecniche di microscopia permette di rilevare dettagli superficiali, impurezze presenti sulle superfici, o eventuali alterazioni e modifiche superficiali subite da un materiale. L'utilizzo della microscopia elettronica, oltre a rilevare dettagli sempre maggiori della struttura superficiale di un materiale, permette di investigare la composizione chimica del materiale mediante la tecnica con rivelatore a dispersione di energia (EDS). Per le analisi in microscopia elettronica potrebbe essere necessario ricoprire parte della superficie da investigare con uno strato di grafite o altro materiale conduttivo. In questo caso si procederà analizzando una piccola parte di un campione rappresentativo del materiale.

Anche l'esame morfologico del pattern di microcristallizzazione (test microcristallino) può fornire indicazioni sulla identità di una sostanza incognita. Il test consiste nello sciogliere pochi milligrammi di campione in una opportuna soluzione. I microcristalli formati possono essere osservati al microscopio ottico, microfotografati o microfilmati. La formazione di microcristalli è ottenibile per sostanze molto eterogenee, ed il test può consentire la distinzione di enantiomeri.

7.2 Analisi presuntiva

I test colorimetrici ("color tests") permettono di eseguire una rapida analisi per la ricerca presuntiva delle più comuni classi di SSP. Tali test permettono infatti di verificare la reattività di reagenti in soluzione rispetto ai principi attivi eventualmente presenti nel materiale, in polvere o liquido, da sottoporre ad analisi. Il viraggio selettivo del colore della soluzione reagente a contatto con il materiale è indice di positività per il principio attivo ricercato. L'analisi ha caratteristiche distruttive, essendo eseguita aggiungendo una o più gocce di soluzione reagente ad una piccola aliquota di materiale.

I test colorimetrici non hanno particolare valore sotto il profilo tossicologico-forense, essendone noti i limiti in termini di larga cross-reattività e scarsa sensibilità, conducendo pertanto rispettivamente alla possibilità di risultati falsamente positivi o negativi. Essi possono tuttavia rappresentare un valido punto di partenza analitico ("test di screening") per l'individuazione di "classi di sostanze" (ad es. in assenza di evidenti indicazioni provenienti da una iniziale analisi morfologica macroscopica), o per una rapida verifica di una ipotesi analitica.

7.3 Analisi qualitativa

7.3.1 Preparazione del campione

La fase propedeutica all'analisi strumentale è normalmente costituita dall'estrazione dei principi attivi di interesse (in ogni caso SSP, ed in casi specifici adulteranti o impurezze di origine e lavorazione) dalle diverse matrici non biologiche costituenti i reperti. Ciò consente l'isolamento degli analiti dalle complesse matrici che li contengono, ed eventualmente la loro concentrazione, o la rimozione di sostanze interferenti.

Le principali tecniche estrattive sono costituite da:

- Estrazione liquido-liquido (LLE, Liquid-Liquid Extraction);
- Estrazione in fase solida (SPE, Solid-Phase Extraction);
- Microestrazione in fase solida (SPME, Solid-Phase Microextraction);
- Estrazione con fluidi supercritici (SFE, Supercritical Fluid Extraction);
- Microestrazione liquido-liquido dispersiva (DLME, Dispersive Liquid-Liquid Microextraction);
- Estrazione con ultrasuoni (UAE, Ultrasound-assisted Extraction);
- Estrazione con microonde (MAE, Microwave-assisted Extraction).

Nell'ambito applicativo in esame le tecniche estrattive più comunemente, proficuamente, e praticamente utilizzate sono la LLE e la SPE. Tuttavia ogni laboratorio può applicare tecniche alternative, a condizione che ne venga dimostrata, mediante prove sperimentali da includere nella validazione dei diversi metodi analitici, l'efficienza estrattiva per i diversi analiti.

Durante la fase estrattiva viene fortemente raccomandato l'utilizzo di uno o più standard interni, come più approfonditamente riportato nel successivo paragrafo.

7.3.2 Tecniche analitiche per l'analisi qualitativa

L'univoca identificazione dei principi attivi di interesse (SSP, adulteranti, impurezze) o di sostanze diluenti presenti in reperti non biologici rappresenta una necessaria e fondamentale fase delle relative analisi tossicologico-forensi.

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, LC) o elettroforetico (elettroforesi capillare, EC) per l'analisi qualitativa di SSP ha trovato il consenso generale della comunità scientifica nazionale e internazionale. Pertanto:

Il GTFI raccomanda l'utilizzo della spettrometria di massa, accoppiata ad una tecnica cromatografica, come tecnica identificativa di elezione per l'analisi qualitativa.

L'impiego di uno o più standard interni è fortemente raccomandato nel caso di applicazioni analitiche esclusivamente qualitative, ed è obbligatorio nel caso di metodi di analisi quantitativa. Lo standard interno, infatti, garantisce un elevato controllo, sia in relazione ai processi estrattivi degli analiti di interesse dalla matrice originaria, sia in relazione alla separazione cromatografica ed al sistema di rivelazione, come quello spettrometrico di massa. Esso deve pertanto essere aggiunto al campione ed ai controlli prima di qualsiasi loro trattamento preparativo.

Nel caso di impiego di tecniche MS gli standard interni deuterati rappresentano da un punto di vista teorico la scelta ideale, ma nell'ambito dell'analisi di reperti non biologici, in virtù delle elevate

concentrazioni generalmente necessarie e dei conseguenti elevati costi, la scelta più opportuna è costituita dall'impiego, come standard interni, degli analoghi strutturali degli analiti di interesse, previa verifica di assenza di attività farmacologica e/o della loro presenza come principi attivi in preparati vegetali, semisintetici, sintetici di SSP. In ogni caso la stabilità degli standard interni durante tutto il trattamento e l'analisi del campione deve essere preventivamente accertata o verificata.

7.3.3 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 dal laboratorio, ma deve comunque attenersi alle indicazioni di eventuale normativa di riferimento, e comunque a quanto generalmente accettato dalla comunità scientifica internazionale.

Si definiscono di seguito i criteri minimi di identificazione per le modalità di analisi cromatografiche-spettrometriche di massa più diffuse:

Analisi cromatografica:

- Il tempo di ritenzione relativo dell'analita, rispetto al corrispondente standard interno, deve essere compreso entro $\pm 1\%$ (GC) o $\pm 2\%$ (LC) di quello prodotto dal corrispondente analita in un opportuno materiale di riferimento.

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 (materiale di riferimento o spettro di libreria) con intensità, relativamente al picco base, $\geq 10\%$;
- 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 invece 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 Monitoring, SIM):

- Devono essere monitorati 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. I frammenti ionici devono 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 ampiezza 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 \rightarrow ione prodotto e lo ione precursore residuo dopo frammentazione (surviving ion) deve essere rilevabile;
- Lo ione precursore può essere comune, purché i frammenti delle transizioni siano relazionabili a 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 (ad es. perdita di H₂O).

Analisi MS in scansione in modalità High-Resolution MS (HR-MS):

- In modalità di accoppiamento con cromatografia LC, devono essere effettuate, nelle migliori condizioni permesse di risoluzione ed accuratezza strumentali, a) le misure di massa accurata delle specie ioniche molecolari protonate (MH⁺); b) la comparazione dei pattern isotopici sperimentali e calcolati delle specie ioniche MH⁺; c) possibilmente l'esame della struttura fine dei pattern isotopici delle specie ioniche MH⁺ (discriminazione dei multipletti isotopici per i picchi isotopici M+1, M+2, M+3, ed in alcuni casi M+4).

Eccezioni a questi criteri minimi di identificazione devono trovare giustificazione nelle caratteristiche chimico-fisiche e/o strutturali degli analiti di interesse, ovvero nei limiti della tecnica di analisi strumentale utilizzata.

In termini generali, l'identificazione di una o più SSP in un determinato preparato, specialmente nel caso delle NSP, può/deve risultare dalla combinazione dei risultati di più tecniche analitiche basate anche su principi chimico-fisici diversi, principalmente di tipo cromatografico o MS ma anche spettroscopico (es. IR) o di risonanza magnetica nucleare (NMR). Si rammenta inoltre che è talora possibile, a scopo identificativo, modificare il comportamento cromatografico e le caratteristiche degli spettri MS delle SSP attraverso numerose reazioni di derivatizzazione.

Infine, ai fini della corretta interpretazione dei risultati dell'analisi qualitativa è necessario assicurarsi che non siano presenti interferenze derivanti da un possibile inquinamento in atto (es. tracce nel sistema cromatografico da analisi precedenti, altre fonti di interferenza). Questa verifica può essere realizzata analizzando campioni "blank" (es. solvente di estrazione, solvente di lavaggio, etc.) prima dell'analisi del campione incognito. L'assenza di segnali confondenti garantirà la validità della successiva analisi qualitativa. È raccomandata la conservazione di tutti i tracciati strumentali, compresi i campioni blank, eventualmente da utilizzare come evidenza in sede giudiziaria. Utilizzando tecniche MS 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).

L'esito dell'analisi qualitativa, per ogni tecnica analitica utilizzata, è da considerarsi positivo se sono verificate entrambe le seguenti condizioni:

- il segnale risultante dall'analisi del campione incognito è significativamente superiore (con un livello di confidenza di almeno il 95%) al Limite di Rivelabilità (LOD) del metodo analitico utilizzato;
- esiste un'alta sovrapposibilità tra il segnale strumentale risultante dall'analisi del campione incognito ed il segnale strumentale risultante dall'analisi di un materiale di riferimento o, in alternativa, con il segnale presente in una libreria digitale validata (es. spettri di massa), o, nel caso di strumentazione HR-MS, confrontando i dati teorici e sperimentali ottenuti nelle modalità analitiche suddescritte.

7.4 Analisi quantitativa

L'analisi quantitativa consiste nella determinazione del quantitativo percentuale ed assoluto di SSP (e talvolta, oltre che di principi attivi, anche di altri analiti di interesse come sostanze adulteranti o diluenti) presenti nel singolo reperto od in un insieme di reperti sottoposti ad analisi.

Le tecniche utilizzate per l'analisi quantitativa sono sostanzialmente quelle utilizzate per l'analisi qualitativa, per le quali si rimanda a quanto descritto nella precedente sezione. Considerata la buona sensibilità e la elevata riproducibilità analitiche, così come la relativa semplicità di utilizzo ed il limitato costo, è raccomandato, oltre alle tecniche basate sulla MS, l'utilizzo della GC accoppiata con la rivelazione FID (Flame Ionization Detector, rivelatore a ionizzazione di fiamma), almeno per la quantificazione della maggior parte delle SSP usualmente riscontrate. Altri sistemi di rivelazione adatti allo scopo consistono nel NPD (Nitrogen Phosphorus Detector, rivelatore azoto-fosforo) o, nel caso dell'impiego della LC, del rivelatore l'UV-Vis.

7.4.1 Criteri minimi di quantificazione

L'analisi quantitativa prevede l'allestimento di una opportuna curva di calibrazione per ogni analita da quantificare, in modo da comparare i segnali ottenuti dall'analisi di un campione incognito (ad es. aree dei picchi cromatografici dell'analita di interesse e del corrispondente standard interno) con i segnali ottenuti dall'analisi di una serie di campioni a concentrazione nota.

La curva di calibrazione dovrebbe essere tale da coprire una variazione di almeno un ordine di grandezza di segnale strumentale. Per quanto riguarda la scelta e le modalità di utilizzo dello standard interno valgono le raccomandazioni riportate nel paragrafo dedicato all'analisi qualitativa, al quale si rimanda.

Ai fini della corretta quantificazione è necessario che il segnale strumentale ottenuto dall'analisi del campione incognito sia significativamente superiore al segnale corrispondente al Limite Inferiore di Quantificazione analitica (LLOQ) determinato in fase di validazione del metodo, e comunque compreso nell'intervallo analitico della curva di calibrazione in uso.

Sono da ritenersi valide le raccomandazioni espresse per l'analisi qualitativa in merito alla verifica preventiva dell'assenza di interferenti/inquinanti. E' inoltre indispensabile disporre di stime di recupero medio di principio attivo ottenute su matrici analoghe o simili a quelle per le quali deve essere stimata la quantità assoluta di principio attivo. Nel caso siano osservati scostamenti significativi dai valori attesi (livello di confidenza di almeno il 95%) sarà necessario prima di tutto investigarne le cause ed agire su esse al fine dell'eliminazione dello scostamento osservato, e solo in ultima istanza tenere conto dello scostamento residuo (se ancora significativo) utilizzando dei fattori correttivi durante il computo finale del quantitativo assoluto di principio attivo. Una verifica di recupero dovrebbe essere eseguita periodicamente all'interno del controllo di qualità interno.

Il risultato di un'analisi quantitativa deve essere espresso in modo tale da escludere dubbi interpretativi, con unità di misura direttamente confrontabile con eventuali valori di riferimento e preferibilmente accettata dal Sistema Internazionale di Unità di Misura (SI).

7.5 Analisi comparativa

L'analisi comparativa consiste nella valutazione integrata dei risultati ottenuti da diverse tipologie di analisi (ad esempio morfologica, qualitativa e quantitativa) al fine di dedurre ed evidenziare elementi di similarità o di differenza significativa nel confronto tra due o più reperti, eventualmente richiesto per finalità giudiziarie.

L'analisi comparativa deve essere svolta prendendo in considerazione nell'ordine:

- Le caratteristiche fisiche e le proprietà organolettiche dei materiali (colore, odore, consistenza, forma, difetti e particolarità strutturali degli involucri e dei materiali contenuti).
- Il confronto dei risultati ottenuti dall'analisi qualitativa, verificando la presenza o l'assenza di principi attivi stupefacenti, adulteranti, diluenti, etc.
- I risultati dell'analisi quantitativa (contenuto percentuale dei vari principi attivi stupefacenti, adulteranti, diluenti, etc.), verificando la significatività di eventuali similarità e differenze riscontrate mediante opportuni test statistici. L'incertezza di misura associata ai risultati delle determinazioni quantitative utilizzate per tali confronti rappresenta un parametro fondamentale per l'affidabilità delle valutazioni comparative.
- Nel caso di reperti costituiti da piante di Cannabis o relativi preparati (marijuana, hashish, etc.) è opportuno valutare per fini comparativi anche il Rapporto Fenotipico (R) determinabile con la formula $R = (THC+CBN)/CBD$ dove THC (delta-9-Tetraidrocannabinolo), CBD (Cannabidiolo) e CBN (Cannabinolo) rappresentano i valori di concentrazione percentuale dei principali principi attivi cannabinoidi presenti nei reperti in esame.

8. Qualità dei risultati

8.1 Assicurazione della qualità

Per garantire la correttezza, la validità, e l'utilizzabilità in ambito tossicologico-forense delle determinazioni analitiche e dei relativi risultati, il laboratorio deve adottare un sistema organizzato di controllo interno delle strutture, della qualificazione e della formazione del personale, delle apparecchiature, dei metodi e delle procedure analitiche. E'auspicabile la nomina di un cosiddetto Responsabile della Qualità, a cui affidare compiti organizzativi di sistemi di sorveglianza e miglioramento dei requisiti di qualità del laboratorio.

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 che rispondono a dettati normativi e che spesso assumono rilevanza di prova giudiziaria. Devono quindi essere adottati meccanismi in grado d'identificare eventuali errori ed applicare conseguenti rimedi.

L'assicurazione della qualità coinvolge tutti i processi che si svolgono all'interno del laboratorio, dall'accettazione dei reperti, allo svolgimento delle analisi, alla validazione dei risultati ed alla refertazione degli stessi.

8.2 Controllo di qualità interno ed esterno

Il Controllo di Qualità Interno comporta una valutazione critica e continua di tutti i processi del laboratorio. Il controllo deve comprendere infatti tutte le fasi del protocollo analitico, dall'accettazione dei reperti all'emissione del referto analitico.

Il laboratorio deve disporre di procedure di controllo per monitorare la validità dei processi effettuati. I dati risultanti devono essere registrati in modo tale da rilevare tendenze in atto e permettere un'analisi statistica per la loro revisione. L'uso di carte e liste di controllo rappresentano strumenti importanti del controllo di qualità interno.

Il controllo di qualità interno deve riguardare almeno le seguenti fasi:

- Accettazione dei reperti (ad es. documentazione del caso, quantità e qualità dei reperti);
- Conservazione e sicurezza dei reperti (accesso ai dispositivi adibiti alla conservazione, sistemi di identificazione dei reperti);
- Strumentazione analitica (verifica di funzionamento, taratura, manutenzione ordinaria e straordinaria);
- Analisi (utilizzo di campioni di controllo da analizzarsi assieme a campioni reali e di carte di controllo);
- Refertazione (completezza della compilazione).

Opportune carte di controllo devono essere poste in uso per il monitoraggio delle prestazioni analitiche. Il laboratorio potrà utilizzare tali dati per la stima dell'incertezza di misura associata ai risultati delle determinazioni analitiche eseguite. Per una più approfondita trattazione della tematica in esame si rimanda alla guida citata a piè di pagina⁵.

I laboratori di tossicologia forense che effettuano determinazioni analitiche quali-quantitative di SSP dovrebbero inoltre partecipare ad uno o più circuiti inter-laboratorio per il Controllo Esterno della Qualità (ove esistenti, ed almeno per le procedure analitiche che rivestono carattere routinario), i quali prevedono il confronto dei risultati prodotti dal laboratorio con quelli di altri laboratori partecipanti al

⁵ Internal Quality Control - Handbook for Chemical laboratories (Trollboken - Troll book) (NT TR 569 - English - Edition 4), <http://www.nordtest.info>.

medesimo circuito. Usualmente ciò è realizzato attraverso la fornitura di campioni omogenei e stabili da parte di un soggetto terzo che raccoglie ed analizza statisticamente i risultati prodotti dai laboratori partecipanti. L'obiettivo principale di un circuito inter-laboratorio è l'auto-valutazione della qualità delle misurazioni analitiche eseguite e la possibilità di far emergere contributi di variabilità altrimenti non considerabili.

8.3 Validazione dei metodi di analisi

La validazione dei metodi analitici impiegati dal laboratorio consiste nell'ottenimento della conferma, sostenuta da evidenze oggettive, che i requisiti relativi ad una specifica utilizzazione o applicazione prevista sono stati soddisfatti.

La validazione dei metodi analitici deve essere effettuata precedentemente alla loro applicazione routinaria, sia per metodi sviluppati dal laboratorio che per quelli desunti, ed applicati in toto o in parte, dalla letteratura scientifica. La validazione è un processo continuo: ogni modificazione del sistema analitico rende necessaria una nuova fase di validazione.

La validazione di un metodo qualitativo deve includere almeno i seguenti parametri:

- Selettività/specificità analitica;
- Limite di rivelabilità (LOD).

La validazione di un metodo quantitativo deve includere almeno i seguenti parametri:

- Selettività/specificità analitica;
- Linearità/intervallo analitico;
- Limite di rivelabilità (LOD);
- Limite inferiore e superiore di quantificazione (LLOQ e ULOQ);
- Precisione (almeno ripetibilità e precisione intermedia intra-laboratorio);
- Esattezza;
- Recupero;
- Robustezza.

Per una più approfondita trattazione della tematica in esame si rimanda alla guida citata a piè di pagina⁶.

8.4 Incertezza di misura

L'incertezza di misura è un parametro associato al risultato di una misurazione che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando. Tutte le misure sono affette da incertezza ed è compito del laboratorio produrre una stima della incertezza associata alle misurazioni eseguite. Nell'ambito delle determinazioni quantitative di SSP in campioni non biologici la stima dell'incertezza di misura può essere determinante, per esempio nel confronto con i limiti quantitativi massimi delle SSP indicati nel D.M. 11 aprile 2006, o nel confronto, ai fini di un'analisi comparativa, tra le concentrazioni di stupefacenti determinate in differenti reperti.

In termini generali, l'accuratezza di una misura è funzione della *precisione* e dell'*esattezza* del metodo che si utilizza per eseguire la misura. In particolare, un metodo è preciso se, ripetendo più volte la stessa misura, fornisce risultati concordanti tra loro, ovvero, se i valori ottenuti risultano prossimi uno all'altro; mentre un metodo esatto è un metodo che fornisce valori sperimentali in accordo a valori teorici o attesi per quella misura. Già considerando i contributi provenienti dallo studio di questi due aspetti (precisione ed esattezza) è possibile ottenere una stima dell'incertezza associata alle misure eseguite, e quindi indirettamente determinarne l'accuratezza.

⁶ Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. <http://www.eurachem.org>.

Numerose guide riportano approcci teorici che regolano il computo dell'incertezza complessiva associata ad una misura⁷ e non è obiettivo di queste Linee Guida riportare una trattazione dettagliata dell'argomento. Tuttavia, è di fondamentale importanza per i laboratori che eseguono accertamenti analitici su reperti non biologici che le maggiori fonti di variabilità che interessano la misurazione siano identificate, stimate ed incluse nel computo complessivo dell'incertezza di misura, compresi i contributi legati alla fase di campionamento che di fatto possono incidere in misura non trascurabile e spesso prevalente sull'incertezza totale⁸.

È inoltre indispensabile che, una volta determinata, la stima dell'incertezza venga periodicamente convalidata. Ciò può essere ottenuto attraverso il regolare confronto con un campione di controllo adeguato, preferibilmente un materiale di riferimento certificato (CRM), e attraverso la rivalutazione periodica delle prestazioni del metodo utilizzato.

Le stime di incertezza associata ai risultati quantitativi ottenuti dovranno poi essere riportate nel referto analitico, assumendo particolare importanza come già visto nell'eventuale confronto dei risultati con i limiti quantitativi di legge⁹.

9. Refertazione

Il rapporto analitico, o referto, deve essere prodotto in formato cartaceo e consegnato, eventualmente incluso in o allegato ad elaborati di consulenza tecnica o perizia, al richiedente l'accertamento (polizia giudiziaria, pubblico ministero, giudice). È ammesso l'invio aggiuntivo del rapporto analitico in formato elettronico 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.

Il rapporto analitico deve contenere almeno i seguenti elementi:

- Titolo;
- Dati identificativi del laboratorio;
- Numero identificativo 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;
- Dati identificativi del richiedente (AG e PM richiedente, PG operante);
- Numero di Procedimento Penale ed eventualmente nome del o degli indagati;
- Tipo e finalità degli accertamenti analitici richiesti;
- Data di accettazione dei reperti;
- Descrizione dettagliata dei reperti con riferimento ad eventuale documentazione fotografica o altra documentazione eventualmente allegata (ad es. verbale di campionamento e consegna);
- Tecniche analitiche utilizzate;
- Risultati analitici quali-quantitativi con relative unità di misura e relative stime di incertezza associata ai risultati quantitativi ottenuti¹⁰;

⁷ ISO/IEC 13005-Guide to the expression of Uncertainty in Measurement; EURACHEM/CITAC Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2007; Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, NT TR 537. Available at: www.nordtest.info; Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation. Technical Report No. 1/2007. www.eurolab.org.

⁸ EURACHEM/CITAC Guide, Measurement uncertainty arising from sampling. www.eurachem.org; Drugs Sampling Guideline UNODC-ENFSI. <http://www.enfsi.eu/>.

⁹ Zamengo L., Frison G., Gregio M., Orrù G., Sciarrone R., Determination of illicit drugs in seized materials: Role of sampling and analysis in estimation of measurement uncertainty. *Forensic Sci Int.* 2011 May 20;208(1-3):108-23;
Zamengo L., Bettin C., Frison G., Sciarrone R., Drugs Work Book (DWB): A tool for the analysis of illicit drugs in seized materials. *Sci Justice.* 2013 Dec;53(4):415-24.

- Commento interpretativo dei risultati analitici sotto il profilo tossicologico-forense, ed in relazione alla normativa vigente (ad es. confronto con i limiti quantitativi di legge di cui al D.M. 11 aprile 2006);
- Legenda contenente abbreviazioni o terminologie inusuali;
- Data di refertazione;
- Nome, qualifica e firma dell'incaricato ad effettuare le analisi come ausiliario di PG, CT o perito (usualmente il direttore o un dirigente del laboratorio).

10. Breve glossario metrologico

Accuratezza

Grado di concordanza tra un valore misurato e il valore vero di un misurando. L'accuratezza di misura descrive quanto un singolo risultato di misura è vicino al valore vero. L'accuratezza include quindi sia l'effetto della precisione che dell'esattezza. All'accuratezza non può essere attribuito un valore numerico. Si dice che i risultati di misura sono "più accurati" quando gli errori di misura, e quindi l'incertezza di misura, sono minori. L'accuratezza di misura non può fornire un'indicazione quantitativa dell'affidabilità dei risultati di misura. A tale scopo è necessaria una stima dell'incertezza di misura.

Bias (scostamento)

(vedi Esattezza)

Campione

Sottoinsieme di una popolazione costituita da una o più unità (elementi della popolazione).

Campione analitico (aliquota)

Porzione del campione impiegata per l'effettuazione dell'analisi.

Campione composito

Campione rappresentativo usualmente preparato da un materiale eterogeneo. Se il materiale consiste di regioni distinte, il campione composito è ottenuto prelevando porzioni da ciascuna regione, con quantità relative proporzionali alla dimensione della regione stessa.

Campione bianco (o bianco)

Campione che non presenta concentrazione analitica rivelabile per la sostanza di interesse (inferiore al Limite di Rivelabilità)

Campionamento

Atto di prelievo o di costituzione del campione.

Cifre significative

Le cifre significative sono rappresentate dal minimo numero di cifre richieste per esprimere un valore in notazione scientifica senza un significativo aumento di incertezza (perdita di accuratezza). La loro definizione segue il principio di non indicare più cifre di quelle giustificate dalla sensibilità della misurazione o di qualsiasi altro processo abbia portato al numero indicato.

¹⁰ ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories; Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUGS) Recommendations. 4th edition, 2008

- la cifra più significativa è sempre la prima da sinistra che sia diversa da zero;
- la cifra meno significativa in un valore intero, è la prima da destra che sia diversa da zero (se non diversamente esplicitato); in un valore con una parte frazionaria, è l'ultima cifra a destra, anche se si tratta di uno zero;
- le cifre significative sono tutte quelle comprese tra la più significativa e la meno significativa (es. 0,00057 ha due cifre significative).

Coefficiente di Variazione (CV) o Deviazione Standard Relativa

Indice di dispersione delle misure analitiche dato dal rapporto percentuale della deviazione standard di una serie di misurazioni eseguite e il valore della media aritmetica di tali misurazioni.

Curva di calibrazione

Valutazione grafica e matematica della relazione esistente tra quantità o concentrazione di un analita e il segnale da esso prodotto.

Deviazione standard (o scarto tipo)

La deviazione standard è un indice di dispersione delle misure sperimentali, vale a dire una stima della variabilità di una popolazione di dati o di una variabile casuale.

Errore di misurazione

Valore misurato di una grandezza meno un valore di riferimento di una grandezza. Nessuna misura è perfetta; l'azione stessa del misurare modifica il sistema sottoposto a misurazione. In pratica, questa situazione è rappresentata in termini di un errore di misura, di cui è affetta ogni singola misura. In linea di principio, l'errore di misura è rappresentato dalla differenza tra il valore misurato della grandezza e un valore di riferimento della grandezza. In pratica, non è possibile conoscere l'errore di misura per una singola misura su un campione di prova, poiché, in questo caso, il valore di riferimento (della grandezza) è il valore vero (valore vero della grandezza) del misurando, che non è noto. L'errore di misura consiste di due componenti: sistematico e casuale, che rappresentano rispettivamente, la variazione costante o prevedibile e la variazione non prevedibile in una serie di misure ripetute.

Esattezza della misura

Grado di concordanza tra la media di un numero infinito di valori misurati ripetuti e un valore di riferimento. L'esattezza esprime l'ipotetica capacità di una procedura di misura di produrre risultati prossimi a valori di riferimento attesi per quella grandezza, quali il valore di un materiale di riferimento certificato (MRC). L'esattezza non è una grandezza e quindi non può essere espressa in modo numerico. Tuttavia, l'esattezza varia in modo inverso all'errore sistematico che può essere valutato come scostamento di misura (bias). Lo scostamento può anche essere presentato come il rapporto tra il valore misurato e il valore di riferimento della grandezza.

Ove applicabile, l'effetto di errori sistematici noti sui risultati di misura può essere rimosso introducendo una correzione basata sulla valutazione dello scostamento. Tuttavia, ogni fattore utilizzato per fare una correzione avrà anche un'incertezza associata. Una valutazione dello scostamento nei risultati di misura prodotti da un laboratorio può essere ottenuta misurando più volte il valore della grandezza di uno o più materiali di riferimento in condizioni di ripetibilità o in condizioni di precisione intermedia, e calcolando il valore medio. Lo scostamento è quindi la differenza tra il valore medio ottenuto ed il valore di riferimento della grandezza. Si noti che ci sarà un'incertezza di misura associata al valore dello scostamento dovuta alle incertezze associate sia al valore medio che al valore di riferimento della grandezza.

Falso negativo

Risultato del test che indica che un analita è assente, quando, in effetti, è presente al di sopra del Limite di Rivelabilità stabilito per l'analita in questione.

Falso positivo

Risultato del test che indica che un analita è presente, quando, in effetti, non è presente o è presente in una quantità inferiore al Limite di Rivelabilità.

Grandezza

Proprietà di un fenomeno, corpo, o sostanza, che può essere espressa quantitativamente mediante un numero e un riferimento. Quello di grandezza è un concetto fondamentale in metrologia e si applica a tutte le discipline legate alla misurazione. La definizione individua una grandezza come qualunque proprietà che abbia una dimensione (ampiezza) che possa essere valutata mediante la misurazione.

Incertezza di misura

Parametro, non negativo, che caratterizza la dispersione dei valori che sono attribuiti a un misurando, sulla base delle informazioni utilizzate. L'incertezza di misura fornisce un'indicazione quantitativa della qualità di un risultato di misura. Questa definizione esprime il fatto che i parametri utilizzati per descrivere la dispersione delle distribuzioni, a esempio gli scarti tipo, sono di solito positivi. Ci sono molti approcci per valutare l'incertezza di misura e questi sono descritti in letteratura. Le stime dell'incertezza di misura possono essere espresse in modi diversi, ad esempio come uno scarto tipo o come un intervallo di fiducia. Tuttavia, per essere in grado di combinare diverse stime dell'incertezza queste devono essere espresse nella stessa forma, quindi può essere necessario convertirle. In base alle linee guida ISO, le stime dell'incertezza dovrebbero essere espresse come incertezze tipo (vedi sotto) prima di essere combinate. Nei certificati di analisi, rapporti di prova ecc., la lettera u indica l'incertezza. Tuttavia, ci sono diverse forme d'incertezza:

$u(x_i)$ – l'incertezza tipo per la grandezza x_i è un'incertezza espressa come scarto tipo;

$u_c(y)$ – l'incertezza tipo composta per il misurando, è una combinazione matematica di diverse incertezze tipo singole;

U – l'incertezza estesa è normalmente quella che il laboratorio riporta all'utente.

L'incertezza estesa identifica un intervallo all'interno del quale si ritiene che il valore del misurando sia presente con un livello di fiducia maggiore. Il valore di U è ottenuto moltiplicando l'incertezza tipo composta $u_c(y)$ per un fattore di copertura k , cioè $U = k \cdot u_c$. La scelta del fattore k si basa sul livello di fiducia desiderato. Queste incertezze sono spesso espresse in relazione al valore misurato della grandezza, ad esempio come un'incertezza tipo relativa.

Limite di rivelabilità (LOD)

La più piccola quantità di un analita in un campione che determina un segnale distinguibile dal segnale prodotto da un controllo negativo (o campione bianco). È pratica comune calcolare il limite di rivelabilità per una procedura di misura moltiplicando uno scarto tipo, s (ottenuto dai risultati dell'analisi di un campione bianco o di un campione che contiene una minima concentrazione dell'analita) per un fattore appropriato (solitamente pari a 3). La scelta del fattore moltiplicativo si basa su motivazioni statistiche. Il limite di rivelabilità è un valore misurato, ottenuto con una procedura di misura assegnata, in base al quale risulta essere β la probabilità di decidere erroneamente che il componente osservato in un materiale è assente, essendo stabilito che deve essere α la probabilità di dichiararne erroneamente la presenza. In assenza di altre indicazioni, la IUPAC raccomanda valori di α e β uguali a 0.05.

Limite di quantificazione (inferiore, LLOQ, o superiore, ULOQ)

La concentrazione minima (limite di quantificazione inferiore) o massima (limite di quantificazione superiore) di un analita che può essere determinata attraverso una certa procedura analitica con una specificata incertezza.

Intervallo di linearità

Intervallo, compreso nell'intervallo di misura, in cui la risposta strumentale varia linearmente con la concentrazione di analita.

Intervallo di misura

Insieme dei valori di grandezze della stessa specie che possono essere misurate da un determinato strumento di misura, o sistema di misura, con una incertezza strumentale specificata, in condizioni d'uso definite. All'interno dell'intervallo di misura, le grandezze possono essere misurate con un'incertezza specificata usando una determinata procedura di misura. Un'altra espressione comunemente utilizzata per questo concetto è: "campo di misura" (working range). Come limite inferiore dell'intervallo di misura spesso si utilizza il limite inferiore di quantificazione (LLOQ). Il limite superiore è di solito determinato da un cambiamento inaccettabile dell'incertezza di misura o della sensibilità

Materiale di riferimento (MR) o Campione di controllo

Materiale, sufficientemente omogeneo e stabile in riferimento a proprietà specificate, stabilito essere idoneo per l'utilizzo previsto in una misurazione o nell'esame di proprietà nominali.

Materiale di riferimento certificato (MRC)

Materiale di riferimento caratterizzato da una procedura metrologica valida per una o più proprietà specificate, accompagnati da un certificato che fornisce il valore della proprietà specificata, la sua incertezza associata, e una dichiarazione di riferibilità metrologica.

Misurando

Grandezza che si intende misurare.

Misurazione

Processo volto a ottenere sperimentalmente uno o più valori che possono essere ragionevolmente attribuiti a una grandezza. Una misurazione è costituita da una serie di azioni (fasi, stadi) che avvengono in maniera definita. Alcune misurazioni sono costituite da una singola fase, altre hanno più stadi.

Popolazione

La totalità di elementi o di unità di materiale in esame.

Precisione

Grado di concordanza tra valori ottenuti da un certo numero di misurazioni ripetute dello stesso oggetto o di oggetti simili eseguite in condizioni specificate. La precisione di misura è in relazione all'errore casuale di misura ed è la misura di quanto i risultati sono vicini tra loro. I risultati di misura non possono essere corretti per rimuovere l'effetto dell'errore casuale ma l'ampiezza dell'errore casuale può essere ridotta eseguendo misure in replicato e calcolando il valore medio. La precisione di misura è espressa numericamente mediante misure di imprecisione come lo scarto tipo calcolato da risultati ottenuti eseguendo misure replicate su un materiale idoneo e in condizioni specificate.

Sono definite tre condizioni di misura: condizioni di ripetibilità, condizioni di ripetibilità intermedia e condizioni di riproducibilità. Le stime della ripetibilità di misura e della ripetibilità intermedia di misura si ottengono all'interno del laboratorio. La condizione di ripetibilità di misura si riferisce a misure eseguite su aliquote dello stesso materiale da un solo operatore, utilizzando la stessa procedura di misura, nelle stesse condizioni operative in un breve periodo di tempo. La ripetibilità di misura è spesso utilizzata per fornire una stima della variabilità nei risultati all'interno della stessa corsa analitica. In condizioni di ripetibilità intermedia di misura, le misure sono eseguite su aliquote dello stesso materiale utilizzando la stessa procedura, ma su un periodo di tempo lungo e possibilmente da parte di diversi operatori che utilizzano apparecchiature differenti. Poiché la

ripetibilità di misura riflette solo la variazione nei risultati in un periodo di tempo breve è probabile che sottostimi la variabilità nei risultati ottenuti quando la procedura di misura è utilizzata di routine. La ripetibilità intermedia di misura fornisce una valutazione più realistica della variabilità a lungo termine dei risultati di misura nel laboratorio. La condizione di riproducibilità di misura si riferisce a misurazioni eseguite sulla stessa porzione dello stesso materiale da diversi operatori che lavorano in laboratori diversi.

Riferibilità

Proprietà di un risultato di misura per cui esso è posto in relazione a un riferimento attraverso una documentata catena ininterrotta di tarature, ciascuna delle quali contribuisce all'incertezza di misura. La maggior parte delle analisi chimiche richiedono il confronto del risultato ottenuto dal laboratorio con i valori ottenuti in luoghi e tempi diversi, come ad esempio un valore certificato, un limite legale, oppure un risultato ottenuto con una procedura di misura differente. La riferibilità metrologica (riferibilità) è fondamentale affinché i risultati di misura abbiano significato in quanto contribuisce a dimostrare che i confronti di cui sopra siano validi da un punto di vista scientifico.

Ripetibilità

(Vedi Precisione)

Riproducibilità (di risultati delle misurazioni)

(Vedi Precisione)

Risultato di misura

Il risultato di una misura è composto da due parti quantitative: i) il valore misurato della grandezza, di solito la media o la mediana di risultati di misurazioni individuali, e ii) l'incertezza di misura. Se quando si riporta il risultato si include anche l'incertezza, questo può essere presentato nel formato (valore \pm incertezza) e unità di misura.

Robustezza

Caratteristica di un metodo analitico riferita alla capacità di produrre nel tempo risultati validi e stabili.

Selettività del sistema di misura

Attitudine del sistema di misura, impiegato nell'ambito di una procedura di misura specificata, a fornire per uno o più misurandi dei corrispondenti valori misurati indipendenti da altri misurandi o altre grandezze presenti nella sostanza in esame.

Taratura

Operazione eseguita in condizioni specificate, che in una prima fase stabilisce una relazione tra i valori di una grandezza, con le rispettive incertezze di misura, forniti da campioni di misura e le corrispondenti indicazioni, comprensive delle incertezze di misura associate, e in una seconda fase usa queste informazioni per stabilire una relazione che consente di ottenere un risultato di misura a partire da un'indicazione. Il concetto di taratura nell'analisi chimica è spesso associato alla taratura di uno strumento di misura o di un sistema di misura .

Validazione

Procedura nella quale si verifica che i requisiti specificati sono adatti all'utilizzo previsto. La verifica implica la progettazione di una serie di esperimenti per assegnare valori ai parametri di prestazione; questa è la "evidenza oggettiva". I valori ottenuti devono soddisfare i requisiti stabiliti per i risultati analitici.

Verifica

Messa a disposizione dell'evidenza oggettiva che un dato elemento soddisfa uno o più requisiti specificati. Il concetto di verifica è strettamente correlato a quello di validazione.

11. Bibliografia

Bertol E., *Analitica Tossicologica: aspetti tecnici interpretativi, giuridici e deontologici*, Soc. Editrice Esculapio, 2001.

Bertol E., Lodi F., Mari F., Marozzi E., *Trattato di Tossicologia Forense*, Cedam, Padova, 2000.

Cole M.D., *The analysis of controlled substances*, Wiley, 2003.

Ellison S.L.R., Barwick V.J., Duguid Farrant T.J., *Practical Statistics for the Analytical Scientist: A Bench Guide*, RSC Publishing, 2009.

EURACHEM/CITAC Guide, *Measurement uncertainty arising from sampling*, 2007 (www.eurachem.org).

EURACHEM/CITAC Guide, *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 2012 (www.eurachem.org).

EURACHEM/CITAC Guide, *Use of uncertainty information in compliance assessment*, 2007 (www.eurachem.org).

EUROLAB, *Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation*. Technical Report No. 1/2007 (www.eurolab.org).

Fucci N., De Giovanni N., *Il Laboratorio di Tossicologia Forense*, Ed. Selecta Medica, Pavia, 2007.

Gagliano Candela R., *Tossicologia Forense*, Giuffrè Editore, Milano, 2001.

ISO/ENV 13005:2000, *Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*.

ISO/IEC 17025:2005, *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*.

JCGM, *International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated*, JCGM 200:2012.

Lodi F., Marozzi E., *Tossicologia forense e chimica*, Cortina Libreria Milano, 1982.

Mari F., *Tossicologia forense. Aspetti chimici e legali*, Cedam, Padova, 1986.

NORDTEST, *Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories*, Technical Report No. 537, 2012 (www.nordtest.info).

NORDTEST, *Internal Quality Control - Handbook for Chemical laboratories*, Technical Report No. 569, 2012 (www.nordtest.info).

Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG) Recommendations, Version 7.1, 2016 (<http://www.swgdrug.org>).

UNODC-ENFSI, Guidelines on Representative Drug Sampling, 2009 (<http://www.enfsi.eu/>).

UNODC-ENFSI, Guidelines on Sampling of Illicit Drugs for Quantitative Analysis, 2015 (<http://www.enfsi.eu/>).

UNODC, Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products, 2009

Zamengo L., Frison G., Gregio M., Orrù G., Sciarrone R., Determination of illicit drugs in seized materials: Role of sampling and analysis in estimation of measurement uncertainty. *Forensic Sci Int.* 2011 May 20;208(1-3):108-23.

Zamengo L., Bettin C., Frison G., Sciarrone R., Drugs Work Book (DWB): A tool for the analysis of illicit drugs in seized materials. *Sci Justice.* 2013 Dec;53(4):415-24.