

Titolazioni dei preparati galenici oleosi a base di cannabis in Regione Liguria: progetto sperimentale dei laboratori di riferimento regionale

Giuliana Cangemi¹, Paolo Bucchioni², Gino Tripodi¹, Sebastiano Barco¹, Paolo Franceschini², Isa Mavi Sbarbaro², Gianfranco Petriccioni², Laura Barbagallo¹, Angelo Maffia¹, Eugenia Livoti⁴, Clara Cannas⁴, Eleonora Russo³, Barbara Rebesco⁴, Flavia Lillo⁵

¹Laboratorio Centrale di Analisi, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova

²Laboratorio di Tossicologia, Ospedale San Bartolomeo, ASL5 Spezzino, Sarzana

³Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Genova

⁴Struttura Complessa Politiche del Farmaco, A.Li.Sa (Agenzia Ligure Sanitaria), Regione Liguria

⁵MacroArea dei laboratori, DIAR dei servizi Trasfusionale, Laboratori e Diagnostica Clinica per Immagini, A.Li.Sa (Agenzia Ligure Sanitaria), Regione Liguria

*Per conto del gruppo di lavoro "Titolazione delle preparazioni galeniche oleose a base di cannabis" di A.Li.Sa (Agenzia Ligure Sanitaria) composto da: Barbara Rebesco, Maria Susanna Rivetti, Gabriella Paoli, Flavia Lillo, Eleonora Russo, Paolo Bucchioni, Gino Tripodi, Giuliana Cangemi, Paola Barabino, Valentina Iurilli, Marinella Bedo, Sara Macis, Simona Peri, Clara Cannas.

ABSTRACT

Analysis of cannabinoids concentration in cannabis oil galenic preparations in the Liguria Region: experimental project of the regional reference laboratories.

Introduction: the medical use of cannabis is increasingly being applied in the treatment and support of several diseases and syndromes. In the Liguria Region, olive oil galenic preparations are mainly prepared by hospital pharmacies, according to common standard procedures. The preparations must be analyzed in order to establish the concentration of the two main active compounds (delta-9 tetrahydrocannabinol, THC and cannabidiol, CBD) thus allowing the correct setting of the therapeutic prescription. Liguria Region is at the forefront in the use of medical cannabis with a high number of patients treated (>1000). The aim of this work is to describe the organization of the titration activity centralized at the two regional reference laboratories (Central Laboratory of Analyses of Giannina Gaslini Institute, Genova and Toxicology Laboratory of Sarzana, La Spezia), coordinated by the inter-hospital department (DIAR) of the Laboratories Area.

Methods: the phases of the analytical process (pre-analytical, analytical and post-analytical) have been identified and described. The analysis of the workflow has been carried out including the methods to prepare cannabis oil in the pharmacies, the intervals and production volumes, the medical-legal handling requirements and operational responsibilities. The definition of the pre-analytical phase foresees the methods of packaging, transport and recording of the samples and related responsibilities.

Results: the analytical phase included the development and validation of the analytical method Ultra High Performance Liquid Chromatography coupled to tandem mass spectrometry, (UHPLC-MS/MS) in the two laboratories, with common procedures and the comparison of results conducted both on reference material and real samples of olive oil galenic preparations. The definition of the post-analytical phase included the reporting procedures.

Discussion: the experimental phase has been concluded at the end of 2019 and the implementation phase of the project has started in march 2020.

Corrispondenza a: Giuliana Cangemi, Laboratorio Centrale di Analisi, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Via Gerolamo Gaslini 5, 16147 Genova, Tel +39 (0)1056362835, E-mail giulianacangemi@gaslini.org

Ricevuto: 15.04.2020

Revisionato: 11.05.2020

Accettato: 20.05.2020

Pubblicato on-line: 15.10.2020

DOI: 10.19186/BC_2020.061

INTRODUZIONE

L'indicazione all'utilizzo medico della *Cannabis sativa* (in Italia oggetto di specifica regolamentazione dalla fine del 2015) prevede alcuni specifici impieghi: nel dolore cronico e in quello associato a sclerosi multipla e a lesioni del midollo spinale; nella nausea e vomito causati da chemioterapia, radioterapia, terapie antiretrovirali; come stimolante dell'appetito nella cachessia, anoressia, perdita dell'appetito in pazienti oncologici o affetti da AIDS e nell'anoressia nervosa; per l'effetto ipotensivo nel glaucoma; per la riduzione dei movimenti involontari del corpo e facciali nella sindrome di Gilles de la Tourette (Decreto Ministeriale 9/11/2015) (1).

Le due molecole principali, presenti nel fitocomplesso costituito da oltre 500 sostanze, che sono alla base dell'attività terapeutica e presenti nelle infiorescenze della *Cannabis sativa* L 1753 sono il delta-9-tetraidrocannabinolo (THC) e il cannabidiolo (CBD) che derivano rispettivamente dai loro precursori acidi: acido tetraidrocannabinolico (THC-A) e acido cannabidiolico (CBD-A), in seguito ad ossidazione dovuta all'esposizione alla luce, all'aria e per riscaldamento diretto (2). THC-A e CBD-A derivano da un precursore comune, l'acido cannabigerolico (CBG-A) (Figura 1).

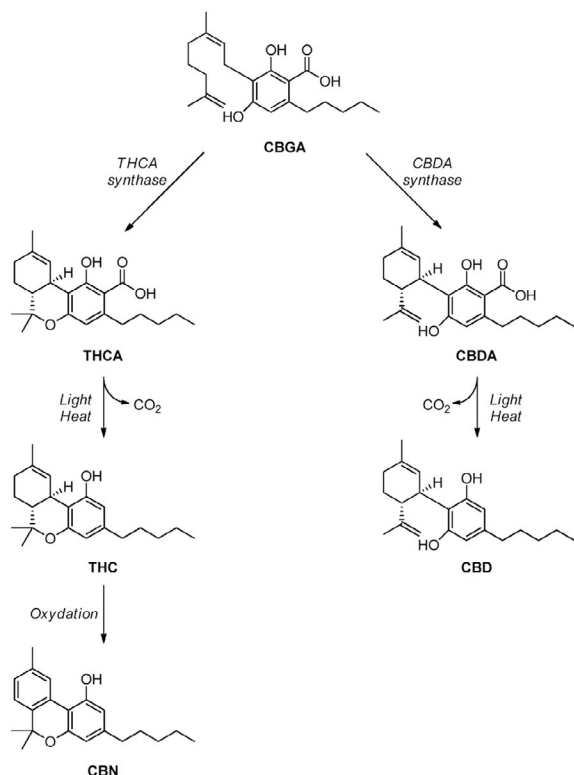


Figura 1

Principali cannabinoidi oggetto delle titolazioni (modificata J Pharm Biomed Anal 2018;147:565-79)

Altri cannabinoidi presenti nel fitocomplesso sono il cannabinolo (CBN), che origina dall'ossidazione del THC, il cannabicromene (CBC) e il cannabigerolo (CBG) (3).

Il THC e il CBD possiedono proprietà farmacologiche distinte: il THC ha un'attività prevalentemente psicotropa mentre il CBD ha attività analgesica e antiossidante ed è in grado di mitigare gli effetti collaterali del THC (4-7).

La combinazione dei due cannabinoidi THC e CBD con gli altri componenti del fitocomplesso è probabilmente alla base dell'efficacia degli estratti medicinali e della bassa incidenza di effetti collaterali rispetto ai farmaci sintetici con analoga indicazione terapeutica (8).

Il Decreto del Ministero della Salute del 9 novembre 2015 (1), autorizza l'Istituto Chimico e Farmaceutico Militare di Firenze (ICFM) alla coltivazione/produzione autonoma della cannabis medica, e da gennaio 2017 l'ICFM ha reso disponibili i primi lotti di prodotto denominato Cannabis FM2, con concentrazioni standardizzate di THC (5-8% w/w) e CBD (7,5-12% w/w). Da luglio 2018 è disponibile una seconda varietà di prodotto denominata FM1 con un contenuto dichiarato di THC del 13-20% w/w e CBD <1% w/w (9).

FM1 ed FM2 vengono distribuiti alle farmacie autorizzate per l'allestimento di preparazioni galeniche magistrali cioè dietro presentazione di prescrizione medica.

Le quote di produzione della Cannabis FM1 e FM2 di ICFM tengono conto del consumo degli ultimi due anni e del suo incremento annuale. I dati del Ministero della Salute dimostrano una progressiva crescita del consumo nazionale di cannabis che nel 2018 è stato di circa 578 tonnellate di materia grezza. Per far fronte al crescente fabbisogno, la produzione viene integrata con l'importazione di prodotti olandesi a base di Cannabis non registrati, in relazione alla disponibilità ad esportare dell'Office of Medicinal Cannabis, che applica le direttive del Ministero della Salute, Welfare e Sport olandese in materia di esportazione di tali prodotti (10). Le varietà di Cannabis importate in Italia dall'Olanda sono il Bedrocan (concentrazioni medie di THC 22% w/w e CBD <1%), il Bedrobinol (13,5% THC e <1% CBD), il Bediol (6,5% THC e 8% per CBD) e il Bedrolite (0,4% THC e 9% CBD w/w).

La Regione Liguria, insieme alla Toscana, all'Emilia Romagna, alla Puglia, alla Lombardia ed al Piemonte è tra le regioni con il maggior utilizzo di cannabis; a dicembre 2019 è stato stimato in Regione, un numero di pazienti trattati pari a 1056, la maggior parte dei quali adulti. Per quanto riguarda i pazienti pediatrici, presso l'Istituto Pediatrico Giannina Gaslini (IGG) di Genova, nel 2017 è stato avviato uno studio clinico su bambini, adolescenti e giovani adulti (18-35 anni) affetti da patologie neurologiche e degenerative in regime di cura palliativa che ha coinvolto ad oggi 13 soggetti (11).

Le modalità consigliate di somministrazione della cannabis medica sono la preparazione per decozione e l'estratto oleoso in gocce, più raramente il fumo o la

vaporizzazione con modalità di preparazione stabilite a livello nazionale.

E' stato dimostrato, tuttavia, che il recupero dei differenti principi attivi nel decotto è molto limitato e con rapporti variabili tra THC e CBD. Inoltre, la stabilità dei cannabinoidi in soluzione acquosa è molto bassa e questo rende possibile l'utilizzo solo di preparazioni estemporanee.

Le preparazioni oleose sono invece caratterizzate da un rapporto THC/CBD più elevato, conseguente ad un recupero migliore di THC e una maggiore stabilità del preparato nel tempo, con una flessione della concentrazione del principio attivo inferiore al 20% nei primi giorni dalla preparazione ed una sostanziale stabilità a lungo termine e fino ad un anno a temperatura ambiente (9, 12, 13).

I diversi metodi per l'allestimento delle preparazioni galeniche sono riportati nella letteratura scientifica (13-15), tuttavia l'assenza di standardizzazione sembra essere alla base della notevole variabilità nelle concentrazioni dei principi attivi che vengono riscontrate (16). Le preparazioni galeniche oleose vengono prodotte in Liguria dalle farmacie ospedaliere delle Aziende sanitarie ASL2, ASL3, ASL4 e IRCCS Gaslini e da alcune farmacie private convenzionate in ottemperanza agli "Standard tecnici deliberati dalla Azienda Ligure Sanitaria", sanciti con delibera della Azienda Ligure Sanitaria (A.Li.Sa) n.78 del 2018 (17).

La titolazione dei principi attivi, è richiesta in alcune nazioni, tra cui l'Italia, per ciascun lotto di olio di cannabis prodotto. Infatti, in base al contenuto di cannabinoidi carbossilati e decarbossilati, i decotti e l'olio di cannabis hanno mostrato differenti proprietà farmacocinetiche e conseguenze cliniche sugli individui trattati (18).

Il Decreto Ministeriale 9 novembre 2015, per assicurare la qualità del prodotto e consentire l'impostazione corretta del protocollo terapeutico, indica che le preparazioni galeniche oleose a base di cannabis *"devono essere titolate ossia deve essere determinata la concentrazione del/dei principi attivi per ciascuna preparazione magistrale con metodologie sensibili e specifiche quali la cromatografia liquida o gassosa accoppiate alla spettrometria di massa"*.

In Liguria, le procedure di titolazione dei preparati galenici hanno previsto, ad oggi, l'invio ad un laboratorio certificato esterno (CoQua Lab, Torino)

Dato l'alto numero di pazienti residenti in regione Liguria in terapia con derivati della cannabis, è stata valutata l'opportunità di implementare l'attività di titolazione, in considerazione del fatto che due laboratori regionali il Settore Cromatografia del Laboratorio Analisi dell'IRCCS Istituto Giannina Gaslini (Genova) (Laboratorio 1) e il Laboratorio di Tossicologia di Sarzana (La Spezia), (Laboratorio 2) sono stati identificati come riferimento regionale.

Nell'ambito di un tavolo di lavoro regionale organizzato dal Dipartimento Interaziendale Regionale dell'area di Laboratorio, si è proceduto allo sviluppo del protocollo di gestione del processo.

METODI

Il progetto è stato suddiviso in due fasi sperimentali: la prima fase ha avuto luogo tra gennaio e settembre 2019 e la seconda fase tra ottobre e dicembre 2019.

Nella prima fase si è proceduto al censimento delle attività produttive delle diverse farmacie, somministrando, a tutti i responsabili delle Unità Operative Complesse coinvolte nella preparazione del galenico, un apposito questionario (Figura 2) in cui veniva richiesto di descrivere: intervalli e volumi di produzione e modalità di invio dei campioni per la titolazione. L'analisi dell'attività produttiva delle farmacie ha mostrato volumi di lavoro differenti e variabili che vanno da una/due preparazioni al mese di IGG e ASL4 a 2 preparazioni alla settimana di ASL2.

E' stata pertanto concordata la sincronizzazione dell'attività attraverso la definizione di un "drug day" settimanale e l'invio dei preparati galenici ai due laboratori di riferimento a settimane alterne (settimana pari al laboratorio n 1 e settimana dispari al laboratorio n 2).

Nella seconda fase delle attività si è proceduto alla standardizzazione del processo al fine di armonizzare le procedure e rendere i laboratori di riferimento perfettamente interscambiabili. La fase pre-analitica, analitica e post-analitica sono state quindi individuate e definite. La fase pre-analitica pertiene al confezionamento, al trasporto dalle farmacie ai laboratori di riferimento e all'accettazione dei campioni oleosi nel sistema informatico dei laboratori (LIS).

La fase analitica corrisponde alla messa a punto della metodica di misurazione e dei controlli di qualità. La metodologia scelta per questo progetto è la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa a triplo quadrupolo (LC-MS/MS) che garantisce elevata specificità e sensibilità (16) e consente la determinazione delle forme decarbossilate ed acide dei principi attivi (THC, CBD, THC-A e CBD-A rispettivamente). Nella seconda fase sperimentale del progetto sono inoltre state effettuate valutazioni comparative dei risultati ottenuti dai due laboratori di riferimento sui preparati galenici prodotti in ASL 2, ASL4 e IGG provvedendo ad inviare in triplicato non solo ai laboratori prima citati ma anche ad un laboratorio esterno, nello specifico a CoQua Lab di Torino, allo scopo di confrontare ed armonizzare i risultati prodotti. I risultati sono stati valutati mediante analisi statistica utilizzando la regressione lineare di Passing Bablok ed il software MedCalc (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium). La fase post-analitica descrive le modalità di refertazione e la trasmissione dei risultati alle farmacie invianti.

Nel dicembre 2019, entrambi i laboratori hanno partecipato ad un programma di Valutazione Esterna di Qualità (VEQ) per la titolazione dei cannabinoidi nei preparati oleosi della cannabis organizzato dal Centro Nazionale Dipendenze e Doping dell'Istituto Superiore di Sanità con esiti positivi (all'interno dei livelli di accettabilità).

	QUESTIONARIO FARMACIE OSPEDALIERE TITOLAZIONI PREPARAZIONI GALENICHE OLIO DI CANNABIS	MOD.... Rev del.....
---	--	-------------------------

<u>Farmacia richiedente</u>	
Farmacia Ospedaliera: _____	
Farmacia Privata -Ragione Sociale: _____	
Indirizzo _____	
Partita Iva _____ Codice Fiscale _____	
tel _____ email _____	
Referente _____ Qualifica _____	

Gentili colleghi, nell'ottica di realizzare un progetto regionale di standardizzazione delle modalità di titolazione delle preparazioni galeniche di olio di cannabis, il gruppo di lavoro nominato da ALiSa ha predisposto il seguente questionario volto alla raccolta del maggior numero di informazioni relative alle attuali modalità di gestione di questa fase del processo. Vi chiediamo quindi di compilarlo in tutte le sue parti ed eventualmente di integrare informazioni che riteniate rilevanti per la buona riuscita del progetto

Il responsabile del progetto
Dr.ssa Flavia Lillo

- 1) Numero mensile preparazioni galeniche olio cannabis effettuate attualmente presso la Vostra struttura

- 2) Qual è attualmente la cadenza delle preparazioni? (es. una volta/mese, una volta/settimana) _____
- 3) Descrivere la strumentazione utilizzata per la preparazione galenica (inclusi modelli e marche)

- 4) Elencare le differenti tipologie di cannabis che vengono preparate (es. FM2, bedrocan, bediol, bedrolite): _____
- 5) Quali sono le molecole per cui attualmente richiedete la titolazione (es. THC, CBD...) _____
- 6) Quante differenti tipologie di preparazioni possono essere effettuate nella stessa seduta? _____
- 7) C'è un giorno specifico della settimana in cui vengono attualmente effettuate le titolazioni? _____
- 8) Numero di pazienti attualmente trattati presso la Vostra istituzione:

- 9) Numero massimo di pazienti trattabile con ciascuna preparazione:

- 10) Quanto tempo impiegate per l'allestimento di ciascuna preparazione?

- 11) Laboratorio di riferimento cui vengono inviate attualmente le richieste di titolazione:

- 12) Con quale mezzo (aziendale, corriere, etc) vengono inviati i campioni e quanto costa l'invio?

- 13) Costo attuale delle titolazioni richieste al/ai laboratori di riferimento (costo/campione)

- 14) Indicate il tempo reale di restituzione del referto da parte del laboratorio che attualmente effettua le titolazioni per la Vostra farmacia, dal momento dell'invio del campione al momento della ricezione del referto (es. 24 ore/48 ore/72 ore/96 ore)

- 15) Elencate eventuali criticità riscontrate riguardanti le titolazioni:

Figura 2

Questionario sottoposto alle farmacie ospedaliere della Liguria

RISULTATI

Fase pre-analitica

Le modalità di confezionamento, trasporto e accettazione in catena di custodia sono state definite nel dettaglio mediante una procedura operativa standard denominata "Titolazione delle preparazioni galeniche oleose a base di cannabis: modalità di conferimento dei campioni ai laboratori di riferimento e refertazione", allegato sub 1 alla delibera A.Li.Sa n. 68/2020 (19) conforme alle indicazioni del Sistema Gestione Qualità ISO 9001/2015.

Le procedure per il confezionamento prevedono che il preparato galenico oleoso a base di cannabis, preparato secondo gli standard tecnici A.Li.Sa (Delibera ALISA n.78 dell'11 aprile 2018 (17)), subito dopo la preparazione debba essere miscelato e omogeneizzato tramite accurata agitazione meccanica. Per ciascuna preparazione deve essere prelevata un'aliquota di 0,2 mL in un contenitore di vetro ambrato e conservata in un intervallo di temperatura tra +2° a +8°C fino all'invio.

Le procedure prevedono l'invio dei campioni ai laboratori rispettando la catena di custodia. L'invio dei campioni avviene utilizzando sistemi di tracciatura della temperatura e dei percorsi. In Regione Liguria le farmacie ospedaliere e i laboratori si sono dotati di sistemi di "data logger" mediante gara regionale, ed è pertanto possibile una tracciatura puntuale e informatizzata.

L'accettazione dei campioni avviene in ogni laboratorio utilizzando i propri sistemi informatici (LIS del laboratorio), secondo standard identificativi della farmacia inviante, del numero di lotto e data di produzione della preparazione galenica.

Fase analitica

Il pannello analitico considerato comprende: THC, CBD e le rispettive forme acide (THC-A e CBD-A).

I due laboratori di riferimento hanno sviluppato e validato il metodo analitico mediante LC-MS/MS utilizzando le strumentazioni disponibili nei rispettivi laboratori: TSQ Quantiva accoppiato a Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) Ultimate 3000 (ThermoFisher Scientific) e Agilent 6430 Triple Quad, accoppiato ad HPLC Agilent 1200 series.

Il metodo analitico è stato condiviso, tra i due laboratori, in particolare riguardo alla scelta delle condizioni cromatografiche (colonna UHPLC: Zorbax Eclipse Plus C18 2.1x50 mm, 1.8 µm), delle modalità di analisi mediante MS, oltre alle modalità di preparazione dei calibratori a partire dallo standard, e della preparazione del campione.

Il campione di olio viene preparato con la stessa procedura di diluizione 1:20 000 in alcool isopropilico ottenuta mediante due diluizioni scalari successive e con aggiunta degli standard interni deuterati (CBD -d3 e THC -d3). Le transizioni multiple reaction monitoring (MRM) scelte sono state le seguenti: ionizzazione positiva, CBD THC 315,2 →123, 135,1, 193,1; CBD -d3 THC -d3 318,2

→ 196,1, 262: ionizzazione negativa, CBD-A THC-A 357.2 →245.1.

Per ogni seduta analitica è prevista una curva di calibrazione ad 8 punti e 3 controlli di qualità preparati per diluizione dello standard certificato in isopropanolo.

L'analisi LC-MS/MS consente una buona separazione cromatografica dei 4 analiti (Figura 3) e una identificazione accurata mediante le specifiche transizioni.

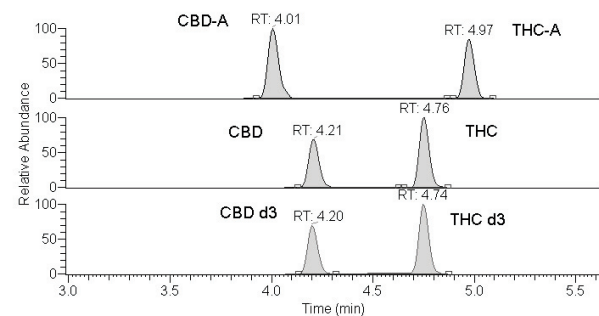


Figura 3

Esempio di cromatogramma ottenuto iniettando un calibratore alla concentrazione di 1 mg/dL

Ciascun laboratorio ha quindi eseguito la validazione del proprio metodo analitico (nell'intervallo 0,05- 8 mg/dL) seguendo le proprie procedure standard e in ottemperanza alle linee guida sulla validazione dei metodi bioanalitici cromatografici quantitativi (20, 21). Nella prima fase sperimentale, i due laboratori hanno provveduto a scambiare tra di essi calibratori e controlli di qualità per allineare le metodiche, successivamente sono stati analizzati i preparati galenici prodotti presso la farmacia dell'IGG. Dopo un primo confronto, i laboratori hanno ulteriormente agito sull'armonizzazione dei dati ottenuti analizzando in sinergia tutte le possibili fonti di variabilità.

Nella seconda fase le farmacie ospedaliere di ASL2, ASL4 e IGG hanno provveduto ad inviare campioni in triplicato ai due laboratori di riferimento regionale e al laboratorio di riferimento esterno per poter effettuare un'analisi comparativa su campioni reali.

I risultati prodotti hanno mostrato un buon livello di armonizzazione, raggiunto tra i due laboratori di riferimento (Figura 4), e questo ottimo traguardo ha dato la possibilità di redigere procedure operative standard (Standard Operative Procedure, SOP) in ottemperanza ai rispettivi sistemi di qualità vigenti (ISO, JCI).

Fase post-analitica

Per quanto riguarda le modalità e le tempistiche di refertazione, anch'esse definite nella SOP sono state definite procedure comuni, che riporteranno l'identificativo della farmacia inviante, il numero di lotto e la data della preparazione, la data di accettazione e il metodo analitico impiegato (LC-MS/MS). Il referto è

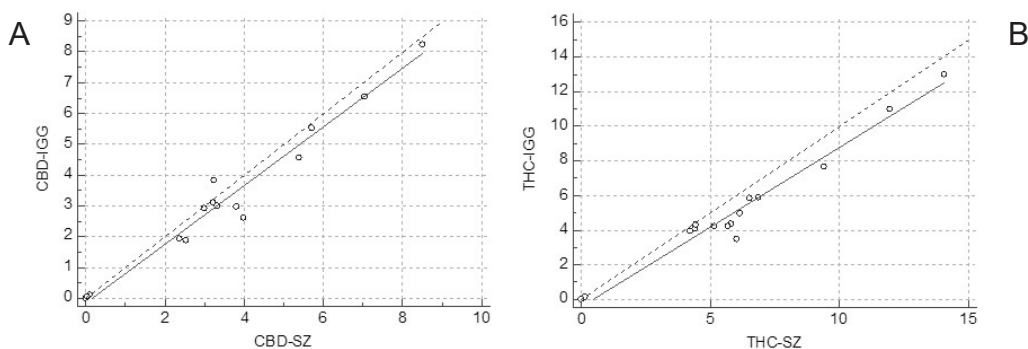


Figura 4

Confronto dei risultati prodotti dai due laboratori mediante grafici "Passing Bablok" per CBD (A) e THC (B) rispettivamente. La pendenza e l'intercetta e i rispettivi intervalli di confidenza (95%CI) sono 0,9602 (0,8877-1,0327) e -0,1920 (-0,5187-0,1347) per CBD e 0,9233 (0,8188-1,0279) e -0,4555 (-1,1933- 0,2823) per THC. I grafici indicano buone correlazioni tra i risultati prodotti dai due laboratori sia per CBD che per THC

firmato digitalmente dai responsabili e inviato, a mezzo posta elettronica, entro 48 ore dal ricevimento del campione alle farmacie che hanno inviato il campione.

Lo schema generale della procedura è riportato nella Figura 5.

DISCUSSIONE

L'attuale normativa in materia di cannabis ad uso medico prevede che ciascun lotto di olio venga titolato per il contenuto di principi attivi per mezzo di strumentazione specifica (cromatografia liquida o gassosa accoppiata alla spettrometria di massa). In

particolare, la LC-MS/MS, presente in Liguria in alcuni laboratori clinici certificati che svolgono attività routinarie in ambito tossicologico e di monitoraggio terapeutico dei farmaci, garantisce elevata specificità ed accuratezza e una maggiore riproducibilità dei risultati. La conoscenza dell'esatto contenuto di cannabinoidi nelle preparazioni galeniche è importante per orientare correttamente i clinici nelle prescrizioni della terapia e per i farmacisti per valutare e assicurare la qualità della preparazione.

Il progetto sperimentale ha consentito di organizzare questa delicata attività presso due laboratori di riferimento regionale garantendo elevati standard di qualità e procedure certificate.

La realizzazione di questo progetto porta a numerosi vantaggi. Innanzitutto si ottiene una standardizzazione delle procedure di titolazione da parte delle farmacie ospedaliere che sono in questo modo tutte uniformate con un singolo protocollo operativo. Inoltre, i campioni possono essere trasportati in giornata dal personale delle ASL stesse con notevole risparmio sulle spese di trasporto e sulle tempistiche. Uno svantaggio potrebbe essere rappresentato dal fatto che una singola farmacia produttiva potrebbe dover spedire alternativamente ai due laboratori di riferimento anziché sempre allo stesso, come avveniva in precedenza, ma questo svantaggio viene ovviato dall'armonizzazione tra i due laboratori e la costante verifica della qualità che riduce al minimo la variabilità analitica inter-laboratorio.

Il protocollo di gestione del rischio adottato nel progetto può essere utilizzato come modello per altri progetti regionali e può essere esportato ad altre realtà extra-regionali.

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno.

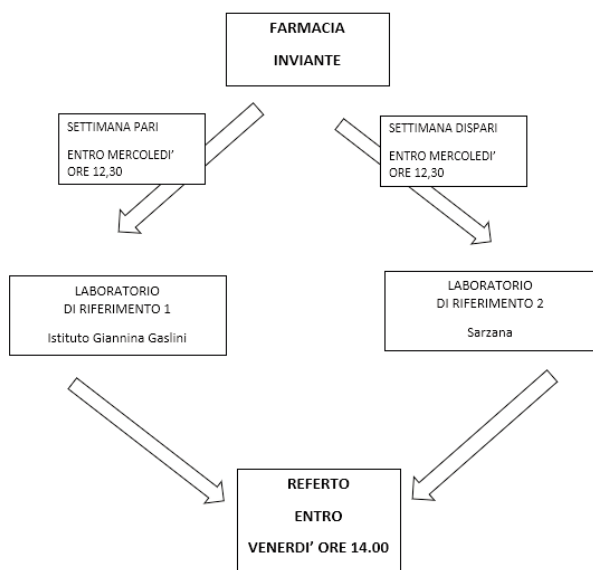


Figura 5

Schema generale dei flussi di lavoro e tempistiche di refertazione

BIBLIOGRAFIA

- Decreto Ministeriale 9 novembre 2015. Funzioni di organismo statale per la cannabis previsto dagli articoli 23 e 28 della convenzione unica sugli stupefacenti del 1961, come modificata nel 1972. (15A08888). Gazzetta Ufficiale Serie Generale n.279 del 30-11-2015). [https://www.epicentro.iss.it/farmaci/pdf/Decreto%20uso%20medico%20Cannabis%20\(GU%2030.11.2015\)%20.pdf](https://www.epicentro.iss.it/farmaci/pdf/Decreto%20uso%20medico%20Cannabis%20(GU%2030.11.2015)%20.pdf) (ultimo accesso: aprile 2020).
- Degenhardt F, Stehle F, Kayser O, et al. The biosynthesis of cannabinoids. In: Handbook of cannabis and related pathologies: biology, pharmacology, diagnosis, and treatment. Preedy VR (Ed). Academic Press, Elsevier, London, UK, 2017.
- Elsohly MA, Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci* 2005;78:539-48.
- Russo EB. Cannabinoids in the management of difficult to treat pain. *Ther Clin Risk Manag* 2008;4:245-59.
- Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol* 2011;163:1344-64.
- Russo EB, McPartland JM. Cannabis is more than simply delta(9)-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)* 2003;165:431-32.
- Huestis MA, Solimini R, Pichini S et al. Cannabidiol adverse effects and toxicity. *Curr Neuropharmacol* 2019;17:974-99.
- Mannucci C, Navarra M, Calapai F et al. Neurological aspects of medical use of cannabidiol. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2017;16:541-53.
- Gurney SM, Scott KS, Kacinko S et al. Pharmacology, toxicology, and adverse effects of synthetic cannabinoid drugs. *Forensic Sci Rev* 2014;26:53-78.
- Pacifici R, Marchei E, Salvatore F et al. Evaluation of long-term stability of cannabinoids in standardized preparations of cannabis flowering tops and cannabis oil by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:94-6.
- http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_5.jsp?lingua=italiano&area=sostanzeStupefacenti&menu=organismo (ultimo accesso: aprile 2020).
- Barco S, Fucile C, Manfredini L, et al. A UHPLC-MS/MS method for the quantification of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in decoctions and in plasma samples for therapeutic monitoring of medical cannabis. *Bioanalysis* 2018 doi: 10.4155/bio-2018-0184.
- Pacifici R, Marchei E, Salvatore F et al. Evaluation of cannabinoids concentration and stability in standardized preparations of cannabis tea and cannabis oil by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1555-63.
- Pacifici R, Marchei E, Salvatore F et al. Stability of cannabinoids in cannabis FM1 flowering tops and oil preparation evaluated by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:e165-e168.
- Romano, LL, Hazekamp A. Cannabis oil: Chemical evaluation of an upcoming cannabis- based medicine. *Cannabinoids* 2013;1:1-11.
- Società Italiana Farmacisti Preparatori (SIFAP). (2016). Estratto oleoso di infiorescenze femminili di Cannabis. <https://www.sifap.org/procedure/estrazione-oleosa-di-infiorescenze-femminili-di-cannabis>. (ultimo accesso: maggio 2020).
- Carcieri C, Tomasello C, Simiele M, et al. Cannabinoids concentration variability in cannabis olive oil galenic preparations. *J Pharm Pharmacol* 2018; 70: 143-9.
- Delibera Regionale dell'Agenzia Ligure Sanitaria n.78/2018 dell'11/04/2018. https://www.alisa.liguria.it/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=339&Itemid=116&limitstart=70 (ultimo accesso maggio 2020)
- Citti C, Braghiroli D, Vandelli MA et al. Pharmaceutical and biomedical analysis of cannabinoids: A critical review. *J Pharm Biomed Anal* 2018;147:565-79.
- Delibera Regionale dell'Azienda Ligure Sanitaria della Regione Liguria. 68/2020 del 4/3/2020. https://www.alisa.liguria.it/index.php?option=com_docman&view=docman&Itemid=116&limitstart=60 (ultimo accesso maggio 2020).
- A. D'Avolio, M. Cantù, J. Gervasoni et al. per il Gruppo di Studio SIBioC - Medicina di Laboratorio "La spettrometria di massa: applicazioni e innovazioni diagnostiche" Bioanalytical method validation of quantitative mass spectrometry based assay: Experimental protocols and regulations. *Biochim Clin* 2018;42:51-61.
- EMA, Committee for Medicinal Products for Human Use. Guideline on bioanalytical method validation. E M E A / C H M P / E W P / 1 9 2 2 1 7 / 2 0 0 9 . https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf (ultimo accesso maggio 2020).