

COCAINA NELLE ACQUE DI SUPERFICIE: UN NUOVO STRUMENTO EVIDENCE-BASED PER MONITORARE L'ABUSO COMUNITARIO DI SOSTANZE*

Ettore Zuccato*, Chiara Chiabrando*, Sara Castiglioni* **, Davide Calamari**, Renzo Bagnati*, Silvia Schiarea*, Roberto Fanelli*

* Dipartimento di Scienze Ambientali, Istituto di Ricerca Farmacologica Mario Negri, Milano

** Dipartimento di Biotecnologia e Scienze Molecolari, Università di Insubria, Varese

ABSTRACT

Razionale: l'uso di cocaina nel mondo sembra essere in aumento in alcune aree urbane, ma non è facile determinare la reale estensione di questo fenomeno. Le tendenze nell'abuso di sostanze vengono attualmente stimate in maniera indiretta, prevalentemente su larga scala sociale, medica, e attraverso le statistiche dei reati che possono subire dei condizionamenti o essere troppo generici. Quindi noi abbiamo sperimentato un approccio più diretto basato sull'evidenza "nel campo" dell'uso di cocaina da parte della popolazione generale.

Metodi: La cocaina e il suo principale metabolita urinario (la benzoilecgonina, BE) sono stati misurati mediante spettrometria di massa in campioni di acque presi dal Po e da industrie urbane per il trattamento dell'acqua di rifiuto in città italiane di medie dimensioni. Per stimare il consumo locale di cocaina in ogni zona sono stati utilizzati: la concentrazione della sostanza, l'indice di flusso dell'acqua e la popolazione.

Risultati: Abbiamo evidenziato come la cocaina e la BE siano presenti e misurabili nelle acque di superficie delle aree popolate. Il più grande fiume italiano, il Po, con un bacino circostante di 5 milioni di persone, trasportava costantemente l'equivalente di 4 kg di cocaina al giorno. Questo implicherebbe un consumo medio giornaliero di almeno 27 ± 5 dosi (di 100mg ciascuna) per ogni 1000 giovani adulti, una stima che eccede ampiamente le stime ufficiali nazionali. I dati ricavati dalle industrie per il trattamento delle acque di rifiuto in città italiane di medie dimensioni sono corrispondenti a questi valori.

Conclusioni: Questo lavoro, evidenzia per la prima volta che una sostanza illecita, la cocaina, è presente nelle acque, ossia nelle acque di rifiuto urbano non trattate e nei maggiori fiumi. Ab-

* Tratto da: *Environmental Health Journal: A Global Access Science Source* 2005, 4:14 - "Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse".

Traduzione a cura: Staff Osservatorio Regionale sulle Dipendenze, Regione Veneto.

biamo utilizzato i livelli ambientali di cocaina per stimare il consumo collettivo del farmaco, un approccio con l'unica potenziale capacità di monitorare le tendenze dell'abuso locale della sostanza in tempo reale, preservando l'anonimato degli individui. Il metodo qui testato, teoricamente estensibile ad altre sostanze d'abuso, potrebbe essere ulteriormente messo a punto per divenire uno strumento standardizzato, obiettivo, per monitorare l'abuso di sostanze.

RAZIONALE

L'uso di cocaina, una delle sostanze illecite più potenti e che conferiscono maggior dipendenza, sembra in aumento in alcuni paesi (1-3). Le agenzie internazionali del farmaco suggeriscono di monitorare strettamente il fenomeno, in particolare tra i giovani nelle aree urbane (3). Le tendenze e l'estensione del fenomeno dell'abuso di sostanze vengono di solito stimati indirettamente dalle statistiche generali, basate per lo più su indagini di popolazione, interviste ai consumatori, documentazioni sanitarie, e statistiche sui crimini (3,4). Questi indicatori generali, però, possono non stimare in modo realistico il fenomeno ad un livello regionale, dove specifiche caratteristiche socio-economiche e culturali possono pesantemente influenzare le abitudini d'abuso e le tendenze. Inoltre, dal momento che il *self-report* di un comportamento socialmente censurato non è verosimilmente affidabile, i dati ottenuti intervistando i consumatori noti o potenziali potrebbero essere sottostimati. Sono perciò necessari nuovi metodi, non solo per fornire stime più realistiche sul consumo illecito di farmaci, ma anche per rilevare rapidamente le variazioni nelle tendenze d'abuso della popolazione locale. Questi metodi, inoltre, aiuterebbero i sociologi e le autorità a rispondere alle variazioni di abitudini con appropriate contromisure preventive, in tempo reale.

Diversi studi, incluso il nostro, hanno riportato che i farmaci ad uso umano e veterinario escreti, finiscono nelle acque attraverso i sistemi di scolo (5-9). Abbiamo evidenziato che i livelli ambientali dei farmaci ampiamente usati, riflettono la quantità totale consumata dalla popolazione locale, come calcolato sulle prescrizioni effettuate (10-12). Così, quando vengono presi in considerazione appropriatamente fattori come la farmacocinetica e il metabolismo dei farmaci e il destino ambientale dei prodotti di escrezione, le cariche ambientali (le quantità escrete nell'ambiente nel tempo) di un farmaco e/o dei suoi maggiori metaboliti possono diventare indicatori del consumo dei farmaci della popolazione locale. L'idea di un possibile uso "non-intrusivo di monitoraggio farmacologico nelle sedi delle attrezzature di trattamento delle acque di scolo" "per determinare i parametri di uso collettivo della sostanza a livello comunitario" furono proposti da Daughton (13) nel 2001, ma per quanto ne sappiamo, non sono mai stati utilizzati.

In questo studio, abbiamo testato se il suddetto approccio potrebbe essere utilizzato per stimare il consumo comunitario di una sostanza comune d'abuso, ossia la cocaina. Come per gli altri farmaci, infatti, i prodotti di escrezione della cocaina, consumata in una determinata zona, potrebbero in teoria essere rintracciati nelle acque locali di rifiuto (WW) e nelle riceventi acque di superficie (SW). Questi compartimenti ambientali possono essere visti infatti, come una specie di deposito temporaneo per qualsiasi composto sufficientemente stabile escretato dalla popolazione locale. Così il trovare un prodotto di escrezione della cocaina nelle WW e SW potrebbe essere d'aiuto per le stime del consumo locale. Inoltre, se regolarmente monitorato, il variare delle concentrazioni della sostanza nelle WW e SW rifletterebbe le variazioni del consumo in tempo reale.

Negli esseri umani solo una piccola percentuale di cocaina, come tale, viene escretata nelle urine mentre una larga quantità viene escretata come BE (14,15). La BE infatti, è il metabolita spesso dosato nelle urine in medicina forense, per dimostrare l'uso di cocaina. Perciò abbiamo

cercato e misurato sia la cocaina che la BE nei campioni di acqua ambientale, ma abbiamo utilizzato le concentrazioni di BE per calcolare più accuratamente il consumo di cocaina (vedi Metodi).

Il metodo qui utilizzato può ovviamente -nel primo campo d'applicazione piuttosto rudimentale- avere molte limitazioni intrinseche (discusse sotto) nell'accuratezza delle stime di consumo collettivo. Ciononostante, ci è sembrato che valesse la pena testare se questo approccio *evidence-based* offrisse o meno un significativo vantaggio sui metodi indiretti esistenti. Dopo aver identificato la cocaina e la BE nelle acque, il nostro principale obiettivo era inizialmente quello di verificare quanto le nostre stime di consumo si sovrapponevano ai dati ufficiali. Ci aspettavamo che i dati ottenuti dalle nostre ricerche sul consumo di cocaina si collocassero nel *range* delle stime ufficiali, o forse ad un livello inferiore, ma certamente non superiore. Infatti, l'evidenza consistente ricavata dai dati dei campioni ambientali e l'ipotesi fatta per i nostri calcoli (vedi metodi) potrebbero dar luogo a sottostime ma difficilmente a sovrastime sul reale consumo di cocaina. Una certa frazione (ancora sconosciuta) dei prodotti di escrezione della cocaina, che entra nei sistemi di scolo da una miriade di punti sparsi, potrebbe infatti andare perduta o degradata prima di raggiungere il punto di raccolta del campione, risultando così in sottostime del reale consumo. Inoltre, se noi consideriamo che i metaboliti della cocaina raccolti dalle WW e SW non possono ragionevolmente provenire da fonti diverse dalle escrezioni umane (eccetto sporadici ma altamente improbabili casi di eliminazione di cocaina nei sistemi di scolo o nei fiumi) e che la loro concentrazione nelle acque correnti non può riflettere l'accumulo, dobbiamo ancora una volta concludere che non abbiamo potuto sovrastimare i reali valori. Con queste limitazioni abbiamo, perciò, testato questo approccio sul territorio italiano (figura 1) e comparato i nostri risultati con i dati ufficiali sull'uso di cocaina in Italia, ottenuti da indagini sulla popolazione generale (2).

METODI

Chimici e Materiali

Gli standard di riferimento (99% purezza) della cocaina e della BE provenivano rispettivamente dalla MacFarlan-Smith Ltd (Edinburgh, UK), e dalla LGC Promochem s.r.l. (Milano, Italia). Lo standard interno (IS), salbutamolo-D₃ (99,1% D) proveniva dalla CDN Isotopi (Quebec, Canada). Gli standard venivano sciolti in metanolo a 1mg/ml e successivamente diluiti a 10 ng/ml. La purezza delle soluzioni veniva testata prima di ogni corsa analitica mediante HPLC-MS-MS. Tutte le soluzioni furono stoccate a -20°C al buio. La cartuccia utilizzata per l'estrazione della fase solida era 3ml a perdere dell'OASIS MCX (60mg, waters Corp., milford, MA).

Raccolta dei campioni

Sono stati raccolti campioni misti di acqua (5 campioni da 500 ml raccolti ogni 30 min) in 4 diversi giorni dal Po a Mezzano, Pavia (figura 1). In questo sito di campionamento (flusso d'acqua medio per il periodo, $343 \text{ m}^3 \text{ sec}^{-1}$) la popolazione del bacino equivalente è $5,4 \times 10^6$. Gli indici di flusso furono gentilmente forniti dall'ufficio Mareografico e Idrografico del Po. Furono raccolti dei campioni d'acqua anche da importanti WW in 4 industrie di trattamento (WWTPs) che servono città italiane di medie dimensioni (Cagliari, Latina, Cuneo e Varese, vedi figura 1). Gli indici di flusso delle WWTPs erano 1,0, 0,36, 0,22, e $0,46 \text{ m}^3 \text{ sec}^{-1}$ e gli equivalenti della popolazione rispettivamente: 270, 140, 45 e 110×10^3 . Per ogni industria, fu ottenuto un campione di 24 ore, composto di 2 litri raccogliendo acqua presa ogni 20 minuti mediante un'at-

Figura 1 - Zone di campionamento per la misurazione della cocaina.



trezzatura automatica. I campioni d'acqua furono stoccati a 4°C e processati entro 3 giorni per minimizzare una possibile degradazione.

Estrazione fase solida

La cocaina e la BE sono state misurate adattando il nostro metodo per i farmaci nelle acque di fiume (10). I campioni d'acqua (500 ml) sono stati filtrati su un filtro a micro fibre di vetro e mescolati con 10 ng di IS. Il pH veniva poi portato a 2,0 con il 37% di HCl. Le cartucce dell'Oasis MCX venivano ammorbidite prima dell'uso lavandole con 6ml di metanolo, 3ml di acqua MilliQ e 3ml di acqua acidificata a pH 2. I campioni venivano poi passati attraverso le cartucce sotto vuoto, ad un tasso di flusso di 20ml/min. Le cartucce venivano asciugate sottovuoto

per 5 minuti e diluiti con 2 ml di metanolo e 2ml al 2% di soluzione di ammonio in metanolo. Le diluizioni venivano riunite ed essiccate sotto un flusso d'aria.

Separazione cromatografica del liquido

Prima dell'analisi i campioni venivano ridisciolti in 100mL di acido acetico allo 0,01% in acqua (pH 3,5), poi centrifugati e trasferiti in *vial* di vetro. Aliquote di 10ml venivano iniettate usando un autocampionatore. Il sistema HPLC consisteva di 2 serie da 200 pompe e di una serie da 200 autocampioni (Perkin-Elmer, Norwalk, CT). Per la separazione cromatografica è stata utilizzata una colonna Luna C8 di 50mm x 2mm i.d., con dimensioni delle particelle di 3mm (phenomenex, Torrance, CA, USA). La diluizione iniziava con il 100% di diluente A (acido formico al 0,1% in acqua, pH 2) seguito da 10 min di gradiente lineare al 100% di diluente B (acetone nitrile), 2 min di diluizione isocratica e 2 min di gradiente lineare al 100% di diluente A, che veniva mantenuto per 6 minuti per equilibrare la colonna. Durante l'analisi il tasso di flusso era 200ml/min e la colonna era mantenuta a temperatura ambiente.

Spettrometria di massa (MS-MS)

Per le determinazioni quantitative è stato usato uno spettrometro di massa API 3000 quadrupolare triplo (Applied Biosystems- Sciex, Thornhill, Ontario, Canada). Le analisi sono state effettuate in *ESI positive mode*, con un voltaggio di 5,4 kV, voltaggi all'orifizio della skimmer che variavano da 30 a 54V e voltaggi all'elettrodo anulare da 180 a 280 V. L'acquisizione dei dati fu condotta con monitoraggio delle reazioni multiple (MRM) di prodotti di frammentazione selettiva degli ioni protonati pseudo molecolari (m/z 290 -> 105 e 290 -> 168 per BE, 304 -> 105 e 304 -> 182 per cocaina, 243 -> 151 e 243 -> 169 per IS). Sono state generate 5 curve di calibrazione per ogni composto iniettando 10 ml di 0,01% di soluzione di acido acetico contenente quantità note (0-1 ng/ml) di BE e cocaina e IS (0,1 ng/ml). Le curve di calibrazione correvano con ogni gruppo di campioni mostrando un'eccellente linearità ($r^2 > 0,998$). I bianchi strumentali (soluzione standard solo con IS), non mostravano tracce di composti interferenti. I bianchi procedurali e i recuperi sono stati eseguiti con acqua minerale. I bianchi non evidenziavano quantità determinabili di cocaina e di BE. I recuperi erano $> 90\%$ per entrambi i composti. I limiti di determinazione erano rispettivamente 0,06 e 0,12 ng/l per la BE e la cocaina (calcolati come la concentrazione che dà un rapporto di segnale di 3 nei test di recupero). L'identità della cocaina e della BE e l'assenza di composti interferenti, venivano successivamente confermate mediante analisi qualitative MS/MS condotte con uno spettrometro ion trap mass LCQ decaXP Plus (Thermo Electron, Waltham, MA). In questo caso le condizioni cromatografiche erano le stesse precedentemente descritte, mentre le analisi di massa sono state effettuate con l'acquisizione degli spettri ESI-MS e MS/MS, corrispondenti agli ioni pseudo-molecolari della BE e COC. Le relative quantità dei frammenti di ioni delle sostanze erano d'accordo ($\pm 20\%$) con quelle degli standard di riferimento.

Calcoli e supposizioni

Dal momento che metà della dose di cocaina viene escreta nelle urine come BE, e solo una piccola frazione come farmaco immodificato, usiamo le concentrazioni di BE in WW o SW per stimare il consumo locale di cocaina. Le concentrazioni di cocaina sono state utili per verificare che il rapporto BE/cocaina era stabile e in un intervallo atteso, fornendo così affidabilità sulla loro fonte di consumo umano. Se una eliminazione inaspettata accidentale o intenzionale di una significativa quantità di cocaina si verificasse in qualche punto di raccolta, il normale rapporto BE/cocaina (vedi Risultati) sarebbe transitoriamente e significativamente alterato in favore della

cocaina. La carica di BE (gr/die) ad ogni sito di campionamento - calcolato dalla concentrazione di BE nell'acqua (ng/l) e dall'indice di flusso dell'acqua (m³/sec) - è stato usato per stimare la carica di cocaina originaria moltiplicando per il fattore 2,33. Questo tiene conto del rapporto della massa molare BE/cocaina (0,954) e della media della frazione molare (45%) della dose di cocaina che viene escreta come BE, in accordo con i diversi studi (14,15). I carichi di cocaina sono poi stati correlati con gli equivalenti della popolazione locale (es. il numero di persone servite da un WWTP o che vivono nel bacino di prelievo del fiume), usando i dati del 14° Censimento generale della popolazione italiana (2001) (16). Il consumo stimato (gr/die per 1000 persone) ad ogni sito di prelievo era riferito sia alla popolazione generale che ai giovani adulti (15-34 anni), dal momento che l'ultimo gruppo include quasi tutti i consumatori (2). I dati sono anche stati espressi come numero di dosi al giorno per 1000 persone, assumendo 100 mg come una dose media (1) (l'equivalente di 4 "strisce" da 25 mg di cocaina).

Tabella 1: Livelli e carichi di cocaina e del suo metabolita (benzoylecgonina BE) nel Po e nelle WWTPs.

	Levels ^a		Loads
	Cocaine (ng/liter)	BE (ng/liter)	Cocaine equivalents (g/day) ^b
River Po WWTPs ^d	1.2 ± 0.2 ^c	25 ± 5 ^c	3800 ± 720 ^c
Cagliari	83	640	130
Cuneo	76	420	30
Latina	120	750	33
Varese	42	390	36

a. Cocaine and BE were analysed by HPLC-MS/MS
b. Cocaine loads were estimated from BE concentrations in the waters (see Methods)
c. Mean ± SD
d. Waste water treatment plant locations

Tabella 2: Uso locale di cocaina nel bacino del Po e in città italiane di medie dimensioni, come stimato dai livelli di BE nelle acque.

	Estimated local cocaine use			
	per 1000 people		per 1000 young adults ^a	
	g/day	no. doses ^b /day	g/day	no. doses ^b /day
River Po WWTPs ^d	0.70 ± 0.13 ^c	7.0 ± 1.3 ^c	2.7 ± 0.5 ^c	27 ± 5 ^c
Cagliari	0.47	4.7	1.7	17
Cuneo	0.21	2.1	0.9	9
Latina	0.73	7.4	2.6	26
Varese	0.32	3.2	1.4	14
	0.44 ± 0.23 ^c	4.4 ± 2.3 ^c	1.7 ± 0.7 ^c	17 ± 7 ^c

a. 15-34 yr old
b. 1 dose = 100 mg
c. Mean ± SD
d. Waste water treatment plant locations

RISULTATI

Cocaina e BE sono state trovate in tutti i campioni esaminati dalle WW e SW. Le concentrazioni ai vari siti di campionamento sono mostrate nella Tabella 1. Come atteso, i livelli della sostanza d'origine erano molto più bassi rispetto al metabolita, essendo il loro rapporto nei campioni di WW ($0,15 \pm 0,03$, \pm SD) in accordo con il destino metabolico conosciuto della cocaina negli esseri umani. Nel Po il rapporto cocaina/BE era stabile nel tempo ma inferiore a quanto atteso ($0,05 \pm 0,02$), suggerendo un differente modello di degradazione e/o una compartimentalizzazione di cocaina e BE nella WWTP e nei veicoli ambientali.

In quattro diverse occasioni, allo stesso sito di campionamento, è stato evidenziato che il Po trasporta stabilmente quasi 4kg equivalenti di cocaina al giorno (Tabella 1). Questo suggerisce un totale di circa 40.000 dosi al giorno, o circa 7 dosi per ogni 1000 persone che vivono nel bacino del fiume. Per quanto, considerando solo i giovani adulti, l'uso stimato raggiunge le 27 dosi al giorno per 1000 persone (Tabella 2). In accordo con questi risultati, le cariche di cocaina determinate alle WWTPs forniscono stime di consumo della sostanza di circa 2-7 dosi per 1000 persone o 9-26 dosi al giorno per 1000 giovani adulti (Tabella 2).

DISCUSSIONE

Il metodo che abbiamo qui inizialmente testato con la cocaina, come un nuovo possibile strumento per monitorare il consumo collettivo di sostanze illecite, fornisce stime riproducibili dalle WWTP, confermate su larga scala dai dati del Po. Ciononostante se questo metodo fosse usato in generale per un monitoraggio continuo dell'uso locale della sostanza, sarebbe preferibile usare ripetuti campionamenti in un dato, ben caratterizzato *setting*. Campionare le WW per l'analisi farmacologia prima che entri in una TP eviterebbe variazioni nelle concentrazioni della sostanza dovute a rimozione o degradazione che potrebbe verificarsi entro le TP. I livelli di una sostanza illecita in un fiume maggiore di un'area molto densamente popolata potrebbe ancora servire per valutare il consumo su una scala più vasta rispetto ad una locale, ma solo in quei casi dove un farmaco è abbastanza stabile in ambiente acquatico.

Chiaramente il metodo implementato qui necessita di essere messo a punto, validato e adattato per altre sostanze d'abuso prima che possa diventare uno strumento generale per monitorare l'abuso di sostanze. Gli aspetti principali da validare minuziosamente coinvolgono la stabilità chimica e biologica del principale prodotto di escrezione della sostanza e la sua ripartizione nelle acque di scolo. A nostro parere meno preoccupante è qualche inaccuratezza nello stimare il consumo che può derivare dalle ipotesi correlate a farmacocinetica e metabolismo. Infatti se il consumo è retro calcolato dai livelli di prodotti escreti usando un medio fattore di conversione frazionale farmaco/metabolica da molteplici studi, l'accuratezza della stima sarebbe solo marginalmente influenzata da questo parametro.

I nostri dati suggeriscono che l'attuale consumo di cocaina può essere molto più grande di quanto stimato dai metodi correnti. Questo è un risultato che colpisce, considerando che - come discusso sopra - il metodo impiegato e le ipotesi fatte potrebbero solo condurre a dati di consumo sottostimati. Questo infatti non è un meccanismo ragionevole mediante il quale i prodotti di escrezione della cocaina potrebbero accumularsi nelle acque di scorrimento di superficie, e noi abbiamo trovato concentrazioni stabili nel Po nel tempo. Inoltre avendo scelto di monitorare nel nostro studio un metabolita abbondante oltre al farmaco di origine, qualsiasi aumento

nei livelli di cocaina, dovuto ad una eliminazione illecita piuttosto che ad un uso umano, potrebbe essere rapidamente scoperto mediante un transitorio aumento del rapporto cocaina/metabolita.

Le statistiche ufficiali (2) per l'anno 2001 indicano che in Italia circa l'1,1% di giovani adulti (15-34 anni) ammettono di aver usato cocaina almeno una volta nel mese precedente, ma i dosaggi attuali e la frequenza dell'uso non sono noti. Perciò è difficile stimare la quantità di cocaina che viene consumata dalla popolazione. Se consideriamo che nel bacino del Po ci sono circa 1,4 milioni di giovani adulti, i dati ufficiali in questa area si tradurrebbero in almeno 15.000 utilizzi di cocaina al mese. Ciononostante abbiamo riscontrato circa 40.000 dosi al giorno, una stima molto più ampia. L'impatto economico del traffico di un così elevato quantitativo di cocaina sarebbe sbalorditivo. L'elevata quantità di cocaina (almeno 1500 kg), che i nostri risultati suggeriscono venga consumata all'anno nel bacino del Po, ammonterebbe infatti, a circa 150 milioni di dollari (basata su una media di un valore da strada negli Stati Uniti di 100 dollari al grammo) (17-18).

Le stime suddette - ottenute dal bacino densamente popolato del maggior fiume italiano - sono state confermate da simili valori trovati in *setting* completamente differenti, es. nelle WW urbane di città di medie dimensioni, scelte in luoghi geografici ampiamente diffusi, per stimare il consumo locale di cocaina su piccola scala. La giusta corrispondenza dei risultati delle SW e WW, nonostante i diversi *setting* e ipotesi, suggeriscono che il nostro approccio è affidabile e le nostre stime realistiche. La piuttosto ristretta variazione del consumo stimato tra le WWTPs può riflettere diverse abitudini locali, come le aree urbane scelte hanno alcune differenze socio-culturali.

CONCLUSIONI

Le indagini sulla popolazione generale sono utili per descrivere i modelli di abuso di sostanze, ma sono molto costosi e certamente troppo lenti per documentare prontamente le variazioni di tendenza (4). Il monitoraggio continuo del consumo illecito di sostanze sarebbe molto importante per stabilire l'attuale estensione di questo fenomeno, e documentare i cambi di tendenza. Un quadro più realistico dei modelli di uso locale per le più comuni sostanze d'abuso sarebbe necessario anche per identificare i problemi prioritari e pianificare selettive contromisure. L'approccio *evidence-based* prima testato qui, che è sostanzialmente adattabile ad altre sostanze illecite, potrebbe essere messo a punto e successivamente validato per diventare un rapido metodo generale per aiutare a stimare l'abuso di sostanze ad un livello locale. Questo approccio (13), con la sua abilità unica di monitorare le variazioni di abitudine in tempo reale, potrebbe essere d'aiuto ai sociologi e alle autorità per aggiornare continuamente la valutazione sull'abuso di sostanze.

ABBREVIAZIONI

WW – acque di rifiuto

SW – acqua di superficie

WWTP – industria per il trattamento dell'acqua di rifiuto

BE – benzoyllecgonina

MS – spettrometria di massa

CONFLITTO DI INTERESSI

Gli autori dichiarano di non avere conflitto di interessi

CONTRIBUTI DEGLI AUTORI

EZ ha disegnato lo studio e scritto il lavoro. CC ha analizzato i dati e scritto il lavoro. SC ha raccolto e analizzato i campioni. DC ha disegnato lo studio e analizzato i dati. RB ha sviluppato il metodo analitico e supervisionato le analisi. SS ha raccolto e analizzato i campioni. RF ha avuto l'idea originale, e ha rivisto criticamente i risultati e il manoscritto. Tutti gli autori hanno letto e approvato il manoscritto finale.

RINGRAZIAMENTI

Il Dott Davide Calamari sfortunatamente è mancato prima che il lavoro fosse completato. Dedichiamo questo lavoro alla sua memoria.

L'Università e il Ministro della Ricerca Scientifica (MIUR) hanno finanziato questo studio (progetto n° 2002098317,2002). Silvia Schiarea fu la ricevente della "COFIN 2002" dall'Università di Insubria.

BIBLIOGRAFIA

1. United Nations Office of Drug and Crime: World Drug Report 2004. Volume 2. Statistics. [http://www.unodc.org/pdf/WDR_2004/methodology.pdf].
2. Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali: Italy drug situation 2001. Report to the EMCDDA by the Reitox National Focal Point. [<http://www.emcdda.eu.int/index.cfm?fuseaction=public.AttachmentDownload&nNodeID=1240&slanguageISO=EN>].
3. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction: The state of the drug problem in the European Union and Norway. Annual Report 2003. 2004 [<http://annualreport.emcdda.eu.int/en/home-en.html>]. Lisbon: EMCDDA
4. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction: Handbook for surveys on drug use among the general population. EMCDDA project CT.99EP.08B 2002 [<http://www.emcdda.eu.int/?fuseaction=public.AttachmentDownload&nNodeID=1390>]. Lisbon: EMCDDA
5. Ternes TA: Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* 1998, 32:3245-3260.
6. Zuccato E, Calamari D, Natangelo M, Fanelli R: Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet* 2000, 355:1789-1790.
7. Heberer T: Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol Lett* 2002, 131:5-17.
8. Kolpin D, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT: Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol* 2002, 36:1202-1211.
9. Kummerer K: Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants.

- tants into wastewater by hospitals in relation to other sources. *Chemosphere* 2001, 45:957-969.
10. Calamari D, Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R: Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. *Environ Sci Technol* 2003, 37:1241-1248.
 11. Castiglioni S, Fanelli R, Calamari D, Bagnati R, Zuccato E: Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004, 39:25-32.
 12. Heberer T, Feldmann D: Contribution of effluents from hospitals and private households to the total loads of diclofenac and carbamazepine in municipal sewage effluents-modeling versus measurements. *J Hazard Mater* 2005, 122:211-218.
 13. Daughton CG: Illicit Drugs in Municipal Sewage: Proposed New Non-Intrusive Tool to Heighten Public Awareness of Societal Use of Illicit/Abused Drugs and Their Potential for Ecological Consequences. *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issue. Symposium Series 791* 2001:348-364 [<http://epa.gov/nlerlesd1/chemistry/pharma/bookconclude.htm>]. Washington, DC: American Chemical Society
 14. Baselt RC: *Disposition of toxic drugs and chemicals in man* 2nd edition. Davis (CA): Bio-medical Publications; 1982.
 15. Ambre J: The urinary excretion of cocaine and metabolites in humans: a kinetic analysis of published data. *J Anal Toxicol* 1985, 9:241-245.
 16. ISTAT: 14° Censimento Generale della Popolazione e delle Abitazioni. 2001 [<http://www.istat.it/English/Population/index.htm>].
 17. Drug Policy Information Clearinghouse (Office of National Drug Control Policy): Fact Sheet 2003 [<http://www.whitehousedrugpolicy.gov/publications/factsht/cocaine/>].
 18. United States Department of State, Foreign Press Center: Drug Control: International Policy and Approaches. CRS Issue Brief for Congress [<http://fpc.state.gov/documents/organization/33744.pdf>]. May 14, 2004