



ASST SPEDALI CIVILI DI BRESCIA
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BRESCIA
U.O.C. MEDICINA LEGALE¹

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO
DIPARTIMENTO DI CHIMICA²



Are the NPS used? An extensive investigation in Northern Italy based on hair analysis

C. Calvetti^{1,2}, A. Salomone¹, A. Verzeletti², P. Begni², S. Vezzoli²



SoHT - GTFI Joint Meeting
Verona 8-10 Giugno 2022

Analisi delle NSP su matrice cheratinica



Matrice cheratinica



Finestra diagnostica elevata



Studi epidemiologici



Diffusione NSP



Scopo



- **Validazione** del metodo per 115 NSP
- Studio epidemiologico su **847 campioni** di matrice cheratinica di soggetti di età 18-40 anni
- Valutazione **pluriassunzione**

Procedura analitica



○ Lavaggio campione → trattamento con soluzione organica: **idrolisi** di 1h 100°

○ **UPLC-MS/MS**

Cromatografo Waters Acquity I-Class: UPLC

Spettrometro Waters XEVO TQ-XS:

triplo quadrupolo con ESI+



○ Analisi in **MRM**

Metodo cromatografico



- Corsa cromatografica: **10 minuti**
- **Classi:** cannabinoidi, catinoni, oppioidi, fenilettilamine, triptamine, arilcicloesilammine e benzodiazepine

Validazione



○ **Calibrazione**

- intervalli: A. 0-2000 pg/mg → ketamina e norketamina
B. 0-800 pg/mg → benzodiazepine, oppioidi, cannabinoidi e altri
C. 0-200 pg/mg → catinoni e JWH
D. 0-40 pg/mg → MDMB-4en-PINACA

- **LOD e LOQ** → sensibilità elevata: LOD= **0.9** pg/mg (0.02-3.1 pg/mg)
LOQ= **1.6** pg/mg (0.05-10.4 pg/mg) 6

Validazione



- **Accuratezza (ERR%)** → limite di accettabilità del 20% rispettato
- **Precisione (RSD%)** → limite di accettabilità del 10% rispettato
- **Recupero, effetto matrice ed efficienza del processo** → alcune criticità per i catinoni sintetici

Controllo qualità: NPS-LABVEQ



NSP HSB	CONC. ATTESA (ng/mg)
Ketamina	0.86 ± 0.05
Norketamina	0.98 ± 0.10
2-fluoro descloroketamina	0.56 ± 0.02
5-fluoro ADB	0.78 ± 0.06
5-fluoro CUMYL-PeGACLONE	1.14 ± 0.12
5-fluoro MDMB-PICA	0.89 ± 0.09
AB-FUBINACA	0.98 ± 0.08
Etilone	0.23 ± 0.02
Eutilone	0.22 ± 0.02

NSP HSC	CONC. ATTESA (ng/mg)
Fentanil	0.87 ± 0.08
Furanil fentanil	1.30 ± 0.11
Isobutiril fentanil	0.45 ± 0.04
Isotonitazene	0.77 ± 0.07
Ocfentanil	0.68 ± 0.07

Campioni reali



	2020		2021		TOTALE
	MASCHI	FEMMINE	MASCHI	FEMMINE	
SERT	39	4	200	40	283
PATENTI	361	30	153	20	564
TOTALE	400	34	353	60	847
	434		413		

○ Età: 18-40 anni

○ Anni: 2020-2021

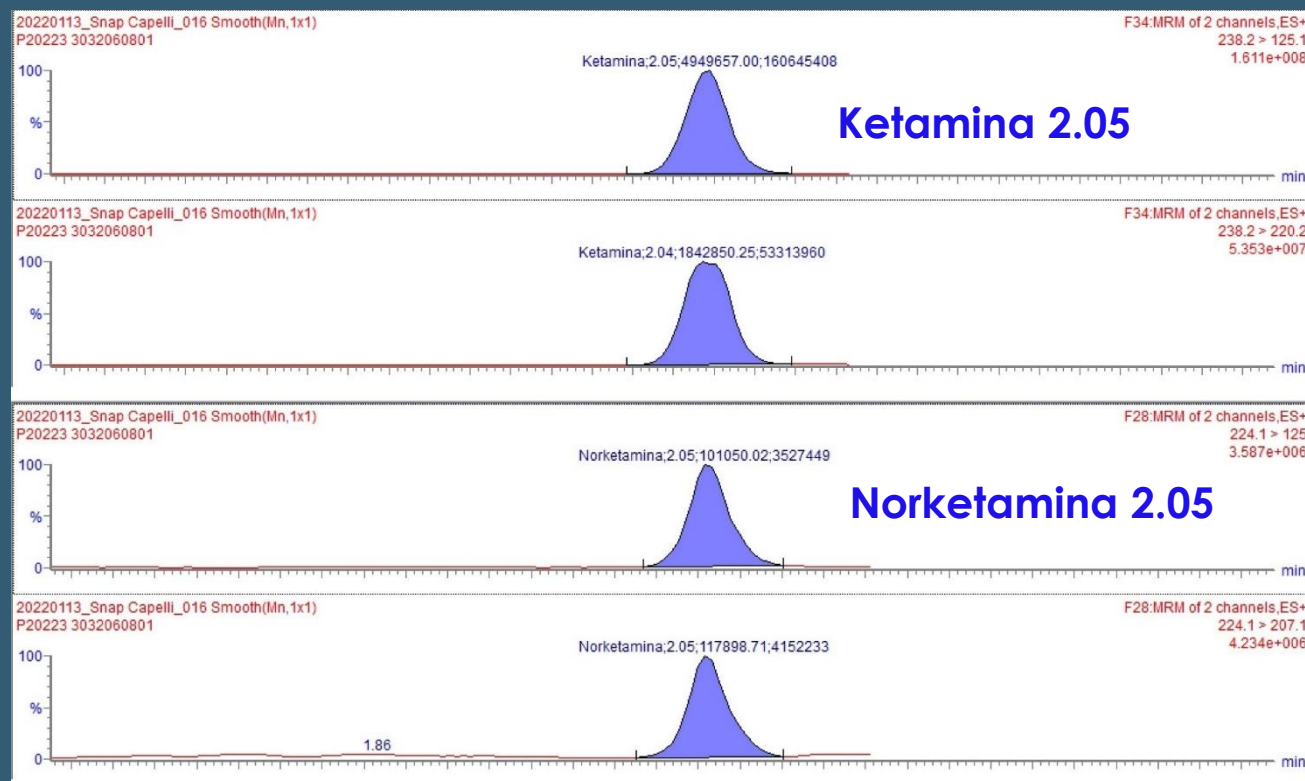
○ Sesso: maschi e femmine

○ Provenienza: SerD BS e BG

Risultati

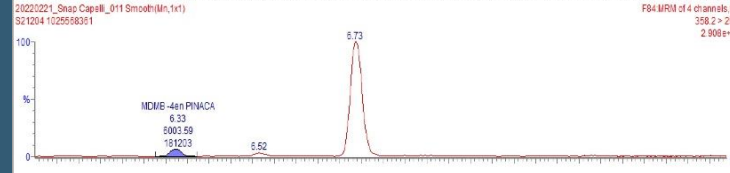
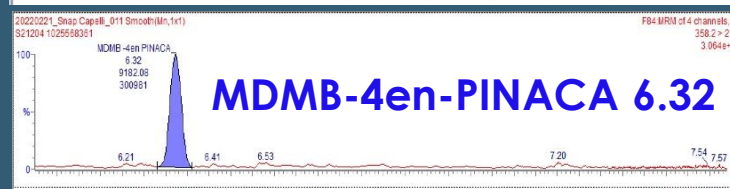
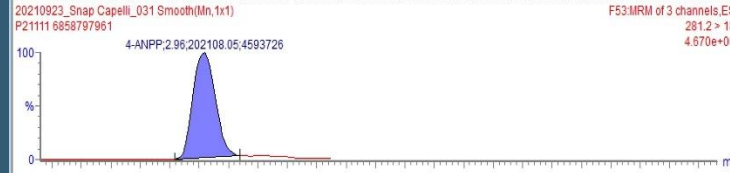
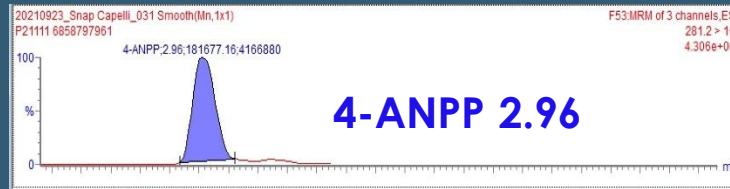
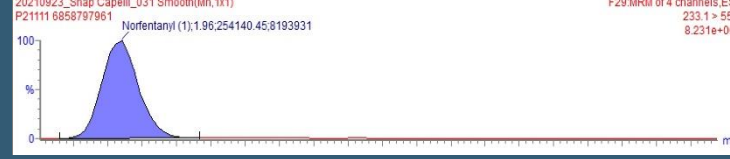
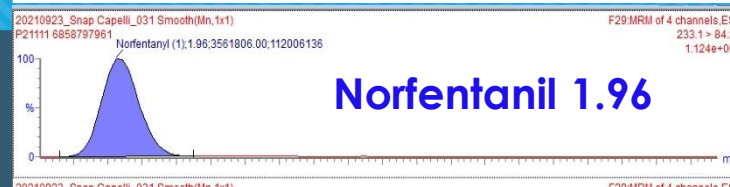
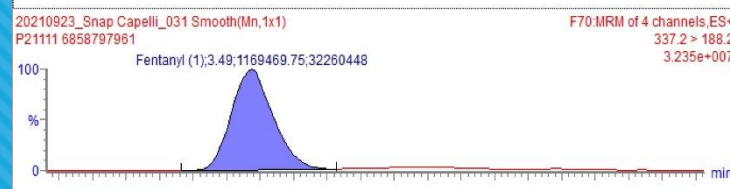
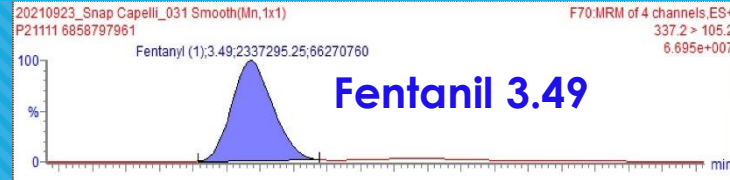


NSP	POSITIVITÀ (> LOQ)
Ketamina	56
Norketamina	35



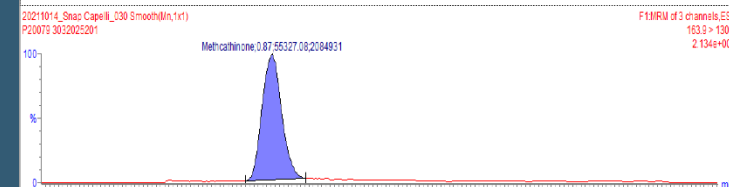
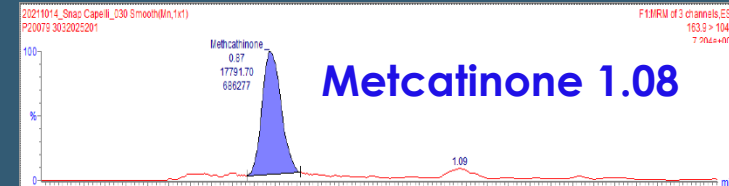
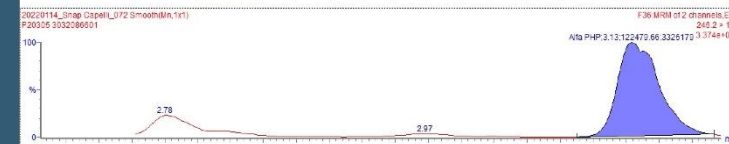
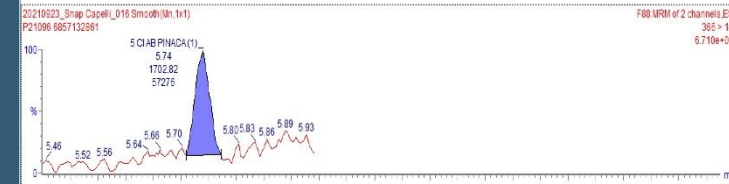
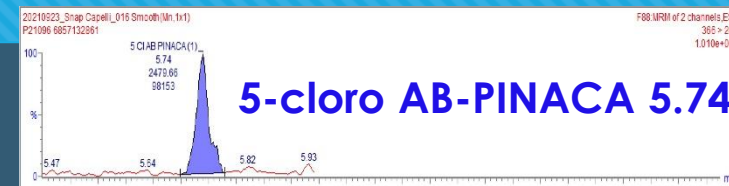
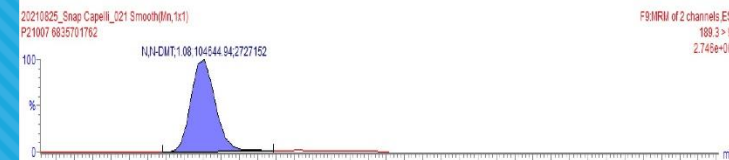
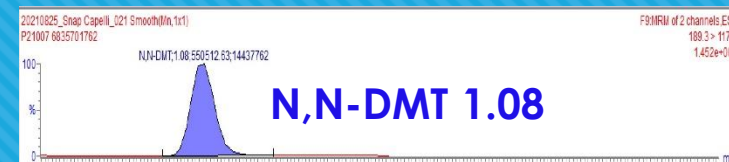
Risultati

NSP	POSITIVITÀ (> LOQ)
Fentanil	6
Norfentanil	3
4-ANPP	3
MDMB-4en-PINACA	3



Risultati

NSP	POSITIVITÀ (> LOQ)
N,N-DMT	2
5-cloro AB-PINACA	2
α-PHP	1
Metcatinone	1

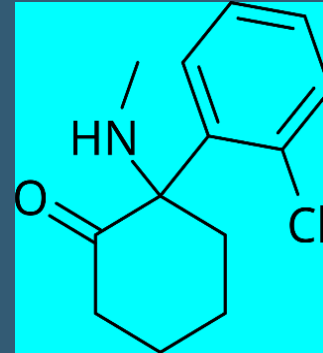


Ketamina e norketamina



○ **Cut-off** SoHT 200 pg/mg

○ Positività alla **ketamina** → in base al cut-off (200 pg/mg): **21**
↘ in base al LOQ (0.9 pg/mg): **56**



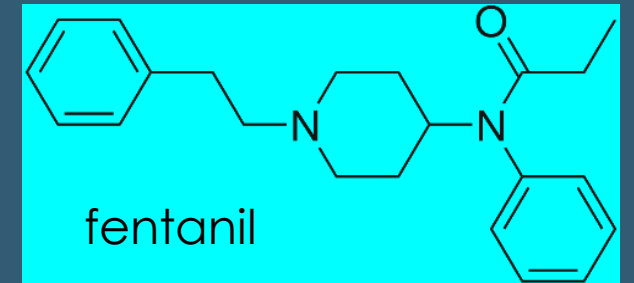
○ Positività alla **norketamina** → in base al cut-off proposto (100 pg/mg): **11**
↘ in base al LOQ (0.2 pg/mg): **35**

○ **Singola assunzione** → variabilità interindividuale incorporazione

Fentanil, norfentanil e 4-ANPP



- **Positività** in base ai LOQ → fentanil (0.2 pg/mg): **6**
norfentanil (0.9 pg/mg): **3**
4-ANPP (0.1 pg/mg): **3**



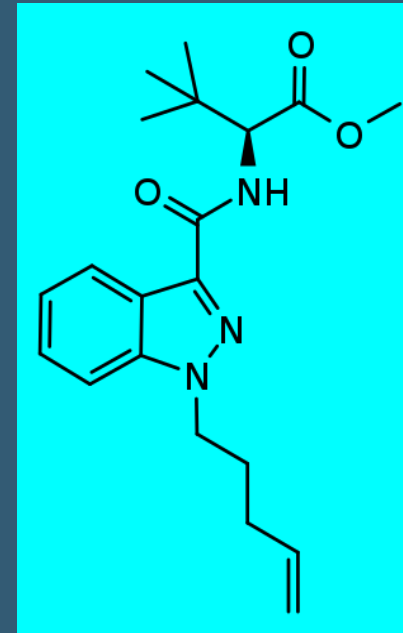
- **CASO**: donna di 39 anni, Commissione Patenti Brescia 2021
segmenti prossimale (0-3 cm) e distale (3-6 cm)

	FENTANIL (ng/mg)	NORFENTANIL (ng/mg)	4-ANPP (ng/mg)
0-3 cm	3,25	0,46	0,34
3-6 cm	5,66	1,26	0,61

MDMB-4en-PINACA



- **Allerte del 2020-2021** → molecola aggiunta nel metodo in un secondo momento
- LOQ 0.05 pg/mg



	PROVENIENZA	MDMB-4en-PINACA (pg/mg)	THC (pg/mg)	CBD (pg/mg)
SOGGETTO 1	SerD BG 2021	0,45	NEG	70
SOGGETTO 2	SerD BG 2021	0,89	NEG	190
SOGGETTO 3	SerD BG 2021	0,19	291	20

Altre positività



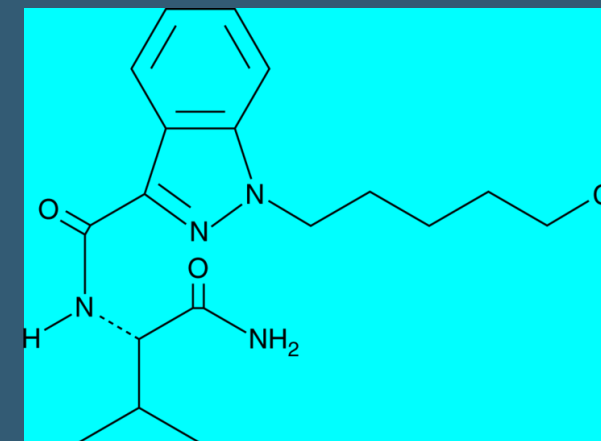
○ *N,N*-DMT



- LOQ 0.1 pg/mg
- **SOGGETTO 1**: 793 pg/mg positivo anche alla ketamina
- **SOGGETTO 2**: 40 pg/mg

Commissione Patenti Brescia 2021
Maschi 25 e 35 anni

○ *5*-cloro AB-PINACA



- LOQ 2.7 pg/mg
- **SOGGETTO**: segmenti prossimale e distale 32 e 30 pg/mg positivi anche alla cocaina

Commissione Patenti Brescia 2021
Maschio 40 anni

Altre positività



○ *α*-PHP



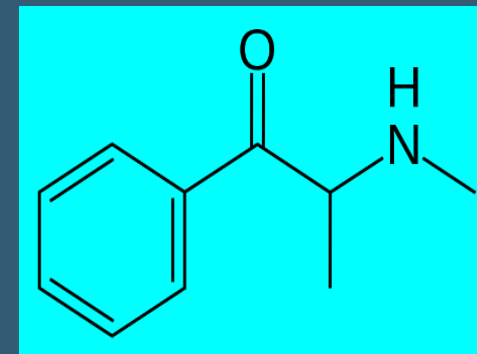
- LOQ 0.2 pg/mg
- 497 pg/mg positivo alla cocaina



Commissione Patenti Brescia 2020

Maschio 35 anni

○ Metcatinone



- LOQ 1.0 pg/mg
- 89 pg/mg negativo a tutte le altre sostanze



Commissione Patenti Brescia 2020

Maschio 23 anni

Conclusioni



- Metodo validato con **sensibilità** elevata
- Analisi di **847 campioni reali**
- **8.4%** dei campioni positivi (>LOQ) ad almeno una NSP (**1.8%** senza ketamina)
- Rilevante presenza di **ketamina**: 21 positivi (> cut-off)

Prospettive future



○ Dati sequestri → circolazione NSP in Italia

○ Studi futuri



Ampliamento fascia d'età/tipologia soggetti

Migliorie e **integrazioni** del metodo

Verifica cambiamento abitudini di **consumo**





Grazie per l'attenzione