

SCREENINGOVÉ METODY - CÍLENÉ A NECÍLENÉ

RYCHLÁ ANALÝZA S MINIMÁLNÍ PŘÍPRAVOU VZORKU

APLIKACE DIAGNOSTICKÝCH REAKCÍ

APLIKACE MODERNÍ INSTRUMENTACE

CÍLENÁ ANALÝZA ZAMĚŘENÁ NA OČEKÁVANÉ SLOUČENINY

NECÍLENÁ ANALÝZA ZAMĚŘENÁ NA MONITORING (MARKERŮ)

Uvedení rámce screeningu

Známý citát (Donald Rumsfeld, 02/2002)

There are known knowns; there are things we know that we know.

There are known unknowns; that is to say, there are things that we now know we don't know.

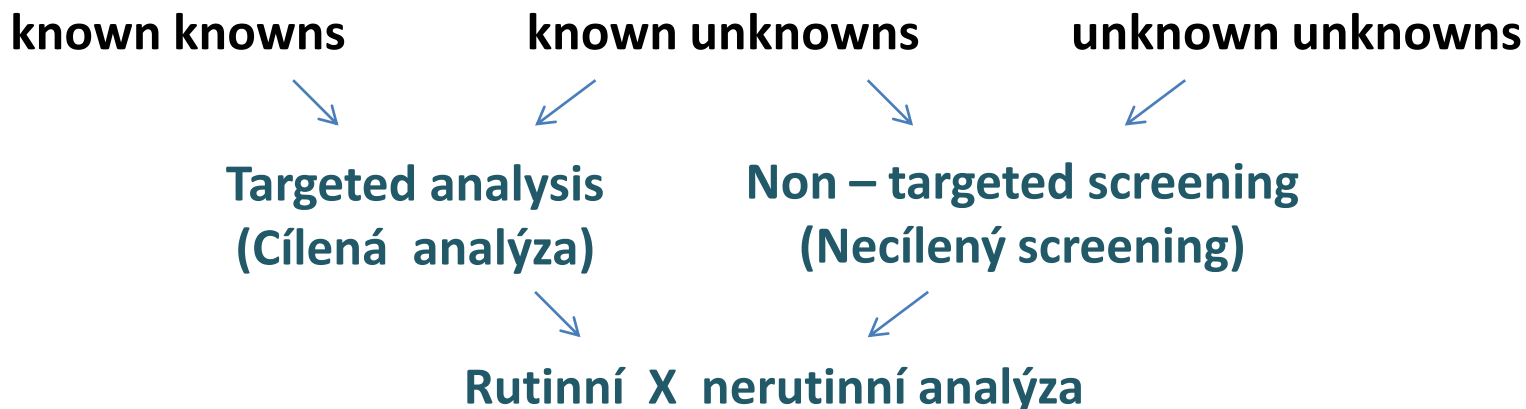
But there are also unknown unknowns – there are things we do not know we don't know.

Existují(e) známé známé; tedy věci, o kterých víme, že o nich víme (že je známe).

Existují(e) známé neznámé; tedy věci, o kterých víme, že o nich nevíme (že je neznáme).

Ale existují(e) také neznámé neznámé; tedy věci o kterých nevíme, že o nich nevíme (že je neznáme).

Vztahy mezi hledanými informacemi a způsoby měření



Definice

Screening – rychlé zjištění potřebné informace ; třídění vzorků
(obsah – přítomnost sloučeniny v daném materiálu)
s definovanou přesností a spolehlivostí;
cílený X necílený

Monitoring – zjištění komplexní informace; cílený i necílený

Rutiní analýza – analýza pomocí dlouhodobě (prakticky) ověřeného postupu;
obvykle robustní a spolehlivá metoda

Cílená analýza – zaměřená na známý analyt, předpokládaný rozsah koncentrací, forma

Necílená analýza – zaměřená na širší spektrum analytů;
hledání neobvyklých kombinací, koncentrací apod.

Možnosti moderních metod

Kontrola očekávaných známých sloučenin

– cílená rutinní analýza

Identifikace neočekávaných známých sloučenin

– cílená nerutinní analýza nebo necílená analýza

Identifikace neočekávaných neznámých sloučenin

– necílená analýza

Retrospektivní vyhodnocení (reanalýza již naměřených dat)

– zpětné ověření přítomnosti původně neznámé sloučeniny
(bez nutnosti reanalýzy vzorku)

Komplexní interpretační informace

– profily, markery → původ, složení, změny, záměny

Třídění informací → posloupnost analýzy

Historie vzorku

Předpokládaný stav, změny, dostupné informace, hypotézy

Vzorkování – definice materiálu, na který se vztahuje interpretace výsledku (koncentrace, obsah, distribuce analytu apod.)

Přímé měření – kvalitativní charakterizace daného bodu

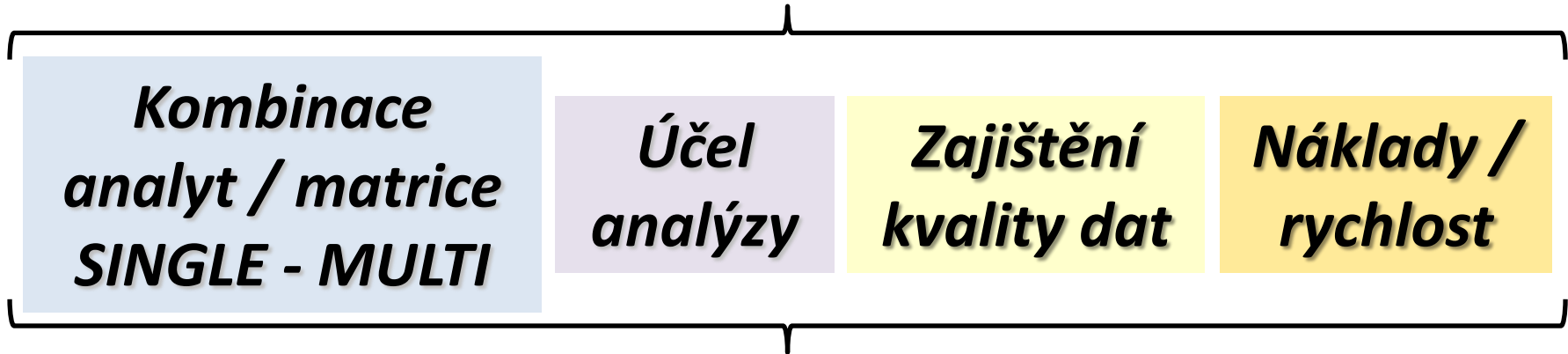
Cílená analýza X necílená analýza

Opakovaná cílená analýza

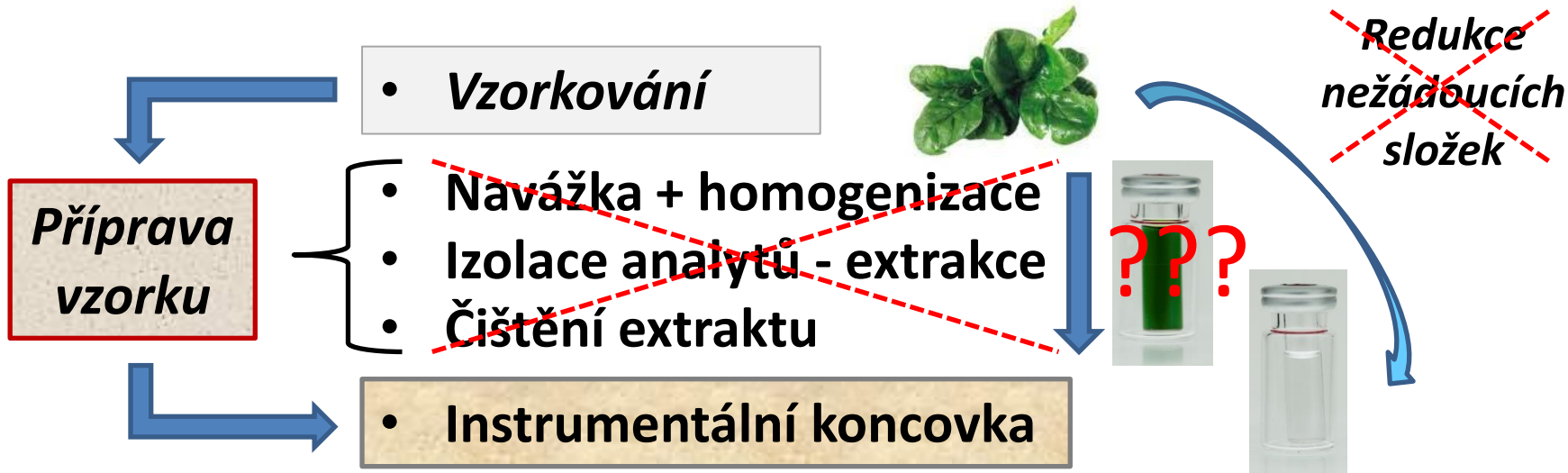
Retrospektivní analýza již naměřených dat

Validace dat – interpretace / zhodnocení hypotézy

POŽADOVANÁ INFORMACE



ANALYTICKÝ POSTUP



Metody analýzy

1. Screeningové kity – chemická, imunochemická reakce
 - rychlost vyhodnocení, spolehlivost

2. Instrumentální analýza – nedestruktivní X destruktivní
 - přímá analýza, analýza extraktů, pyrolytické metody

1. Screeningové kity

a) Chemická reakce – vznik barevného produktu

- selektivita, rychlost, spolehlivost

b) Imunochemická reakce – vznik barevného produktu

- selektivita X cross reaktivita, rychlost, spolehlivost

Jednoznačnost podle návodu použití, zkušenost, účelovost, koncentrační rozsah, použitelnost

- garance funkčnosti – testovací verifikace před měřením nebo paralelně při měření (zařazení referenčního materiálu nebo kontrolní proužek)

2. Instrumentální analýza

a) **Statické přístroje** – laboratoř – doprava vzorků – analýza laboratorního vzorku – kompletní dostupná zařízení a přístroje

b) **Přenosné přístroje** – terénní aplikace

nedestruktivní vzorkování - analýza kapalin, extraktů

- přímá analýza – např. IČ nebo Ramanova spektroskopie

(ne)destruktivní vzorkování – typicky vypařování / pyrolýza

- vyhřívaný konec vzorkovací trubice („vysavače“)
nasátí par vypařeného / pyrolyzovaného vzorku
a porovnání s databází (spektra - UV, VID, IČ, MS)

Laboratorní vs. terénní analýza

Statická vs. přenosná zařízení

- *rychlost, univerzálnost vs. spolehlivost, specifita*

Laboratoř statická - širší možnosti, stálost podmínek

Pojízdná laboratoř nebo přenosné přístroje

- kratší cesta/čas vzorku k analýze
- nižší riziko – zničení/poškození, změny původního charakteru
- více specializovaný záběr, omezená vhodnost postupů

Typy screeningu

1. Cílený screening

Účelově vyrobené kity

Standardní operační postupy

Validované – akreditované metody

Víme co a kde hledáme, předpokládáme hladinu, stanovujeme obsah, koncentraci, odchylku od normálu – předpokladu

Vybočení do nízkých či vysokých hodnot při zachování ostatních podmínek měření – neověřená přesnost \Rightarrow možnost použití při ověření jinou metodou (oblast nededikovaná výrobcem)

Typy screeningu

2. Necílený screening

Cílem maximální záchyt informací

Praktická volba šíře záběru – musíme volit určité omezení podle předpokladu

Primární sběr dat co nejširší – následně cílené zpracování

Retrospektivní analýza dat s modifikovaným zadáním

Případná cílená reanalýza uložených vzorků

TYP SCREENINGU - CÍL INTERPRETACE – OČEKÁVANÉ ODPOVĚDI

A) Predikční screening – identifikace látky / zjištění charakteru

Je látka přítomna nebo testovaná charakteristika odpovídá hledané matrici?

Ano - případně další stupeň testů – kvantita, souvislosti

Ne - negativní stopa (posouzení spolehlivosti – charakterizace falešně pozitivních a negativních nálezů, LOD apod.)

Predikční lokalizační screening

TYP SCREENINGU - CÍL INTERPRETACE – OČEKÁVANÉ ODPOVĚDI

B) Potvrzovací (konfirmační) / kvantifikační screening

Jaké je množství látky nebo charakteristické matrice / materiálu?

Makro měřítko X mikro množství X stopové koncentrace

TYP SCREENINGU - CÍL INTERPRETACE – OČEKÁVANÉ ODPOVĚDI

C) Interpretace / validace

Splňuje provedený test očekávání?

Potvrzení hypotézy

Vyvrácení hypotézy

PRAKTICKÉ APLIKACE

1A. PŘÍKLADY KLASICKÝCH TESTŮ (např. SCREENINGOVÉ KITY)

Přítomnost tělních tekutin: nescificky po ozáření lampou (možné záměny sperma, moč, vaginální tekutina nebo falešně negativní po ovlivnění podmínkami – t, H₂O, O₂, MO)

- např. specificky sperma: test na přítomnost kyselé fosfatázy
 - reakce s α -naftylfosfátem za přítomnosti o-dianisinu na růžové až fialové zbarvení

Krev: skvrny – H₂O₂

Kastle-Meyer test - fenolftalein: bezbarvá → růžovofialová (selekt.)

leukomalachitová zeleň: bezbarvá → zelená (selektivní)

o-tolidine: bezbarvá → zelená (citlivý)

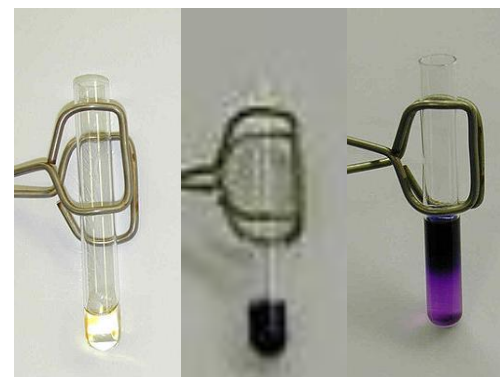
tetramethylbenzidin: bezbarvá → modrozelená (citlivý)

PRAKTICKÉ APLIKACE

1B. PŘÍKLADY KLASICKÝCH TESTŮ (např. SCREENINGOVÉ KITY)

Kokain - kobalt thiokyanátový test (Scottův test):
modrá/růžová – $[\text{Co}(\text{SCN})_2 + \text{HCl} + \text{Glycerin} + \text{CHCl}_3]$

Marihuana / hašiš - Duquenois-Levine test
bezbarvá → růžovofialová
 $[\text{vanilin} + \text{CH}_3\text{CHO} + \text{EtOH} + \text{HCl} + \text{CHCl}_3]$



Narkotika (alkaloidy) - Marquisovo činidlo
různá zbarvení podle indikace konkrétní sloučeniny
např. heroin – nachově červená
 $[\text{formaldehyd} + \text{H}_2\text{SO}_4]$

PRAKTICKÉ APLIKACE

2A. PŘÍKLADY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY - TERÉNNÍ

Infračervená spektrometrie – identifikace složek okolního prostředí – IČ spektrometr SIGIS (Bruker)

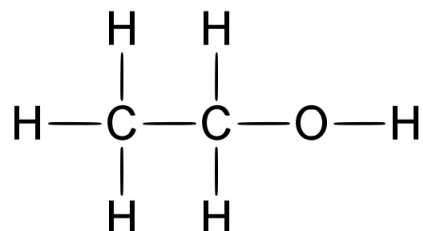
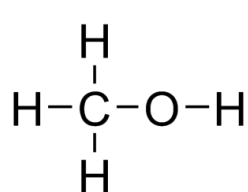
Ramanova spektrometrie – TruNarc (Thermo Scientific)
metamfetamin (pervitin), kokain, heroin adal.

Hmotnostní spektrometrie – přímé nasávání okolní atmosféry, vzorkování povrchu / pomocné vyhřívání (Bruker, Thermo Scientific)

PRAKTICKÉ APLIKACE

2B. PŘÍKLADY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY - LABORATORNÍ

Analýza methanolu X záměna za ethanol



1. Vzorkování – zajištění zdrojového materiálu, výrobků, náhradních obalů, sklenic apod.
2. Laboratorní příjem vzorků – třídění, charakterizace (objem, očekávaná koncentrace, další příměsi)
3. Volba analytického postupu – rychlá analýza: Ramanova spektr.
instrumentální analýza: GC-FID nebo MS
(obě sloučeniny – poměr)
klasická analýza: oxidace na formaldehyd, reakce s kyselinou fuchsinsiřičitou, SPFM při 590 nm

PRAKTICKÉ APLIKACE

2C. PŘÍKLADY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY - LABORATORNÍ

Necílený screening – např. požadavek na zjištění příčiny nežádoucího zápachu ve výrobku

1. Vzorkování – zajištění zdrojového materiálu / referenčního vzorku, výrobků, náhradních obalů, sklenic apod.
2. Zhodnocení vstupů ovlivňujících konečný výrobek
3. Laboratorní příjem vzorků – třídění, charakterizace (objem, očekávaná koncentrace, další příměsi)
4. Volba analytického postupu – zaměření na těkavé látky
přímá MS analýza - DART/MS
GC-MS analýza – přímo vzorek nebo extrakt
SPME/GC-MS
Identifikace: MS spektra, RT, RTI