

Test dell'etilglucuronide DRI®

IVD Per uso diagnostico in vitro

REF 10015626 (Kit da 3 x 18 ml)
10011723 (Kit da 18 ml)
10011297 (Kit da 68 ml)

**ATTENZIONE: SOLO PER L'ESPORTAZIONE.
VENDITA VIETATA NEGLI STATI UNITI.**

Uso previsto

Il saggio immunoenzimatico dell'etilglucuronide Thermo Scientific™ DRI è indicato per la determinazione qualitativa e semi-quantitativa dell'etilglucuronide nell'urina umana ai cutoff di 500 ng/ml e 1000 ng/ml.

Il saggio garantisce unicamente un risultato analitico preliminare. Utilizzare un metodo chimico alternativo più specifico a conferma del risultato analitico. I metodi di conferma preferiti sono la gascromatografia-spettrometria di massa (GC/MS) e la cromatografia liquida-spettrometria di massa, (LC/MS/MS). Applicare tutte le considerazioni cliniche e il giudizio professionale ad ogni risultato del test per l'abuso di alcool, soprattutto quando si utilizzano risultati preliminari positivi.

Riepilogo e presentazione del test

L'etilglucuronide (EtG) è un diretto metabolita dell'etanolo; è un prodotto di coniugazione enzimatica dell'etanolo con l'acido glucuronico.^{1,2} L'alcool nelle urine risulta rilevabile di regola soltanto per poche ore, mentre l'EtG viene rilevato anche dopo alcuni giorni, anche quando l'alcool è stato completamente eliminato dall'organismo.³ Attualmente l'EtG è monitorato con la GC/MS e la LC/MS/MS.^{4,5}

Il test dell'etilglucuronide DRI® viene fornito come saggio immunoenzimatico liquido omogeneo pronto per l'uso. Il saggio utilizza anticorpi specifici che possono rilevare l'etilglucuronide senza generare una cross-reattività significativa con altri composti glucuronidici. Il test si basa sulla concorrenza tra la droga marcata con la glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH), e la droga libera nel campione delle urine per un numero fisso di siti di legame specifici per l'anticorpo. In assenza di droga libera nel campione, l'anticorpo si lega alla droga marcata con G6PDH causando una riduzione dell'attività enzimatica. Questo fenomeno crea una relazione diretta tra la concentrazione della droga nell'urina e l'attività enzimatica. L'enzima attivo converte il NAD in NADH producendo un'alterazione nell'assorbimento che può essere misurata con un esame spettrofotometrico a 340 nm.

Reagenti

Reagente anticorpo/substrato:

contiene l'anticorpo monoclonale anti-etilglucuronide di topo, glucosio-6-fosfato (G6P), e il nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) in tampone Tris con azoturo di sodio come conservante.

Reagente enzima-coniugato:

contiene un etilglucuronide derivato marcato con glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) in tampone Tris con azoturo di sodio come conservante.

Materiali aggiuntivi occorrenti (venduti separatamente):

REF	Descrizione del kit
10011207	Calibratore negativo di etilglucuronide DRI, 25 ml
10011208	Calibratore di etilglucuronide DRI 100 ng/ml, 10 ml
10011210	Calibratore di etilglucuronide DRI 500 ng/ml, 10 ml
10011212	Calibratore di etilglucuronide DRI 1000 ng/ml, 10 ml
10011213	Calibratore di etilglucuronide DRI 2000 ng/ml, 10 ml
10012135	Controllo di etilglucuronide DRI 375 ng/ml, 25 ml
10012136	Controllo di etilglucuronide DRI 625 ng/ml, 25 ml
10012137	Controllo di etilglucuronide DRI 750 ng/ml, 25 ml
10012138	Controllo di etilglucuronide DRI 1250 ng/ml, 25 ml

⚠️ Precauzioni e avvertenze

PERICOLO: Il dosaggio DRI di etilglucuronide (EtG) contiene ≤ 0,2% di albumina sierica bovina (BSA) e ≤ 0,5% di anticorpi farmaco-specifici.

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Evitare di respirare la polvere o i vapori. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. **IN CASO DI INALAZIONE:** se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

- Questo test è unicamente per uso diagnostico in vitro. I reagenti sono dannosi se ingeriti.
- I reagenti utilizzati nei componenti del saggio contengono ≤ 0,09% di azoturo di sodio. Evitare il contatto con la pelle e le membrane mucose. Lavare le aree colpite con acqua abbondante. Richiedere immediatamente l'aiuto di un medico se il prodotto è stato posto a contatto con gli occhi o se è stato ingerito. L'azoturo di sodio può reagire con il piombo o il rame delle condutture e formare azoturi metallici potenzialmente esplosivi. Nello smaltire i reagenti aver cura di sciagquare sempre con acqua abbondante onde prevenirne l'accumulo. Pulire le superfici metalliche esposte con idrossido di sodio al 10%.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

Preparazione e conservazione dei reagenti

I reagenti sono pronti per l'uso, non occorrono preparazioni aggiuntive. I reagenti devono essere conservati in frigo a temperature da 2° a 8°C. Tutti i componenti del saggio, aperti e non aperti, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

Raccolta e manipolazione del campione

Raccogliere i campioni di urina in contenitori puliti di vetro o di plastica. Utilizzare preferibilmente campioni freschi di urina.

Le "Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs" (Linee direttive inderogabili per i programmi di test tossicologici sui luoghi di lavoro federali) raccomandano di refrigerare i campioni non sottoposti al primo test entro 7 giorni dalla data di arrivo al laboratorio in unità di refrigerazione sicure. Se non utilizzati, i campioni di urina devono essere conservati sempre refrigerati.

I campioni con un intervallo del pH compreso tra 4,5 e 11 sono idonei per il test.

Usare la massima cura per mantenere i campioni pipettati privi di grossi residui. Centrifugare i campioni particolarmente torbidi prima dell'analisi. La diluizione dei campioni di urina può inficiare i risultati del test. Se si sospetta la contraffazione del campione, raccogliere un altro campione e inviare entrambi i campioni al laboratorio per l'analisi. **Trattare tutti i campioni di urina come materiale potenzialmente infetto.**

Procedimento

Per l'esecuzione del saggio si possono usare analizzatori chimici clinici in grado di mantenere una temperatura costante, di pipettare i campioni, miscelare i reagenti e misurare i tassi enzimatici a 340 nm e i tempi di reazione con accuratezza.

Prima di eseguire il saggio, consultare i parametri chimici riportati nelle istruzioni di ciascun analizzatore per l'applicazione desiderata.

Controllo della qualità e calibrazione

La buona pratica di laboratorio raccomanda di utilizzare campioni di controllo per assicurare la corretta esecuzione del saggio. Verificare che i risultati dei controlli ricadano entro gli intervalli prestabiliti determinati dalle pratiche di laboratorio e dalle linee direttive attinenti. Se ricadono esternamente agli intervalli predefiniti, il saggio deve essere considerato non valido. Per l'analisi qualitativa, utilizzare un calibratore da 500 ng/ml o da 1000 ng/ml come livello di cutoff. Per l'analisi semi-quantitativa, utilizzare tutti i calibratori. Tutti i requisiti di controllo di qualità devono essere eseguiti in conformità con i regolamenti locali, regionali e/o statali o con i requisiti di accreditamento vigenti.

Risultati e valori attesi

Qualitativo

Il calibratore da 500 ng/ml o quello da 1000 ng/ml possono essere utilizzati come riferimento di cutoff per distinguere i campioni "positivi" da quelli "negativi". Un campione in cui si rileva una variazione del valore di assorbanza (ΔA) uguale o superiore al valore ottenuto con il calibratore di cutoff è considerato positivo. Un campione che rilevi una variazione del valore di assorbanza (ΔA) inferiore al valore ottenuto con il calibratore di cutoff è considerato negativo.

Semi-quantitativo

Una stima approssimativa della concentrazione dell'etilglucuronide nei campioni può essere ottenuta eseguendo una curva standard con tutti i calibratori e quantificando i campioni esterni alla curva standard. Quando la concentrazione di EtG del campione è maggiore del calibratore più alto, può essere diluita con il calibratore negativo e ristestata.

Range refertabile

Il test dell'etilglucuronide DRI è indicato per l'uso semi-quantitativo nell'intervallo compreso tra 100 ng/ml, il calibratore inferiore e 2000 ng/ml, il valore del calibratore alto.

Limitazioni

- Le caratteristiche prestazionali del test dell'etilglucuronide DRI con fluidi corporei diversi dall'urina umana non sono state stabilite.
- Il test dell'etilglucuronide DRI è stato convalidato su analizzatori in grado di eseguire un lavaggio cellulare integrale. Se l'analizzatore in dotazione non dispone del lavaggio completo delle cellule, rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.
- Usare cautela nel refertare i risultati poiché ci sono molti fattori, ad es. l'assorbimento di fluidi ed altri fattori biologici, che possono influire sul risultato dell'analisi dell'urina.
- Vi è inoltre la possibilità che altre sostanze non considerate dallo studio di specificità possano interferire con il test causando dei falsi risultati.

Caratteristiche prestazionali tipiche

I risultati prestazionali ottenuti con l'analizzatore Hitachi 917 sono elencati nelle tabelle seguenti. I risultati ottenuti nel vostro laboratorio possono tuttavia differire da questi. Per altri dati prestazionali specifici dell'analizzatore, consultare la sezione relativa all'analizzatore del foglio illustrativo dell'applicazione.

Precisione

I controlli dell'etilglucuronide DRI (375, 625, 750 e 1250 ng/ml) e i calibratori di cutoff (500 e 1000 ng/ml) sono stati saggiati in modalità qualitativa (mA/min) e semi-quantitativa (ng/ml) adottando un protocollo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) modificato. I risultati di seguito presentati sono stati generati saggiando tutti i campioni in repliche di 6, due volte al di per 10 giorni.

Qualitativo (mA/min)

Calibratore o controllo	Cutoff 500 ng/ml					
	Precisione intrasequenza			Precisione totale		
N=120	Media	SD	% CV	Media	SD	% 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

Qualitativo (mA/min)

Calibratore o controllo	Cutoff 1000 ng/ml					
	Precisione intrasequenza			Precisione totale		
N=120	Media	SD	% CV	Media	SD	% 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

Semi-quantitativo (ng/ml)

Calibratore o controllo	Cutoff 500 ng/ml					
	Precisione intrasequenza			Precisione totale		
N=120	Media	SD	% CV	Media	SD	% 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

Semi-quantitativo (ng/ml)

Calibratore o controllo	Cutoff 1000 ng/ml					
	Precisione intrasequenza			Precisione totale		
N=120	Media	SD	% CV	Media	SD	% 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

Caratterizzazione del cutoff - Spike recovery

I calibratori di cutoff da 500 ng/ml e 1000 ng/ml e $\pm 25\%$ dei controlli sono stati fortificati con etilglucuronide in urina negativa priva di EtG. Il calibratore di cutoff e i controlli sono stati analizzati (n=21) in modalità qualitativa e semi-quantitativa. I dati qualitativi sono stati analizzati per la precisione e l'accuratezza di rilevamento dei controlli; i dati semi-quantitativi sono stati analizzati per la percentuale di recupero (recovery) e la precisione. I risultati indicano che tutti e quattro i controlli hanno recuperato con precisione l'analita in modalità qualitativa, i controlli negativi come negativi (tasso inferiore al tasso del calibratore di cutoff) e i controlli positivi come positivi (tasso superiore al tasso del calibratore di cutoff). In modalità semi-quantitativa il recupero era compreso entro $\pm 10\%$ dei valori nominali. La precisione era $< 1,0\%$ CV in modalità qualitativa e $< 5,0\%$ CV in modalità semi-quantitativa.

Interferenza con sostanze endogene

La potenziale interferenza del pH e delle sostanze fisiologiche endogene sul recupero dell'etilglucuronide con il test dell'etilglucuronide DRI è stata valutata aggiungendo quantitativi noti di sostanze potenzialmente interferenti in $\pm 25\%$ dei controlli per entrambi i cutoff da 500 ng/ml e 1000 ng/ml e saggiando i campioni per il recupero. Nessuna interferenza è risultata osservabile con l'aggiunta dei composti alle concentrazioni elencate nella tabella seguente.

Sostanza interferente	Concentrazione finale (mg/dl)
Acetone	1000
Acido acetilsalicilico	10
Acido ascorbico	190
Acido ossalico	30
Albumina sierica umana	500
Caffeina	10
Cloruro di sodio	900
Creatinina	400
Emoglobina	300
Etanolo	10
Galattosio	10
Glucosio	3000
Ibuprofene	10
Paracetamolo	10
Riboflavina	3,75
Urea	1000
pH	4,5-11,0

Specificità

È stata valutata nel saggio la cross-reattività del composto precursore etanolo e dei composti glucuronidici che si ritrovano comunemente nell'urina utilizzando il calibratore di cutoff da 500 ng/ml. Le soluzioni di cross-reagente sono state preparate aggiungendo urina priva di etilglucuronide con quantitativi noti di ciascun componente. Tutti i composti elencati nella tabella seguente hanno prodotto un risultato negativo alla concentrazione saggiata.

Composto	Conc. (ng/ml)
Acetaldeide	10.000
Acido glucuronico	10.000
Alprazolam Glucuronide	10.000
Buprenorfina glucuronide	10.000
Butanolo	10.000
D-Glucosio	10.000
Etanolo	100.000
Glicole etilenico	10.000
Idrossicumarina glucuronide	10.000
Isopropanolo	10.000
Lorazepam glucuronide	10.000
Metanolo	10.000
Metil glucuronide	5.000
Morfina-3-glucuronide	10.000
Morfina-6-glucuronide	10.000
Norbuprenorfina glucuronide	10.000
n-Propanolo	10.000
Oxazepam glucuronide	10.000
p-Nitrofenil glucuronide	10.000
Temazepam glucuronide	10.000
Testosterone glucuronide	10.000

È stata valutata nel saggio la cross-reattività di composti strutturalmente non correlati utilizzando 500 ng/ml come calibratore di cutoff. Tutti i composti hanno prodotto un risultato negativo alle concentrazioni elencate nella tabella seguente.

Composto	Conc. (μ g/ml)
6-Acetil-morfina	500
Acido acetilsalicilico	500
Amitriptilina	100
Amoxicillina	100
Anfetamina	1000
Benzoilecgonina	1000
Caffeina	100
Carbamazepina	500
Cimetidina	500
Clomipramina	100
Clorpromazina	100
Codeina	1000
Desipramina	1000
Destrometorfano	200
Diidrocodina	1000
Doxepina	200
Efedrina	2000
Eroina	1000
Fenciclidina (PCP)	1000
Fenobarbital	1000
Fentanil	200
Flufenazina	500
Fluoxetina	1000
Idrocodone	200
Idromorfone	200
Ibuprofene	1000
Imipramina	1000
Levorfanolo	500
Maprotilina	1000

Composto	Conc. (µg/ml)
Meperidina	1000
Metadone	1000
Metronidazolo	500
Morfina	1000
Morfina-3-glucuronide	1000
Nalbufina	1000
Naltrexone	3000
Norcodeina	1000
Normorfina	1000
Nortriptilina	500
Ossicodone	500
Oxazepam	500
Paracetamolo	500
Ranitidina	500
Secobarbitale	1000
Talwin	500
Tebaina	100
Tioridazina	500
Tramadolo	500

Linearità

La linearità del test è stata determinata analizzando il recupero della diluizione di una serie di campioni di etilglucuronide del test. Un campione di urina contenente 2000 ng/ml di etilglucuronide è stato diluito in serie con urina priva di EtG per incrementi del 25% a partire dai calibratori di cutoff. Questi campioni sono stati testati in entrambe le modalità: qualitativa e semi-quantitativa. In tutti i campioni sono stati riscontrati valori di recupero di $\pm 20\%$ dei valori attesi per la modalità semi-quantitativa e della frequenza attesa (mA/min) per la modalità qualitativa che consentono di ritenere lineare il test fino a 2000 ng/ml.

Accuratezza

Sono stati analizzati centottantaquattro (184) campioni con il test dell'etilglucuronide DRI nelle modalità qualitativa e semi-quantitativa e i risultati sono stati confrontati con il metodo LC/MS/MS. In entrambe le modalità qualitativa e semi-quantitativa, l'accordo del campione positivo tra il saggio DRI per l'EtG e la LC/MS/MS era pari al 96%. I risultati conseguiti in entrambe le modalità qualitativa e semi-quantitativa sono riepilogati di seguito.

Qualitativo: su un totale di 184 campioni, utilizzando un cutoff di 500 ng/ml, 94 campioni risultavano positivi e 85 negativi, mentre con un cutoff di 1000 ng/ml, 44 campioni erano positivi e 138 negativi sia al saggio immunologico, sia alla LC/MS/MS. L'accordo complessivo tra il saggio immunologico e l'LC/MS/MS era del 97%. Cinque campioni hanno registrato un esito negativo per il cutoff di 500 ng/ml e due erano discordi al cutoff di 1000 ng/ml.

		Cutoff 500 ng/ml LC – MS/MS		Cutoff 1000 ng/ml LC – MS/MS	
		+	-	+	-
Test EtG DRI	+	94	2 [†]	44	0
	-	3 [*]	85	2 [‡]	138

* Due dei tre campioni erano borderline negativi al saggio immunologico. Un campione era borderline positivo alla LC/MS/MS.

† I campioni erano borderline positivi al saggio immunologico.

‡ I campioni erano borderline negativi al saggio immunologico. I valori dell'LC/MS/MS erano compresi tra 1000 e 1250 ng/ml.

Semi-quantitativo: in modalità semi-quantitativa, i campioni con concentrazione EtG >500 ng/ml e 1000 ng/ml erano considerati positivi al saggio immunologico. Su un totale di 184 campioni, 94 risultavano positivi e 85 negativi sia al saggio immunologico, sia ai metodi LC/MS/MS.

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

* I campioni erano identici a quelli utilizzati per la modalità qualitativa da 500 ng/ml.

† I campioni erano identici a quelli utilizzati per la modalità qualitativa da 500 ng/ml.

Bibliografia

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 Urina 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 USA
Servizio di assistenza tecnica
e alla clientela negli USA:
1-800-232-3342



EC REP

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



Per gli aggiornamenti del foglio illustrativo, visitare:
www.thermofisher.com/diagnostics

Negli altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.

thermo
scientific

10011227-9-IT
2018 06