

Dosage de l'éthyl glucuronide DRI®

IVD Pour usage diagnostique *in vitro*

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

**MISE EN GARDE : RÉSERVÉ À L'EXPORTATION.
NE PAS VENDRE AUX ÉTATS-UNIS.**

Usage prévu

Le dosage immunoenzymatique de l'éthyl glucuronide Thermo Scientific™ DRI de est destiné à la détermination qualitative et semi-quantitative de l'éthyl glucuronide dans l'urine humaine aux seuils de 500 ng/mL ou 1000 ng/mL.

Il fournit uniquement un résultat d'analyse préliminaire. Une autre méthode plus spécifique doit être employée pour obtenir un résultat d'analyse confirmé. La chromatographie en phase gazeuse/chromatographie en phase liquide/spectrométrie de masse (GC/MS) et la chromatographie en phase liquide/spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS) représentent les méthodes de confirmation privilégiées. Adopter un point de vue clinique et émettre un jugement professionnel pour tout résultat d'analyse de toxicomanie, notamment lorsque les résultats préliminaires sont positifs.

Résumé et explication du test

L'éthyl glucuronide (EtG) est un métabolite direct de l'éthanol qui est formé par la conjugaison enzymatique de l'éthanol et de l'acide glucuronide.^{1,2} L'alcool présent dans l'urine est généralement détecté pendant quelques heures seulement, alors que l'EtG peut être détecté après plusieurs jours, même après l'élimination complète de l'alcool du corps.³ Actuellement, l'EtG est suivi par GC/MS et LC/MS/MS.^{4,5}

Le dosage de l'éthyl glucuronide DRI® est fourni sous la forme d'un dosage immunoenzymatique homogène utilisant des réactifs liquides prêts à l'emploi. Il fait appel à des anticorps spécifiques, capables de détecter l'éthyl glucuronide sans réactivité croisée significative avec d'autres composants du glucuronide. Ce dosage repose sur la compétition entre une drogue marquée à la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) et la drogue libre présente dans l'échantillon d'urine pour une quantité définie de sites de fixation de l'anticorps spécifique. En l'absence de drogue libre dans l'échantillon, l'anticorps spécifique se lie à la drogue marquée à la G6PDH et provoque une diminution de l'activité enzymatique. Ce phénomène établit une corrélation directe entre la concentration de drogue dans l'urine et l'activité enzymatique. L'enzyme active convertit la NAD en NADH, ce qui produit un changement d'absorbance qui peut être mesuré par spectrophotométrie à 340 nm.

Réactifs

Réactif à base d'anticorps/substrat :

Contient un anticorps monoclonal de souris anti-éthyl glucuronide, du glucose-6-phosphate (G6P) et de la nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) dans un tampon Tris contenant de l'azote de sodium comme conservateur.

Réactif à base de conjugué enzymatique :

Contient un dérivé de l'éthyl glucuronide marqué par de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) dans un tampon Tris contenant de l'azote de sodium comme conservateur.

Matériels supplémentaires requis (vendus séparément) :

REF	Description du kit
10011207	Étalon négatif d'éthyl glucuronide DRI, 25 mL
10011208	Étalon d'éthyl glucuronide DRI, 100 ng/mL, 10 mL
10011210	Étalon d'éthyl glucuronide DRI, 500 ng/mL, 10 mL
10011212	Étalon d'éthyl glucuronide DRI, 1000 ng/mL, 10 mL
10011213	Étalon d'éthyl glucuronide DRI, 2000 ng/mL, 10 mL
10012135	Contrôle d'éthyl glucuronide DRI, 375 ng/mL, 25 mL
10012136	Contrôle d'éthyl glucuronide DRI, 625 ng/mL, 25 mL
10012137	Contrôle d'éthyl glucuronide DRI, 750 ng/mL, 25 mL
10012138	Contrôle d'éthyl glucuronide DRI, 1250 ng/mL, 25 mL

⚠ Précautions et avertissements

DANGER : Le test de dépistage de l'éthanol éthylglucuronide (EtG) DRI contient $\leq 0,2\%$ d'albumine bovine (AB) et $\leq 0,5\%$ d'anticorps spécifique au médicament.

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

H334 - Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

Éviter de respirer les gaz ou vapeurs. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Lorsque la ventilation du local est insuffisante, porter un équipement de protection respiratoire. En cas de contact avec la peau : laver abondamment à l'eau et au savon. EN CAS D'INHALATION : s'il y a difficulté à respirer, transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Éliminer le contenu/contenant dans un endroit conforme aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

1. Ce test est exclusivement réservé à un usage diagnostique *in vitro*. Les réactifs sont nocifs en cas d'ingestion.
2. Les réactifs utilisés dans ce dosage contiennent de l'azote de sodium en quantité inférieure à $\leq 0,09\%$. Éviter tout contact avec la peau et les membranes muqueuses. Rincer les zones touchées abondamment à l'eau. Consulter immédiatement un médecin en cas de contact avec les yeux ou suite à une ingestion. L'azote de sodium peut réagir avec le plomb ou le cuivre des canalisations pour former des azides métalliques potentiellement explosifs. Lors de l'élimination de ces réactifs, toujours rincer avec de grands volumes d'eau pour éviter l'accumulation d'azote. Nettoyer les surfaces métalliques exposées à l'hydroxyde de sodium à 10% .
3. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date de péremption.

Préparation et conservation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi ; aucune préparation supplémentaire n'est requise. Ils doivent être conservés au réfrigérateur, entre 2 et 8 °C. Tous les composants du dosage (ouverts ou non) sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur leur étiquette. Lorsqu'ils ne sont pas utilisés, les échantillons d'urine doivent toujours rester au réfrigérateur.

Prélèvement et manipulation des échantillons

Prélever les échantillons d'urine dans des récipients en plastique ou en verre. Il est recommandé d'utiliser des échantillons d'urine frais.

The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs (Guide pour les programmes de dépistage obligatoire des drogues dans les services Fédéraux) recommande de placer les échantillons n'ayant pas subi de test initial dans les 7 jours suivant réception au laboratoire dans des réfrigérateurs sécurisés. Lorsqu'ils ne sont pas utilisés, les échantillons d'urine doivent toujours rester au réfrigérateur.

Les échantillons ayant un pH compris entre 4,5 et 11 peuvent être testés avec ce dosage.

Il convient d'éviter d'introduire des débris grossiers dans les échantillons pipetés et il est recommandé de centrifuger les échantillons très troubles avant analyse. L'adulteration de l'échantillon d'urine peut provoquer un résultat erroné. Si une adulteration est soupçonnée, se munir d'un autre échantillon et transmettre les deux échantillons au laboratoire pour analyse. **Manipuler tous les échantillons d'urine comme des substances potentiellement infectieuses.**

Procédure de dosage

Les analyseurs de chimie clinique en mesure de maintenir une température constante, pipeter des échantillons, mélanger des réactifs, mesurer des taux enzymatiques à 340 nm et prévoir la réaction avec précision peuvent être utilisés pour effectuer ce dosage immunologique.

Avant de procéder au dosage, consulter les instructions applicables à l'application de chaque analyseur concernant les paramètres de chimie clinique.

Contrôle qualité et étalonnage

Les bonnes pratiques de laboratoire suggèrent d'utiliser des échantillons de contrôle pour garantir des performances de dosage correctes. Vérifier que les résultats des contrôles se situent dans la plage définie par les procédures et consignés du laboratoire. S'ils sont hors gamme, les résultats du dosage ne sont pas valides. Pour l'analyse qualitative, utiliser l'étalon de 500 ng/mL ou de 1000 ng/mL comme seuil. Pour l'analyse semi-quantitative, utiliser tous les étalons. Toutes les exigences de CQ doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et/ou nationaux ou aux exigences d'agrément.

Résultats et valeurs attendues

Qualitatif

Les étalons de 500 ng/mL et 1000 ng/mL peuvent servir de seuils de référence pour distinguer les échantillons « positifs » des échantillons « négatifs ». Un échantillon présentant un changement dont la valeur d'absorbance (ΔA) est égale ou supérieure à celle obtenue avec l'étalon seuil est considéré comme positif. Un échantillon présentant un changement dont la valeur d'absorbance (ΔA) est inférieure à celle obtenue avec l'étalon seuil choisi est considéré comme négatif.

Analyse semi-quantitative

Il est possible d'obtenir une estimation approximative de la concentration d'éthyl glucuronide dans les échantillons en traçant une courbe standard avec tous les étalons, puis en quantifiant les échantillons hors de cette courbe. Lorsque l'échantillon présente une concentration d'EtG supérieure à celle de l'étalon supérieur, il peut être dilué avec l'étalon négatif, puis de nouveau testé.

Intervalle de validité

Le dosage de l'éthyl glucuronide DRI est conçu pour une utilisation semi-quantitative, dans la plage comprise entre 100 ng/mL (étalon inférieur) et 2000 ng/mL (correspond à la valeur de l'étalon élevé).

Limites

1. Les caractéristiques de performance du dosage de l'éthyl glucuronide DRI n'ont pas été établies avec d'autres fluides corporels que l'urine humaine.
2. Ce dosage de l'éthyl glucuronide DRI a été validé sur des analyseur ayant recours au lavage intégral des cellules. Si l'analyseur du laboratoire ne possède pas ce type de lavage, contacter un représentant Thermo Fisher Scientific local.
3. Communiquer les résultats d'analyse d'urine avec prudence car ils sont soumis à l'influence de nombreux facteurs (par ex. absorption de liquide et autres facteurs biologiques).
4. Il est possible que d'autres substances que celles étudiées dans l'étude de spécificité interfèrent avec le test et faussent le résultat.

Caractéristiques de performance types

Les résultats de performance obtenus sur l'analyseur Hitachi 917 sont présentées ci-dessous. Les résultats obtenus en laboratoire ne correspondent pas toujours à ces données. Se reporter à la fiche de l'application spécifique à l'analyseur pour de plus amples informations sur les performances spécifiques à l'analyseur.

Précision

Les contrôles d'éthyl de glucuronide DRI (375, 625, 750 et 1250 ng/mL) et les étalons seuils (500 et 1000 ng/mL) ont été testés en modes qualitatif (mA/min) et semi-quantitatif (ng/mL) à l'aide d'un protocole modifié du NCCLS. Les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus en analysant tous les échantillons en répétitions de 6, deux fois par jour pendant 10 jours.

Analyse qualitative (mA/min)

Étalon / contrôle	Seuil de 500 ng/mL					
	Précision intra-test			Précision totale		
N=120	Moyenne	ET	% CV	Moyenne	ET	% CV
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

Analyse qualitative (mA/min)

Étalon / contrôle	Seuil de 1000 ng/mL					
	Précision intra-test			Précision totale		
N=120	Moyenne	ET	% CV	Moyenne	ET	% CV
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

Analyse semi-quantitative (ng/mL)

Étalon / contrôle	Seuil de 500 ng/mL					
	Précision intra-test			Précision totale		
N=120	Moyenne	ET	% CV	Moyenne	ET	% CV
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

Analyse semi-quantitative (ng/mL)

Étalon / contrôle	Seuil de 1000 ng/mL					
	Précision intra-test			Précision totale		
N=120	Moyenne	ET	% CV	Moyenne	ET	% CV
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

Caractérisation du seuil - Récupération par dopage

Les étalons seuils (500 ng/mL et 1000 ng/mL) et $\pm 25\%$ des contrôles ont été préparés en dopant de l'éthyl glucuronide dans de l'urine négative exempte d'EtG. Les étalons seuils et les contrôles ont été testés (n=21) en modes qualitatif et semi-quantitatif. Les données qualitatives ont été analysées en termes de précision et d'exactitude de détection des contrôles ; les données semi-quantitatives ont été analysées en termes de % de récupération et de précision. Ces résultats ont indiqué que les quatre contrôles ont récupéré de manière exacte en mode qualitatif, que les contrôles négatifs étaient négatifs (taux inférieur à celui de l'étalon seuil) et que les contrôles positifs étaient positifs (taux supérieur à celui de l'étalon seuil). En mode semi-quantitatif, les contrôles ont affiché une récupération à $\pm 10\%$ de leurs valeurs nominales. La précision était $< 1,0\%$ de CV en mode qualitatif et $< 5,0\%$ de CV en mode semi-quantitatif.

Interférence avec des substances endogènes

L'interférence potentielle du pH et de substances endogènes physiologiques sur la récupération de l'éthyl glucuronide à l'aide du dosage de l'éthyl glucuronide DRI a été évaluée en ajoutant des quantités connues de substances potentiellement interférentes dans les $\pm 25\%$ de contrôles pour les deux seuils (500 ng/mL et 1000 ng/mL), puis en analysant les échantillons en termes de récupération de l'éthyl glucuronide. Aucune interférence n'a été observée suite à l'ajout des composants jusqu'aux concentrations répertoriées ci-dessous.

Substance interférente	Concentration finale (mg/dL)
Acétone	1000
Acide acétylsalicylique	10
Acide ascorbique	190
Acide oxalique	30
Caféine	10
Chlorure de sodium	900
Créatinine	400
Éthanol	10
Galactose	10
Glucose	3000
Hémoglobine	300
Ibuprofène	10
Paracétamol	10
Riboflavine	3,75
Sérum albumine humaine	500
Urée	1000
pH	4,5-11,0

Spécificité

La réactivité croisée entre l'éthanol du composant parent et les composants du glucuronide généralement présents dans l'urine a été analysée dans le dosage à l'aide de l'étalon seuil de 500 ng/mL. Les solutions produisant une réaction croisée ont été préparées en ajoutant une quantité connue de chaque composant dans de l'urine exempte d'éthyl de glucuronide. Tous les composants répertoriés dans le tableau ci-dessous ont produit un résultat négatif aux concentrations testées.

Composant	Conc. (ng/mL)
Acétylaldéhyde	10 000
Acide glucuronique	10 000
Alprazolam-glycuroconjugué	10 000
Buprénorphine-glycuroconjugué	10 000
Butanol	10 000
Dextrose	10 000
Éthanol	100 000
Éthylène glycol	10 000
Hydroxycourmarine-glycuroconjugué	10 000
Isopropanol	10 000
Lorazepam-glycuroconjugué	10 000
Méthanol	10 000
Méthyl-glycuroconjugué	5 000
Morphine-3-glycuroconjugué	10 000
Morphine-6-glycuroconjugué	10 000
Norbuprénorphine-glycuroconjugué	10 000
n-Propanol	10 000
Oxazepam-glycuroconjugué	10 000
p-Nitrophényl-glycuroconjugué	10 000
Témazepam-glycuroconjugué	10 000
Testostérone-glycuroconjugué	10 000

La réactivité croisée de divers composants structurellement non apparentés a été évaluée dans le dosage à l'aide de l'étalon seuil de 500 ng/mL. Tous les composants répertoriés dans le tableau ci-dessous ont produit un résultat négatif aux concentrations testées.

Composant	Conc. (μ g/mL)
6-acétyl-morphine	500
Acide acétylsalicylique	500
Amitriptyline	100
Amoxicilline	100
Amphétamine	1000
Benzoylcgonine	1000
Caféine	100
Carbamazépine	500
Chlorpromazine	100
Cimétidine	500
Clomipramine	100
Codéine	1000
Désipramine	1000
Dextrométhorphan	200
Dihydrocodéine	1000
Doxépine	200
Éphédrine	2000
Fentanyl	200
Fluoxéthine	1000
Fluphénazine	500
Héroïne	1000
Hydrocodone	200
Hydromorphone	200
Ibuprofène	1000
Imipramine	1000
Lévorphanone	500
Maprotiline	1000
Mépéridine	1000

Composant	Conc. (µg/mL)
Méthadone	1000
Métronidazole	500
Morphine	1000
Morphine-3-glycuroconjuguée	1000
Nalbuphine	1000
Naltrexone	3000
Norcodéine	1000
Normorphine	1000
Nortryptiline	500
Oxazépam	500
Oxycodone	500
Paracétamol	500
Phéncyclidine	1000
Phénobarbital	1000
Ranitidine	500
Sécobarbital	1000
Talwin	500
Thébaïne	100
Thioridazine	500
Tramadol	500

Linéarité

La linéarité du dosage a été déterminée en testant la récupération d'une série d'échantillons d'éthyl glucuronide en termes de dilution. Un échantillon d'urine contenant 2000 ng/mL d'éthyl glucuronide a été dilué en série avec de l'urine exempte d'EtG par paliers de 25 % par rapport aux étalons seuils. Ces échantillons ont été testés dans le dosage, à la fois en modes qualitatif et semi-quantitatif. Tous les échantillons ont affiché une récupération de ± 20 % des valeurs attendues en mode semi-quantitatif ; en mode qualitatif, le taux attendu (mA/min) indique que le dosage est linéaire jusqu'à 2000 ng/mL.

Exactitude

Cent quatre-vingt quatre échantillons ont été analysés à l'aide du dosage de l'éthyl de glucuronide DRI, tant en mode qualitatif que semi-quantitatif, et les résultats ont été comparés à la méthode LC/MS/MS. En modes qualitatif et semi-quantitatif, la concordance des échantillons positifs entre le dosage EtG DRI et LC/MS/MS était de 96 %. Les résultats obtenus en modes qualitatif et semi-quantitatif sont résumés ci-dessous.

Analyse qualitative : Parmi les 184 échantillons utilisant le seuil de 500 ng/mL, 94 étaient détectés comme positifs et 85 comme négatifs ; au seuil de 1000 ng/mL, 44 échantillons ont été détectés comme positifs et 138 comme négatifs par le dosage immunologique et LC/MS/MS. La concordance globale entre le dosage immunologique et LC/MS/MS était de 97 %. Cinq échantillons ont été discordants à 500 ng/mL et deux l'ont été avec le seuil de 1000 ng/mL.

		500 ng/mL C/O LC – MS/MS		1000 ng/mL C/O LC – MS/MS	
		+	-	+	-
Dosage EtG DRI	+	94	2 [†]	44	0
	-	3 [*]	85	2 [‡]	138

* Deux des trois échantillons étaient faiblement négatifs avec le dosage immunologique. Un échantillon était faiblement positif par LC/MS/MS.

† Les échantillons étaient faiblement positifs avec le dosage immunologique.

‡ Les échantillons étaient faiblement négatifs dans le dosage immunologique. Les valeurs de LC/MS/MS étaient comprises entre 1000 et 1250 ng/mL.

Analyse semi-quantitative : En mode semi-quantitatif, les échantillons présentant une concentration d'EtG >500 ng/mL et 1000 ng/mL ont été considérés comme positifs avec le dosage immunologique. Parmi les 184 échantillons, 94 ont été détectés positifs et 85 négatifs avec le dosage immunologique et les méthodes LC/MS/MS.

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

* Les échantillons étaient les mêmes que ceux utilisés en mode qualitatif à 500 ng/mL.

† Les échantillons étaient les mêmes que ceux utilisés en mode qualitatif à 500 ng/mL.

Références

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.



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 États-Unis
Service après-vente et
Assistance technique aux États-Unis :
1-800-232-3342



EC REP

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



Pour obtenir les dernières notices à jour, consulter le site :
www.thermofisher.com/diagnostics

Autres pays :

Contactez un représentant Thermo Fisher Scientific local.

thermo
scientific

10011227-9-FR
2018 06