

ANALYTICAL MISTAKES AT THE STAGE OF SECURING AND PREPARING MATERIAL FOR TOXICOLOGICAL ANALYSIS

Wojciech LECHOWICZ¹, Roman STANASZEK¹, Andrzej PARCZEWSKI²

¹ *Institute of Forensic Research, Cracow*

² *Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, Cracow*

ABSTRACT: Human error can occur at every stage of toxicological analysis. Another source of error is unforeseeable circumstances that are connected with use of instruments.

Toxicological expert analysis should be considered as the entire process: sampling, delivery to laboratory, storage, toxicological analysis and finally, reporting of results. This paper covers all the main aspects of the preparation of an expert analysis and points out the most important pitfalls that may occur during a procedure using evidence material. In our discussion of the above mentioned areas, we followed the so-called chain of custody.

KEYWORDS: Toxicological analysis; Pre-analytical pitfalls; Analytical pitfalls; Interpretation.

Problems of Forensic Sciences, vol. LIV, 2003, 93–105

Received 20 November 2003; accepted 10 December 2003

INTRODUCTION

Uncertainty as to the correctness of results of chemical analysis has its source in errors made at all stages of the analytical process. Generally, the analytical process encompasses the following stages: taking samples for analysis from the evidence material, securing and storing samples, preparing samples for measurement by instruments (e.g. mineralisation, homogenisation, converting a solid sample into a solution, extraction and concentration of analytes etc.) and also analytical measurement using appropriate apparatus (e.g. GC/ECD, GC/MS, LC/MS, IC, CE, AAS, AES etc.). The last stage of the process is a statistical and chemometric conversion of raw measurement data into a understandable result, facilitating the drawing of conclusions from the analysis.

Analysis error “translates into” uncertainty of conclusions drawn from examinations. That is why analysis error affects the quality of results gained. Apart from gross error (a source of diverging, distant results), there

are systematic and random errors. Systematic errors, if they occur at successive stages of analysis may, fortunately, be reduced or, what is worse, they may add up. The systematic error of the analytical method can be determined (estimated), by analysing appropriate certified reference material.

Random errors always occur. Their measure is the mean standard deviation (standard error), which is the square root of the variance. If the sources of error at particular stages of analysis are not dependant on each other, then the variance of the whole analytical process is the sum of the variances linked with each stage. Thus the stage which is most exposed to uncontrolled error, i.e. is characterised by the greatest variance, has a decisive influence on the total random error of the analysis. As a rule, in the case of determining analytes in complex (difficult) matrices, the first stages of the analytical process (collecting material for examination, securing it and storing and preparing it for examination) are the sources of greatest errors.

A series of papers, e.g. [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7], has been devoted to validation of analytical methods and sources of possible mistakes in forensic examinations, especially toxicological analysis. In this paper we have summarised the experiments and observations of other authors, which have been supplemented with our own, concentrating on the stage of preparing material for forensic examinations. That is why the forensic aspects of the above mentioned general problems of chemical analysis, especially consequences of errors committed in toxicological analysis, have been discussed in detail.

SECURING AND PREPARING SAMPLES

Errors can occur in chemo-toxicological analysis, just as they can in every other kind of chemical analysis. In the case of analysis performed for forensic purposes, their importance should be assessed especially critically.

The main division of stages in chemo-toxicological is similar to that in analytical chemistry. Mistakes that occur can be divided into [6]:

- preanalytical (e.g. during collection, transportation, documentation);
- analytical (e.g. occurrence of interference, low efficiency of extraction);
- pharmacokinetic (e.g. induction of enzymes);
- pharmacodynamic (e.g. not taking into account tolerance);
- interpretation (e.g. drawing conclusions/inferences on the basis of the presence of metabolites of matrix concentrations of compounds).

At the stage of preparatory procedure, the chain of custody is obligatory, every link of which should be well documented. Then the history of a given piece of material evidence in a case can be investigated. Gaps in an evidence chain are a sources of uncertainty, which most frequently result in the occurrence of interpretational errors.

The technical aspect of analysis, however, begins from the moment of disclosure of a sample and its appropriate collection. A sample should not only be representative, but also appropriate for the needs of analysis. An example is the collection of a hair sample from a driver for the purpose of analysing it for the presence of substances acting similarly to alcohol. Of course, one can speculate on the subject, arguing that the presence of narcotics in hair may indicate addiction, and hence be evidence on the basis of which the driving licence should be taken away. However, the presence of narcotics does not indicate that the driver was under the influence of such substances while driving.

Looking further at the example of the hair sample, we should turn our attention to the correct method of describing (marking) the evidence, which is a significant link in the evidence chain, e.g. correct marking of the end and beginning of such a sample. In the case of a mistake, only results gained from the middle portion of such a hair sample will correspond to the correct period.

In the case of biological samples, one of the first activities carried out before analysis is thawing of the sample. A too short period of thawing – resulting in a non-homogenous sample – may lead to mistakes. Thus haste is not recommended.

As Karl-Siegfried Boos states based on the Advenstar Communication report, over 25% of all mistakes committed occur at the stage of preparation of samples. Successive factors are: contaminations, integration of chromatographic peaks, error of the person carrying out the study, introduction of the sample and technical factors [1].

TRANSFERENCE OF METHODS (ADAPTATION)

The term “adaptation of methods” should be understood to mean adapting existing (ready) procedures to laboratory possibilities. Errors that occur then are most frequently a combination of mistakes or carelessness both by the creator of the method and by the person adapting it. The mistakes that are felt most strongly are inadequacies in the analytical procedure itself, such as:

- conditions of storage of sample have not been precisely defined;
- sample collection has not been accurately recorded;
- lack of description of equipment used for preparation of samples;
- lack of or unclear description of preparation of working samples and their stability;
- non-precise description of preparation of sample;
- stability of analyte in conditions of analysis not defined;
- method of preparing calibration and reference samples not described.

Another bad practice is placing only the best chromatograms in the report, which leads to all failures during application of the adapted method being ascribed to errors on the part of the adapting person.

These shortcomings and inaccuracies are removed by the person adapting the method. If this is not supported by appropriate research, but only supplemented by information collected from other sources, e.g. publications, then the method created in this way is at best a compilation of at least two procedures. This does not mean that it is possible to apply it effectively.

If the above mentioned mistakes can be ascribed to the creator of the procedure, then successive ones stem from its adaptations. In the latter category are: dubious quality of reagents, which is not uniform in different laboratories and also, e.g. non-identical equipment (e.g. low pressure pumps instead of high pressure pumps), various chromatographic columns, non-identical efficiency of detector etc.

During registration of data, incorrect set of acquisition parameters such as peak window, frequency of sampling or unspecified calibration model, are a source of successive mistakes.

Many mistakes are made during validation of the method. The five most important are:

- relative standard deviation calculated on the basis of two measurements only;
- a lack of data illustrating the effectiveness of the application used;
- not specifying what calibration model was applied;
- a lack of example results, e.g. chromatograms;
- an excess of results (often not in good order) gained during validation of the procedure.

Loose (disordered) analytical procedure and a sort of overestimation of one's abilities or experience means that a phenomenon jokingly referred to as NIH (not invented here) in analyst's jargon arises. It is characterised by a rather relaxed approach to a problem that has occurred. The attitude displayed by the analyst can be illustrated by quoting several statements that analysts have been overheard to utter:

- I wouldn't do it this way;
- too much solvent for rinsing out the analyte;
- I don't have such equipment, I'll have to improvise;
- I can easily improve the procedure;
- it's too complicated, in routine analysis you need something easier;
- WHO on earth came up with THIS METHOD?

Such attitudes are not conducive to success.

INTERFERENCE AND ADSORPTION

A problem which especially accompanies analysis of trace amounts of narcotics is interference from contaminants and components of the biological matrix. This phenomenon can be encountered both at the stage of developing the method and during optimisation and later application. To illustrate this phenomenon, a chromatogram is presented in Figure 1, gained during analysis of a solution of psilocin in a polypropylene vial. Flow injection analysis (FIA) was applied. A signal emanating from a component that had been rinsed out of the vial, which could constitute an interferent, increased with time.

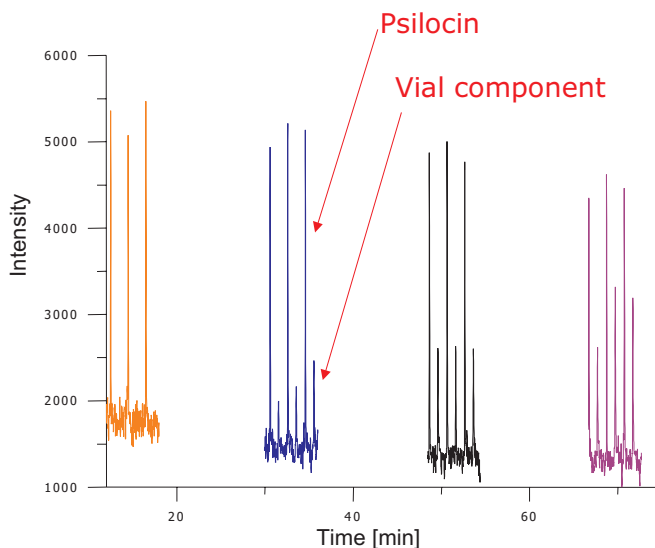


Fig. 1. Elution of psilocin and interfering component from polypropylene vial after their separation.

The total number of potential interferents, e.g. medicines taken, is most frequently not taken into account when developing a method; that is why it is difficult to exclude the occurrence of co-elution of the analyte with an interferent.

A fundamental mistake that arises is carelessness with respect to potential risks such as those mentioned above, in the case of application of so-called selective methods.

It should be stressed that application of even the most selective detector does not justify bypassing the phenomenon of interference. Just as application of even the most sensitive method does not entitle one to neglect the phenomenon of adsorption of analyte on the walls of the vessel.

The results of determination of psilocin in an acetonitril-water (50:50) solution at a concentration of 500 ng/ml in vials made of polypropylene, glass and silanised glass are presented in Figure 2. As can be seen on the graph, in the space of two hours, the concentration of psilocin decreases as a result of adsorption to about 40%.

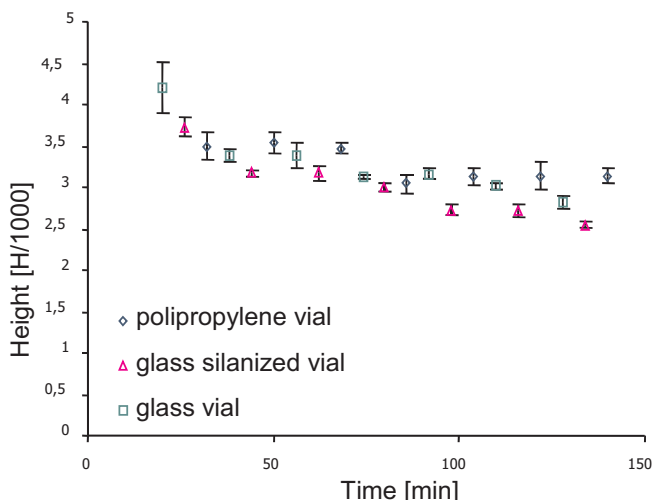


Fig. 2. Psilocin adsorption on the wall of vials made of different materials.

“DESIGNER DRUGS HAVE NOT BEEN DETERMINED”

No laboratory can detect all potential xenobiotics in studied biological material. The applied procedures most frequently encompass groups of substances with similar physico-chemical properties. Furthermore, they are groups with a finite number of detectable analytes. Illegal laboratories – with the aim of avoiding punishment for production of narcotics (substances acknowledged as illegal) – synthesise new substances (designer drugs) with narcotic properties, which most frequently are not covered by existing screening methods and are not taken into account in anti-narcotic legislation. In such situations, in the case of analysis, it is not a question of error. The list of so-called designer drugs and naturally occurring narcotics is long, e.g. myristicine, α -methyltryptamine (AMT) and bufotenine.

Widely applied screening tests using immunological methods are updated significantly less frequently than chromatographic methods developed in laboratories. Non-detection of a new narcotic is thus highly likely.

A separate issue arising during application of the above methods is the obtaining of false positive results. An example is falsely positive results in the case of examinations for the presence of amphetamine, where the person

has previously taken (the medication) Deprenil or Duspatalin or where phenylethylamine, a product of decarboxylation of phenylalanine was present in the blood [3]. In the case of tests for the presence of opium alkaloids, a falsely positive result occurs after taking Ryfampicine [7], and for the presence of LSD, after taking Ambroxol or Zoloft [5].

NEW EQUIPMENT, NEW PROBLEMS

In the years 2000–2003, liquid chromatographs coupled with mass spectrometers (LC/MS) began to appear in toxicological laboratories almost en masse. In conjunction with this, there was a commensurately rapid development of procedures using this method. A rapid conversion from GC/MS to LC/MS, however, turned out not to be so simple. LC/MS is, fundamentally, a coupling of two methods: high performance liquid chromatography and mass spectrometry. Unfortunately, at the beginning, technical realisation of coupling of these two methods turned out to be as difficult as the application side. Paradoxically, the new method came as a surprise to people and somewhat complicated life due to its complexity. In addition, insufficiently developed models of LC/MS apparatus caused some problems in this transitional phase. Laboratories that held back for a few years from buying new LC/MS apparatus behaved more sensibly.

SUMMARY

Summarising the above points, it should be emphasised that the decisive role in the occurrence of errors is played by the human factor: errors resulting from the functioning of apparatus can be limited to a significant degree by correct planning of the experiment.

Thus it seems justified to state that an analyst is only as good as the worst analysis carried out by him.

References:

1. Boos K. S., Kierunki rozwoju w dziedzinie przygotowania próbek w bioanalizie instrumentalnej, *GIT* 1997, t. 1, s. 11–15.
2. Kała M., Analiza toksykologiczna środków uzależniających, Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków 2001.
3. Kraemer T., Wennig R., Maurer H. H., The antispasmodic mebeverine leads to positive amphetamine results by fluorescence polarization immuno-

- assay (FPIA). Studies on the toxicological analysis of urine by FPIA and GC/MS, *Journal of Analytical Toxicology* 2001, vol. 25, pp. 333–338.
4. Pawłowski R., *Medyczo-sądowe badanie śladów biologicznych*, Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków 1997.
 5. Roehrich J., Zoerntlein S., Lotz J. [et al.], False positive LSD testing in urine samples from intensive care patients, *Journal of Analytical Toxicology* 1998, vol. 22, pp. 393–395.
 6. Schuetz H., Erdmann F., Verhoff M. A. [et al.], Pitfalls of toxicological analysis, *Legal Medicine* 2003, vol. 5, pp. 6–19.
 7. Van As H., Stolk L. M., Rifampicin cross-reacts with opiate immunoassay, *Journal of Analytical Toxicology* 1999, vol. 23, pp. 23–71.

BŁĘDY ANALITYCZNE NA ETAPIE ZABEZPIECZANIA I PRZYGOTOWANIA MATERIAŁU DO BADAŃ DO CELÓW TOKSYKOLOGICZNYCH

Wojciech LECHOWICZ, Roman STANASZEK, Andrzej PARCZEWSKI

WPROWADZENIE

Niepewność co do poprawności wyniku analizy chemicznej ma swoje źródło w błędach popełnianych na wszystkich etapach procesu analitycznego. Ogólnie, proces analityczny obejmuje następujące etapy: pobieranie z badanego materiału próbki do analizy, zabezpieczenie i przechowywanie próbki, przygotowanie próbki do pomiaru instrumentalnego (np. mineralizacja, homogenizacja, przeprowadzenie próbki stałej do roztworu, ekstrakcja i zateżnianie analitów itp.) oraz pomiar analityczny za pomocą odpowiedniej aparatury (np. GC/ECD, GC/MS, LC/MS, IC, CE, AAS, AES itp.). Ostatni etap procesu to statystyczne i chemometryczne przetwarzanie surowych danych pomiarowych w celu uzyskania czytelnego wyniku oraz możliwie najmocniejszych podstaw do wysuwania merytorycznych wniosków wpływających z analizy.

Błąd analizy przekłada się na niepewność wniosków wynikających z badań. Dlatego charakteryzuje on jakość uzyskanych wyników. Oprócz tzw. błędów „grubych” (źródło wyników odbiegających, odległych), mamy do czynienia z błędami systematycznymi i przypadkowymi. Błędy systematyczne, jeśli występują na kolejnych etapach analizy, mogą się szczęśliwie znosić lub co gorsza – sumować. Błąd systematyczny metody analitycznej można wyznaczyć (oszacować), analizując odpowiedni atestowany materiał odniesienia.

Błędy przypadkowe występują zawsze. Ich miarą jest średnie odchylenie standardowe (błąd standardowy) będące pierwiastkiem kwadratowym z wariancji. Jeśli źródła błędów na poszczególnych etapach analizy nie są od siebie zależne, wówczas wariancja całego procesu analitycznego jest sumą wariancji związanych z każdym etapem. Zatem o błędzie sumarycznym przypadkowym analizy decyduje etap (etapy) najbardziej narażony na niekontrolowane zmiany, czyli charakteryzujący się największą wariancją. Z reguły w przypadku oznaczania analitów w złożonych („trudnych”) matrycach pierwsze etapy procesu analitycznego (pobranie materiału do badań, jego zabezpieczenie i przechowywanie oraz przygotowanie do badań) są źródłami największych błędów.

Walidacji metod analitycznych oraz źródłom możliwych błędów w badaniach kryminalistycznych, w szczególności w analizie toksykologicznej, poświęcono szereg prac [np. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. W niniejszej pracy podsumowano doświadczenia innych autorów, które uzupełniono własnymi, skupiając się na etapie przygotowania materiału do badań wykonywanych dla celów sądowych. Dlatego powyższe ogólne problemy analizy chemicznej, w szczególności konsekwencje błędów popełnianych w analizie toksykologicznej, omówiono szczegółowo właśnie w aspekcie badań sądowych.

ZABEZPIECZANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Analiza chemiczno-toksykologiczna (AChT) narażona jest, podobnie jak każda inna analiza chemiczna, na występowanie błędów. W przypadku analizy wykonywanej dla celów sądowych ich waga powinna być oceniana szczególnie krytycznie.

Główny podział etapów AChT jest podobny do tego, który znany jest z chemii analitycznej. Występujące wówczas błędy można podzielić na [6]:

- przedanalityczne (np. podczas pobierania, transportu, dokumentacji);
- analityczne (np. występowanie interferencji, niska wydajność ekstrakcji);
- farmakokinetyczne (np. indukcja enzymów);
- farmakodynamiczne (np. nieuwzględnienie tolerancji);
- interpretacyjne (np. wnioskowanie na podstawie obecności metabolitów stężeń macierzystych związków).

Na etapie postępowania przygotowawczego obowiązuje reżim łańcucha dowodowego, którego każdy element powinien być dobrze udokumentowany. Można wówczas prześledzić historię dowodu rzeczowego w sprawie. Luki w łańcuchu dowodowym są źródłem niejasności, które najczęściej skutkują w postaci pojawiających się błędów interpretacyjnych.

Techniczny aspekt badania rozpoczyna się jednak od momentu ujawnienia próbki i jej odpowiedniego pobrania. Próbka powinna nie tylko być reprezentatywna, ale również odpowiednia dla potrzeb analizy. Jako przykład można podać pobranie próbki włosów od kierowcy w celu ich zbadania na obecność substancji działających podobnie do alkoholu. Oczywiście można spekulować na ten temat, argumentując, że obecność we włosach narkotyków może wskazywać na fakt uzależnienia, a tym samym być dowodem, na podstawie którego prawo jazdy powinno być odebrane. Nie będzie jednak wskazywać na przebywanie pod wpływem takich substancji podczas prowadzenia pojazdu.

Pozostając przy próbce włosów, należy zwrócić uwagę na poprawny sposób opisywania dowodu, co jest istotnym elementem łańcucha dowodowego, np. na właściwe oznaczenie końca i początku takiej próbki. W przypadku pomyłki uzyskane wyniki tylko w przypadku próbki środkowej części włosów będą odpowiadać odpowiedniemu okresowi.

W przypadku próbek biologicznych jedną z pierwszych czynności wykonywanych przed analizą jest rozmrożenie próbki. Zbyt krótki czas rozmrażania, a więc badanie próbki niehomogenicznej, może prowadzić do błędów. Pośpiech nie jest więc wskazany.

Jak podaje Karl-Siegfried Boos za raportem Advenstar Communication, ponad 25% wszystkich popełnianych błędów pojawia się na etapie przygotowania próbek. Kolejnymi czynnikami są zanieczyszczenia, integracja pików chromatograficznych, błąd osoby wykonującej badanie, wprowadzenie próbki oraz czynniki techniczne [1].

PRZENOSZENIE METOD (ADAPTACJA)

Pod pojęciem „adaptacji metod” należy rozumieć dostosowanie istniejących (gotowych) procedur do możliwości laboratorium. Pojawiające się wówczas błędy są najczęściej kombinacją pomyłek lub zaniedbań zarówno ze strony twórcy metody, jak i jej odtwórcy.

Najwyraźniej odczuwalne błędy to braki w samej procedurze analitycznej, takie jak np.:

- niesprecyzowane warunki przechowywania próbek;
- niedokładny protokół pobierania próbek;
- brak opisu sprzętu używanego podczas przygotowania próbek;
- brak lub niejasny opis przygotowania roztworów roboczych i ich stabilności;
- nieprecyzyjny opis przygotowania próbek;
- nieokreślona stabilność analitu w warunkach analizy;
- nieopisany sposób przygotowania próbek kalibracyjnych i referencyjnych.

Inną złą praktyką jest zamieszczanie w raporcie tylko najlepszych chromatogramów, przez co wszelkie niepowodzenia podczas stosowania adaptowanej metody są przyjmowane jako błąd po stronie odtwórcy.

Braki te i nieścisłości usuwane są przez osobę adaptującą metodę. Jeżeli nie jest to poparte odpowiednimi badaniami, a jedynie uzupełniane w oparciu o informacje zebrane z innych źródeł, np. publikacji, to stworzona w ten sposób metoda jest w najlepszym razie kompilacją co najmniej dwóch procedur. Nie oznacza to, że da się ją efektywnie zastosować.

O ile powyżej wymienione błędy przypisać można twórcy procedury, o tyle kolejne wynikają z prac nad jej adaptacją. Zaliczyć tu można wątpliwą jakość reagentów, która będzie niejednakowa w różnych laboratoriach oraz np. niejednakowy sprzęt (np. pompy niskociśnieniowe zamiast wysokociśnieniowych), różne kolumny chromatograficzne, niejednakową sprawność detektora itp.

Podczas rejestracji danych niewłaściwe ustawienie parametrów akwizycji takich, jak np. okna czasów retencji, częstotliwość próbkowania albo niesprecyzowany model kalibracyjny, są źródłem kolejnych błędów.

Sporo błędów jest popełnianych podczas walidacji metody. Pięć najpoważniejszych to:

- względne odchylenie standardowe (*RSD*) obliczane na podstawie dwóch pomiarów;
- brak danych dotyczących zastosowanej aplikacji ilustrujących jej efektywność;
- niesprecyzowanie, jaki model kalibracyjny został zastosowany;
- brak przykładowych wyników, np. chromatogramów;
- nadmiar wyników (często nieuporządkowanych) uzyskanych podczas walidacji procedury.

Niesprecyzowana (bałaganiarska) procedura analityczna oraz pewien rodzaj przeszacowania swoich umiejętności lub doświadczenia sprawia, iż pojawia się objaw żartobliwie nazywany w żargonie analityków syndromem NIH (z ang. *not invented here*), czyli „nie ja to wymyśliłem”. Charakteryzuje się on dość swobodnym podejściem do powstałego problemu. Postawę prezentowaną przez analityka można opisać kilkoma przykładowymi zdaniami wyjętymi wprost z jego ust:

- nie zrobiłbym tego w ten sposób;
- za dużo rozpuszczalnika do wypłukiwania analitu;
- nie mam takiego sprzętu, będę musiał improwizować;
- mogę w łatwy sposób ulepszyć procedurę;
- to jest zbyt skomplikowane, w rutynowej analizie potrzeba czegoś łatwiejszego;
- a w ogóle to KTO TO wymyślił?

Taka postawa nie rokuje sukcesu.

INTERFERENCJA I ADSORPCJA

Problem, który towarzyszy szczególnie analizie śladowych ilości narkotyków, to interferencja z zanieczyszczeniami oraz składnikami matrycy biologicznej. Ze zjawiskiem tym spotkać się można zarówno na etapie opracowywania metody, jak i jej optymalizacji i późniejszego stosowania. Dla zobrazowania tego zjawiska na rycinie 1 przedstawiono chromatogram uzyskany podczas analizy roztworu psylocyny w fiolce polipropylenowej. Stosowano przepływową analizę wstrzykową (FIA). Wraz z upływającym czasem, wzrastał sygnał pochodzący od wypłukiwanego z naczynia (fiolki) składnika, który mógłby stanowić interferent.

Całkowita liczba potencjalnych interferentów, np. przyjmowanych leków, najczęściej nie jest uwzględniana podczas opracowywania metody, dlatego trudno jest wykluczyć wystąpienie koelucji analitu z interferentem.

Podstawowy błąd, jaki się pojawia, to zaniedbanie zagrożeń z tej strony w przypadku stosowania tzw. metod selektywnych.

Należy zaznaczyć, że stosowanie nawet najbardziej selektywnego detektora nie uprawnia do pominięcia zjawiska interferencji, podobnie jak stosowanie nawet najbardziej czułej metody nie uprawnia do zaniedbania zjawiska adsorpcji analitu na ściankach naczyń.

Na rycinie 2 przedstawiono wyniki oznaczania psylocyny w roztworze acetonitryl/woda (50:50) o stężeniu 500 ng/ml w fiolkach wykonanych z polipropylenu, szkła i szkła silanizowanego. Jak widać na wykresie, w ciągu 2 godzin dochodzi do zmniejszenia stężenia psylocyny na skutek adsorpcji do około 40%.

NIE STWIERDZONO *DESIGNER DRUGS*

Żadne laboratorium nie jest w stanie wykryć wszystkich potencjalnych ksenobiotyków w badanym materiale biologicznym. Stosowane procedury najczęściej obejmują grupy substancji o podobnych właściwościach fizykochemicznych. Są to w dodatku grupy o skończonej liczbie możliwych do wykrycia analitów. Nielegalne laboratoria w celu uniknięcia kary za produkcję narkotyku (substancji uznanej za nielegalną) syntezują nowe substancje (*designer drugs*) o właściwościach narkotycznych, które najczęściej nie są objęte opracowanymi metodami skryningowymi i nie są uwzględnione w przepisach o charakterze antynarkotykowym. Wówczas w przypadku analizy nie można mówić o błędzie. Lista tzw. *designer drugs* oraz naturalnie występujących narkotyków jest długa, np. należy do nich mirystycyna, α -metyltryp-tamina (AMT) oraz bufotenina.

Stosowane powszechnie testy przesiewowe przy użyciu metod immunologicznych znacznie rzadziej ulegają aktualizacji niż metody chromatograficzne opracowywane w laboratoriach. Niewykrycie nowego narkotyku jest więc bardzo prawdopodobne.

Odrębnym zagadnieniem pojawiającym się podczas stosowania powyższych metod jest uzyskiwanie wyników fałszywie pozytywnych. Jako przykład można podać wyniki fałszywie pozytywne w przypadku badań na obecność amfetaminy, gdy osoba uprzednio przyjmowała leki Deprenil, Duspatalin lub w jej krwi znajdował się produkt dekarboksylacji fenyloalaniny, czyli fenyloetyloamina [3]. W przypadku badań na obecność alkaloidów opium wynik fałszywie pozytywny pojawia się po przyjęciu Ryfampicyny [7], a na obecność LSD po przyjęciu Ambroxolu lub Zolofu [5].

NOWY APARAT, NOWY PROBLEM

W latach 2000–2003 niemal masowo zaczęły trafiać do laboratoriów toksykologicznych chromatografy cieczowe sprzężone ze spektrometrami mas (LC/MS). W związku z tym nastąpiło równie masowe opracowywanie procedur z wykorzystaniem tej metody. Szybkie przeniesienie metody z GC/MS na LC/MS okazało się jednak nie tak proste. LC/MS jest w gruncie rzeczy sprzężeniem dwóch metod: wysokosprawnej chromatografii cieczowej oraz spektrometrii mas. Niestety, na początku techniczna realizacja sprzężenia tych dwóch metod okazała się równie trudna jak strona aplikacyjna. Paradoksalnie nowa metoda zaskoczyła i nieco skomplikowała prowadzenie badań poprzez swoją złożoność. Na dodatek nie dość dopracowane modele aparatów do LC/MS sprawiały w tym przejściowym okresie nieco kłopotów. Laboratoria, które wstrzymały się kilka lat z zakupem nowego aparatu do LC/MS, postąpiły rozsądniej.

PODSUMOWANIE

Reasumując powyższe punkty, należy podkreślić, iż w powstawaniu błędów decydującą rolę odgrywa czynnik ludzki, a wynikające z funkcjonowania aparatów błędy w znacznej mierze można ograniczyć poprzez prawidłowe planowanie eksperymentu.

Uprawnione wydaje się więc stwierdzenie, iż analityk jest tylko tak dobry, jak najgorzej wykonana przez niego analiza.