

Ensayo de etil glucurónido DRI®

IVD Para uso diagnóstico in vitro

REF 10015626 (3 kits de 18 ml)
10011723 (kit de 18 ml)
10011297 (kit de 68 ml)

**ADVERTENCIA: SOLO PARA EXPORTACIÓN.
PROHIBIDA SU VENTA EN EE. UU.**

Uso previsto

El inmunoensayo enzimático de etil glucurónido Thermo Scientific™ DRI de está indicado para la determinación cualitativa y cuantitativa de etil glucurónido en orina humana con valores discriminitorios de 500 ng/ml y 1000 ng/ml.

Este ensayo ofrece únicamente un resultado analítico cualitativo preliminar. Es necesario utilizar un método alternativo más específico con el fin de confirmar el resultado analítico. Los métodos de confirmación recomendados son la cromatografía de gases/cromatografía líquida-espectrometría de masas (GC/MS) y la cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS). Se han de aplicar las consideraciones clínicas y el buen juicio profesional ante cualquier resultado de una prueba de consumo de drogas, en particular cuando los resultados preliminares resulten positivos.

Resumen y explicación del ensayo

El etil glucurónido (EtG) es un metabolito directo del etanol que se forma tras la conjugación enzimática del etanol con el ácido glucurónico.^{1,2} El alcohol en orina suele detectarse solo durante unas pocas horas, mientras que el EtG se puede detectar hasta varios días después e incluso tras la completa eliminación del alcohol del cuerpo.³ En la actualidad, el EtG se detecta y controla mediante GC/MS y LC/MS/MS.^{4,5}

El ensayo de etil glucurónido DRI® se suministra en forma de inmunoensayo enzimático homogéneo líquido listo para usar. En el ensayo se emplean anticuerpos específicos que permiten detectar el etil glucurónido sin que reaccionen de forma cruzada significativamente con otros compuestos de glucurónido. Se basa en la competencia entre una droga marcada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y la droga libre presente en la muestra de orina por un número determinado de sitios de unión del anticuerpo específico. En ausencia de droga libre en la muestra, el anticuerpo específico se une a la droga marcada con G6PDH, con lo que provoca un descenso de la actividad de la enzima. Este fenómeno da lugar a una relación directa entre la concentración de la droga en la orina y la actividad enzimática. La enzima activa convierte NAD a NADH, lo que provoca un cambio en la absorbancia que se puede medir mediante espectrofotometría a 340 nm.

Reactivos

Reactivo de anticuerpo/sustrato:

Contiene anticuerpo monoclonal anti-etil glucurónido de ratón, glucosa-6-fosfato (G6P), y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en tampón Tris con azida de sodio como conservante.

Reactivo enzimático conjugado:

Contiene un derivado del etil glucurónido marcado con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) en tampón Tris con azida de sodio como conservante.

Materiales adicionales necesarios (se venden por separado):

REF	Descripción del kit
10011207	Calibrador negativo de etil glucurónido DRI, 25 ml
10011208	Calibrador de etil glucurónido DRI 100 ng/ml, 10 ml
10011210	Calibrador de etil glucurónido DRI 500 ng/ml, 10 ml
10011212	Calibrador de etil glucurónido DRI 1000 ng/ml, 10 ml
10011213	Calibrador de etil glucurónido DRI 2000 ng/ml, 10 ml
10012135	Control de etil glucurónido DRI 375 ng/ml, 25 ml
10012136	Control de etil glucurónido DRI 625 ng/ml, 25 ml
10012137	Control de etil glucurónido DRI 750 ng/ml, 25 ml
10012138	Control de etil glucurónido DRI 1250 ng/ml, 25 ml

⚠️ Precauciones y advertencias

PELIGRO: El ensayo de etil glucurónido (EtG) contiene $\leq 0,2\%$ de albúmina sérica bovina (BSA) y $\leq 0,5\%$ de anticuerpo específico contra el fármaco.

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H334 - Puede provocar síntomas de alergia o asma, o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

Evitar respirar los vapores o la neblina. Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. Llevar guantes de protección/ protección para los ojos/máscara de protección. En caso de ventilación insuficiente, llevar equipo de protección respiratoria. En caso de contacto con la piel: Lavar la zona con abundante agua y jabón. EN CASO DE INHALACIÓN: Si la víctima respira con dificultad, transportarla al exterior y manténgala en reposo en una posición en la que respire con comodidad. En caso de irritación o erupción de la piel: Buscar asesoramiento o asistencia médica inmediata. En caso de experimentar síntomas de dificultad respiratoria: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un lugar que esté en conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

1. Esta prueba está diseñada exclusivamente para uso diagnóstico in vitro. Los reactivos son nocivos por ingestión.
2. Los reactivos utilizados en los componentes del ensayo contienen $\leq 0,09\%$ de azida de sodio. Evite el contacto con la piel y las mucosas. Lave la zona afectada con abundante agua. Solicite atención médica inmediata en caso de contacto con los ojos o ingestión. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Al verter estos reactivos por el desagüe, hágalo siempre con grandes volúmenes de agua para evitar la acumulación de azidas. Limpie las superficies metálicas expuestas con hidróxido de sodio al 10%.
3. No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

Los reactivos se suministran listos para su uso; no es precisa ninguna preparación adicional. Los reactivos se han de conservar refrigerados de 2 a 8°C. Si se conservan de 2 a 8°C, abiertos o sin abrir, todos los componentes del ensayo son estables hasta la fecha de caducidad indicada en sus etiquetas respectivas. No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.

Recogida y preparación de las muestras

Recoja las muestras de orina en recipientes de vidrio o plástico. Se recomienda analizar muestras de orina recién recogidas.

Las Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs (Directrices Federales Obligatorias para los programas de pruebas de detección de drogas en entornos laborales) recomiendan que las muestras que no sean objeto de una prueba inicial en un plazo de 7 días desde su llegada al laboratorio deben colocarse en unidades de refrigeración seguras. Las muestras de orina deben mantenerse refrigeradas en todo momento mientras no se estén usando.

Las muestras dentro de un intervalo de pH de 4,5 a 11 resultan adecuadas para este ensayo.

Las muestras pipeteadas deben mantenerse libres de suciedad en todo momento. Las muestras demasiado turbias deben centrifugarse antes del análisis. Si se adulteran las muestras los resultados pueden ser erróneos. Si existen sospechas de adulteración de la muestra, obtenga otra muestra y envíe ambas muestras al laboratorio para su análisis. **Manipule todas las muestras de orina como si fueran potencialmente infecciosas.**

Procedimiento del ensayo

Para realizar este inmunoensayo, se pueden utilizar analizadores clínicos de bioquímica capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir las tasas enzimáticas a 340 nm y cronometrar la reacción con precisión.

Consulte las instrucciones específicas de aplicación de cada analizador para conocer los parámetros químicos antes de realizar el ensayo.

Control de calidad y calibración

Las buenas prácticas de laboratorio sugieren el uso de muestras de control con el fin de garantizar un correcto funcionamiento. Asegúrese de que los resultados del control se encuentren dentro de los intervalos establecidos en los procedimientos de laboratorio y las directrices. Si los resultados están fuera de los intervalos establecidos, los resultados del ensayo no serán válidos. Para el análisis cualitativo de las muestras, utilice el calibrador con un nivel discriminatorio de 500 o 1000 ng/ml. Para el análisis semicuantitativo, utilice todos los calibradores. Todos los requisitos de control de calidad se han de realizar de conformidad con las regulaciones o requisitos de acreditación locales, estatales y/o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

Los calibradores discriminitorios de 500 ng/ml y 1000 ng/ml se pueden usar como referencia de valor discriminatorio para distinguir entre las muestras "positivas" y "negativas". Una muestra que presente un cambio en el valor de la absorbancia (ΔA) igual o mayor que el valor obtenido con el calibrador discriminatorio se considera positiva. Una muestra que presente un cambio en el valor de la absorbancia (ΔA) menor que el valor obtenido con el calibrador discriminatorio elegido se considera negativa.

Resultados semicuantitativos

Se puede obtener una estimación aproximada de la concentración de etil glucurónido en las muestras trazando una curva patrón con todos los calibradores y cuantificando las muestras a partir de la curva patrón. Si la concentración de EtG de la muestra es mayor que el calibrador más alto, se puede diluir con el calibrador negativo y volver a analizar.

Intervalo de valores

El ensayo de etil glucurónido DRI está diseñado para su uso semicuantitativo en el intervalo de 100 ng/ml (calibrador más bajo) y 2000 ng/ml (calibrador más alto).

Limitaciones

1. Las características de funcionamiento del ensayo de etil glucurónido DRI no se han determinado en más líquidos corporales que en la orina humana.
2. El ensayo de etil glucurónido DRI se validó usando analizadores tras un lavado celular integral. Si su analizador no tiene sistema de lavado celular integral, póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.
3. Se debe tener cuidado a la hora de presentar los resultados, ya que en los valores de las pruebas de orina incluyen muchos factores, como la ingesta de líquidos y otros rasgos biológicos.
4. Existe la posibilidad de que otras sustancias no analizadas en el ensayo específico influyan en la prueba y produzcan resultados falsos.

Características típicas de funcionamiento

A continuación se muestran los resultados obtenidos con un analizador Hitachi 917. Los resultados que obtenga en su laboratorio pueden ser distintos de los que se presentan. Si necesita más información específica sobre el rendimiento del analizador, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Precisión

Los calibradores de control (375, 625, 750 y 1250 ng/ml) y de discriminación (500 y 1000 ng/ml) de etil glucurónido DRI se probaron en el modo cualitativo (mA/min) y semicuantitativo (ng/ml) con el protocolo del NCCLS modificado. Los resultados que se presentan a continuación se generaron realizando análisis a todas las muestras por sextuplicado, dos veces al día durante 10 días.

Resultados cualitativos (mA/min)

Calibrador/Control	Calibrador discriminatorio 500 ng/ml					
	Precisión intraensayo			Precisión total		
	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV
N=120						
375	392	2,1	0,5	392	2,9	0,7
500	417	2,1	0,5	417	3,1	0,7
625	439	2,0	0,5	439	2,7	0,6

Resultados cualitativos (mA/min)

Calibrador/Control	Calibrador discriminatorio 1000 ng/ml					
	Precisión intraensayo			Precisión total		
	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV
N=120						
750	461	2,4	0,5	461	3,4	0,7
1000	494	2,7	0,6	494	3,4	0,7
1250	524	2,7	0,5	524	3,8	0,7

Resultados semicuantitativos (ng/ml)

Calibrador/Control	Calibrador discriminatorio 500 ng/ml					
	Precisión intraensayo			Precisión total		
	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV
N=120						
375	373	11,3	3,0	373	18,1	4,9
500	502	10,5	2,1	502	19,4	3,9
625	623	13,2	2,1	623	22,3	3,6

Resultados semicuantitativos (ng/ml)

Calibrador/Control	Calibrador discriminatorio 1000 ng/ml					
	Precisión intraensayo			Precisión total		
	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV
N=120						
750	756	16,9	2,2	756	31,2	4,1
1000	993	21,1	2,1	993	34,3	3,5
1250	1232	23,0	1,9	1232	43,5	3,5

Caracterización del calibrador discriminatorio/recuperación de aditivos

Se prepararon los calibradores discriminatorios de 500 ng/ml y 1000 ng/ml y los de control $\pm 25\%$ añadiendo etil glucurónico a muestras de orina negativas sin EtG. Los calibradores discriminatorios y de control (n=21) se analizaron tanto en el modo cualitativo como en el semicuantitativo. Se analizaron los datos cualitativos para determinar la precisión y la exactitud de detección de los controles, y los datos semicuantitativos para determinar el porcentaje de recuperación y la precisión. Los resultados indican que los cuatro controles recuperaron de forma precisa en el modo cualitativo, ya que los controles negativos fueron negativos (relación inferior a la relación del calibrador discriminatorio) y los positivos fueron positivos (relación superior a la relación del calibrador discriminatorio). En el modo semicuantitativo, los controles se recuperaron en $\pm 10\%$ de los valores nominales. La precisión del CV fue $< 1,0\%$ en el modo cualitativo y $< 5,0\%$ en el modo semicuantitativo.

Interferencia con sustancias endógenas

La interferencia potencial del pH y las sustancias fisiológicas endógenas sobre la recuperación del etil glucurónico con el ensayo DRI se evaluó analizando la recuperación de dicho compuesto en los controles de $\pm 25\%$ con ambos calibradores discriminatorios (500 ng/ml y 1000 ng/ml) a los que se añadió ciertos volúmenes de dichas sustancias potencialmente modificadoras. No se observó interferencia alguna como consecuencia de la adición de los compuestos hasta las concentraciones que figuran a continuación.

Sustancia potencialmente modificadora	Concentración final (mg/dl)
Acetona	1000
Ácido acético salicílico	10
Ácido ascórbico	190
Ácido oxálico	30
Cafeína	10
Cloruro de sodio	900
Creatinina	400
Etanol	10
Galactosa	10
Glucosa	3000
Hemoglobina	300
Ibuprofeno	10
Paracetamol	10
Riboflavina	3,75
Seroalbúmina humana	500
Urea	1000
pH	4,5-11,0

Especificidad

La reactividad cruzada del compuesto original etanol y los compuestos de glucurónidos que se suelen encontrar en la orina se analizó con el calibrador discriminatorio de 500 ng/ml. Las soluciones de reactivos cruzados se prepararon añadiendo cierta cantidad de cada compuesto a orina sin etil glucurónico. Con todos los compuestos se obtuvo un resultado negativo con las concentraciones de la tabla siguiente.

Compuesto	Conc. (ng/ml)
Acetaldehído	10.000
Ácido glucurónico	10.000
Alprazolam glucurónico	10.000
Buprenorfina glucurónico	10.000
Butanol	10.000
D-glucosa	10.000
Etanol	100.000
Etilenglicol	10.000
Hidroxycumarina glucurónico	10.000
Isopropanol	10.000
Lorazepam glucurónico	10.000
Metanol	10.000
Metil glucurónico	5000
Morfina-3-glucurónico	10.000
Morfina-6-glucurónico	10.000
Norbuprenorfina glucurónico	10.000
n-propanol	10.000
Oxazepam glucurónico	10.000
p-nitrofenil glucurónico	10.000
Termazepam glucurónico	10.000
Testosterona glucurónico	10.000

La reactividad cruzada de los compuestos no relacionados estructuralmente se analizó en un ensayo con calibrador discriminatorio de 500 ng/ml. Con todos los compuestos se obtuvo un resultado negativo con las concentraciones de la tabla siguiente.

Compuesto	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)
6-acetil morfina	500
Ácido acetilsalicílico	500
Amitriptilina	100
Amoxicilina	100
Anfetamina	1000
Benzoilecgonina	1000
Cafeína	100
Carbamazepina	500
Cimetidina	500
Clomipramina	100
Clorpromacina	100
Codeína	1000
Desipramina	1000
Dextrometorfano	200
Dihidrocodeína	1000
Doxepina	200
Efedrina	2000
Fenciclidina	1000
Fenobarbital	1000
Fentanilo	200
Flufenazina	500
Fluoxetina	1000
Heroína	1000
Hidrocodona	200
Hidromorfona	200
Ibuprofeno	1000
Imipramina	1000
Levorfanol	500
Maprotilina	1000
Meperidina	1000

Compuesto	Conc. (µg/ml)
Metadona	1000
Metronidazol	500
Morfina	1000
Morfina-3-glucurónido	1000
Nalbufina	1000
Naltrexona	3000
Norcodeína	1000
Normorfina	1000
Nortriptilina	500
Oxazepam	500
Oxicodona	500
Paracetamol	500
Ranitidina	500
Secobarbital	1000
Talwin	500
Tebaina	100
Tioridazina	500
Tramadol	500

Bibliografía

1. Ethyl Glucuronide: An unusual Ethanol Metabolite in Humans. Synthesis, Analytical Data, and Determination in Serum and Urine. Schmitt G., et al. Journal of Analytical Toxicology. 1995, 19:91-94.
2. Comparison of Urinary Excretion Characteristics of Ethanol and Ethyl Glucuronide. Dahl H., et al. Journal of Analytical Toxicology. 2002, 26:201-204.
3. Ethyl Glucuronide- the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. Wurst FM et al. Addiction. 2003, 98 (S2) 51-61.
4. Preliminary immunochemical test for the determination of Ethyl Glucuronide in serum and urine: Comparison of screening method results with Gas Chromatography- Mass spectrometry. Zimmer H., et al. Journal of Analytical Toxicology. 2002, 26:11-16.
5. Confirmatory Analysis of Ethyl Glucuronide in urine by liquid chromatography/ Elctrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry according to forensic guidelines. Weinmann W. et al. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2004, 15(2):188-193.

Linealidad

La linealidad del ensayo se determinó analizando la recuperación de la dilución de una serie de muestras de etil glucurónido del ensayo. Se diluyó en serie una muestra con 2000 ng/ml de etil glucurónido en orina sin EtG en incrementos del 25% respecto a los calibradores de discriminación. Las muestras se analizaron en el ensayo tanto en el modo cualitativo como en el semicuantitativo. Todas las muestras se recuperaron con valores dentro del $\pm 20\%$ de los previstos en el modo semicuantitativo y en la relación prevista (mA/min) en el modo cualitativo, lo que indica que el ensayo es lineal hasta los 2000 ng/ml.

Exactitud

Se analizaron 184 muestras con el ensayo de etil glucurónido DRI en los modos cualitativo y semicuantitativo, y los resultados se compararon con los del método LC/MS/MS. Tanto en el modo cualitativo como en el semicuantitativo, la coincidencia positiva entre las muestras analizadas con el ensayo de EtG DRI y la LC/MS/MS fue del 96%. Los resultados obtenidos en los modos cualitativo y semicuantitativo se resumen a continuación.

Resultados cualitativos: de las 184 muestras, usando el calibrador de discriminación de 500 ng/ml se detectaron 94 muestras positivas y 85 negativas, y con el de 1000 ng/ml, 44 muestras fueron positivas y 138 negativas, tanto con el inmunoensayo como con la LC/MS/MS. La coincidencia total entre el inmunoensayo y la LC/MS/MS fue del 97%. Con el calibrador de discriminación de 500 ng/ml se detectaron cinco muestras discordantes y con el del 1000 ng/ml dos.

		Calibrador disc. de 500 ng/ml LC – MS/MS		Calibrador disc. de 1000 ng/ml LC – MS/MS	
		+	-	+	-
Ensayo de EtG DRI	+	94	2 [†]	44	0
	-	3 [*]	85	2 [‡]	138

* En el inmunoensayo, dos de las tres muestras se consideraron en el límite del negativo. Una muestra de la LC/MS/MS se consideró en el límite del positivo.

† En el inmunoensayo las muestras se consideraron en el límite del positivo.

‡ En el inmunoensayo, las muestras se consideraron en el límite del negativo. Los valores de la LC/MS/MS se encontraban entre 1000 y 1250 ng/ml.

Resultados semicuantitativos: en el modo semicuantitativo, las muestras con una concentración de EtG >500 ng/ml y 1000 ng/ml se consideraron positivas en el inmunoensayo. De las 184 muestras, 94 se detectaron como positivas y 85 como negativas tanto mediante el inmunoensayo como mediante LC/MS/MS.

		LC – MS/MS	
		+	-
Ensayo de EtG DRI	+	94	2 [*]
	-	3 [†]	85

* Las muestras fueron las mismas que en el modo cualitativo con 500 ng/ml.

† Las muestras fueron las mismas que en el modo cualitativo con 500 ng/ml.



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 EE. UU.
Servicio técnico y de
asistencia al cliente en EE. UU.:
1-800-232-3342



B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany



Para conocer las actualizaciones de este documento, visite:
www.thermofisher.com/diagnostics

Otros países:

Póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.

thermo
scientific

10011227-9-ES
2018 06