

ETHANOL ASSAY

CATALOGUE NUMBER: 229-29 **SIZE:** 12 x 2.3 mL + 3 x 125 mL + 1 x 15 mL

INTENDED USE

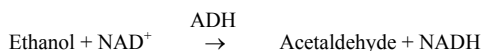
For the IN VITRO quantitative measurement of ethanol in serum and plasma.

TEST SUMMARY

Ethanol (ethyl alcohol) is the most common toxic substance involved in medical-legal cases. Ethanol consumption is often a factor in all types of accidents and ethanol poisoning can be fatal. Ethanol testing of comatose patients aids in the differential diagnosis of the cause of the coma.⁽¹⁾

Early methods for ethanol analysis depended on separation of the ethanol from the specimen. The method described here is an enzymatic procedure which does not require separation and is rapid and easily automated. This method is based on the first enzymatic method described by Bonnichsen and Theorelle⁽²⁾ and later modified by other authors.⁽³⁾

TEST PRINCIPLE



The enzyme alcohol dehydrogenase (ADH) catalyzes the conversion of ethanol to acetaldehyde and NADH. The formation of acetaldehyde is favoured when the reaction takes place at pH 9. To ensure that the reaction goes to completion, the acetaldehyde formed is removed from the system by its reaction with hydrazine sulfate. The increase in absorbance at 340 nm due to the reduction of NAD to NADH is proportional to the amount of ethanol present.

REAGENTS

NAD-ADH Reagent: A solution (after reconstitution) containing 8.69 mmol/L NAD, 1,450 U/mL alcohol dehydrogenase (yeast), and 9.9 mmol/L glutathione.

Ethanol Buffer: A solution containing 75 mmol/L tetrasodium pyrophosphate, 22 mmol/L glycine, and 75 mmol/L hydrazine sulfate.

Ethanol Calibrator: A solution containing 92 mg/dL or 0.092% w/v (20 mmol/L) ethanol.

WARNINGS & PRECAUTIONS FOR USE

S24/25: Avoid contact with skin and eyes.
Avoid ingestion.
See Material Safety Data Sheet for additional information.

REAGENT PREPARATION, STORAGE, AND STABILITY

Add 2.3 mL of deionized water to the required number of vials of NAD-ADH reagent. Allow one minute for reconstitution, then mix gently.

A single working reagent may be prepared by mixing the reconstituted NAD-ADH reagent and the ethanol buffer in a ratio of 1:10.

Supplied reagents are stable at 2-8°C until expiry date.

The reconstituted NAD-ADH reagent is stable at 2-8°C for seven days or for two months at minus 20-0°C. The working reagent is stable at 2-8°C for seven days.

The ethanol calibrator should be tightly sealed when not in use, as exposure to the atmosphere causes evaporation of the ethanol.

Stability claims are based on real time studies.

REAGENT DETERIORATION

The reagent solutions should be clear. Turbidity would indicate deterioration.

DISPOSAL

Reagents must be disposed of in accordance with all Federal, Provincial, State and local regulations.

SPECIMEN

Fresh, clear, unhemolysed serum or plasma. Specimens should be kept sealed.

SAMPLE STORAGE

Samples may be stored refrigerated for up to 2 weeks.⁽⁴⁾ Sample should be at room temperature (18-26°C) for testing. Always tightly cap sample tubes to prevent evaporation of alcohol.

Ethanol should not be used to swab the venipuncture site or to clean or sterilize glassware or other equipment used to collect the specimen or perform the assay. Avoid the use of test tubes, cuvettes, or pipettes which have been cleaned or sterilized with ethanol.

ANALYTICAL SPECIFICITY

Cross contamination studies have not been performed on automated instruments. Certain reagent/ instrument combinations used in sequence with this assay may interfere with reagent performance and test results. The existence of, or effects of, any potential cross contamination issues are unknown.

Testing was performed in Genzyme Diagnostics laboratories to determine the specificity of the ethanol reagent. Solutions of potentially interfering compounds were prepared and assayed. The concentrations of the solvents and the assay results, expressed as units of ethanol, are listed below.

| Solvent | Concentration (w/v) | Units of Ethanol | | | % Reactivity |
|-----------------|---------------------|------------------|-------|--------|--------------|
| | | % w/v | mg/dL | mmol/L | |
| Acetone | 0.1 | 0.000 | 0 | 0.0 | 0% |
| | 2.0 | 0.000 | 0 | 0.0 | 0% |
| n-Butanol | 0.1 | 0.025 | 25 | 5.4 | 25% |
| | 2.0 | 0.311 | 311 | 67.5 | 16% |
| Ethylene Glycol | 0.1 | 0.001 | 1 | 0.2 | 1% |
| | 2.0 | 0.014 | 14 | 3.0 | 0.7% |
| Methanol | 0.1 | 0.000 | 0 | 0.0 | 0% |
| | 2.0 | 0.001 | 1 | 0.2 | 0.05% |
| Isopropanol | 0.1 | 0.005 | 5 | 1.1 | 5% |
| | 2.0 | 0.085 | 85 | 18.5 | 4% |

The information presented above is based on results from Genzyme Diagnostics studies and is current at the date of publication.

A summary of the influence of drugs on clinical laboratory tests may be found by consulting Young, D.S.⁽⁵⁾

ANALYTICAL PROCEDURE

MATERIALS PROVIDED

Genzyme Diagnostics' Ethanol reagents and calibrator.

MATERIALS REQUIRED (BUT NOT PROVIDED)

- 1) Automated analyzer capable of accurately measuring absorbance at appropriate wavelengths as per instrument application.
- 2) Quality Control materials.
- 3) Deionized water for reconstitution

TEST CONDITION

For the data presented in this insert, studies using this reagent were performed on an automated analyzer using an endpoint test mode, with a sample to reagent ratio of 1:123, and a wavelength reading of 340 nm. For assistance with applications on automated analyzers within Canada and the U.S, please contact Genzyme Diagnostics Technical Services at (800)565-0265. Outside Canada and the U.S., please contact your local distributor.

CALIBRATION

An ethanol calibrator is included and should be used to calibrate the procedure. The frequency of calibration using an automated system is dependent on the system and the parameters used.

QUALITY CONTROL

A normal and abnormal concentration control should be analyzed as required in accordance with local, state and federal guidelines. The results should fall within the acceptable range as established by the laboratory.

CALCULATIONS

The analyzer automatically calculates the ethanol concentration of each sample.

TEST LIMITATIONS

A sample with an ethanol concentration exceeding the linearity limit should be diluted with 0.9% saline and reassayed, incorporating the dilution factor in the calculation of the value.

REFERENCE INTERVALS

Values up to 10 mg/dL (0.01% w/v or 2.2 mmol/L) may be observed in sera due to the presence of volatile reducing substances and do not necessarily indicate ingestion of ethanol.⁽⁶⁾

The legal limit for drivers is less than 80 mg/dL (0.08% w/v or 17 mmol/L).⁽⁷⁾

These values are suggested guidelines. It is recommended that each laboratory establish its own expected range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

RESULTS

Ethanol concentration is reported as mg/dL (% w/v or mmol/L).

REPORTABLE RANGE

The linearity of the procedure described is 230 mg/dL (0.23% or 50 mmol/L).

PRECISION STUDIES

Day to day precision was established by assaying three spiked pooled sera twice a day for 10 days.

| Concentration | | Total SD | | Total CV % | Concentration | | Within Run SD | | Within Run CV % |
|---------------|--------|----------|--------|------------|---------------|--------|---------------|--------|-----------------|
| mg/dL | mmol/L | mg/dL | mmol/L | | mg/dL | mmol/L | mg/dL | mmol/L | |
| 52 | 11.3 | 0.8 | 0.17 | 1.5 | 50 | 10.9 | 0.3 | 0.07 | 0.6 |
| 97 | 21.1 | 2.2 | 0.48 | 2.3 | 99 | 21.5 | 1.1 | 0.24 | 1.1 |
| 137 | 29.7 | 3.4 | 0.74 | 2.5 | 150 | 32.6 | 7.0 | 1.52 | 4.7 |

Within day precision was established by assaying three spiked sera twenty times.

ACCURACY (Serum)

The performance of this method (y) was compared with the performance of a similar UV alcohol dehydrogenase method (x). Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 0.991 (\text{reference method}) + 1.2 \text{ mg/dL or } 0.0012\% \text{ w/v (0.26 mmol/L)}.$$

ACCURACY (Plasma)

The performance of this method (y) was compared with the performance of a similar UV alcohol dehydrogenase method (x). Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 0.9984 (\text{reference method}) - 1.2 \text{ mg/dL or } 0.0012\% \text{ w/v (0.26 mmol/L)}.$$

The information presented above is based on results from Genzyme Diagnostics studies and is current at the date of publication.

TRADEMARKS

All trademarks, brands, product names and trade names are the property of their respective companies.

Manufactured by:

Diagnostics

The Americas

Genzyme Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada

Phone: 800-565-0265

Fax: 902-628-6504

Email: customerservice@genzyme.com

peidiagnosticttechnical@genzyme.com

www.genzymediagnosics.com

International

Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, UK

Email: ukdiagcustomerservice

@genzyme.com

ES

ANÁLISIS DE ETANOL

NÚMERO DE CATÁLOGO: 229-29 TAMAÑO: 12 x 2.3 ml + 3 x 125 ml + 1 x 15 ml

USO PARA EL QUE FUE DISEÑADO

Para la medición cuantitativa IN VITRO de etanol en suero y en plasma.

RESUMEN DEL ANÁLISIS

El etanol (alcohol etílico) es la sustancia tóxica que se halla con mayor frecuencia en los casos de medicina forense. El consumo de etanol es a menudo un factor determinante en todo tipo de accidente, y el envenenamiento con etanol puede ser fatal. Los análisis del etanol en pacientes en estado comatoso ayudan en el diagnóstico diferencial de la causa del coma.⁽¹⁾

Los métodos usados anteriormente para el análisis del etanol dependían de la separación del etanol de la muestra. El método de análisis aquí descrito es un procedimiento enzimático para el que no se necesita la separación, y se puede automatizar fácil y rápidamente. Este método se funda en el primer método enzimático descrito por Bonnichsen y Theorelle⁽²⁾ y que fue modificado posteriormente por otros autores.⁽³⁾

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS



La enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) cataliza la conversión del etanol en acetaldehído y NADH. La formación de acetaldehído se ve favorecida cuando la reacción se produce a un pH de 9. Para garantizar que la reacción se complete, el acetaldehído formado se retira del sistema mediante su reacción con el sulfato de hidrazina. El aumento de la absorbencia a 340 nm debido a la reducción del NAD a NADH es proporcional a la cantidad de etanol presente.

AGENTES REACTIVOS

Agente reactivo de NAD-ADH: Una solución (tras su reconstitución) que contiene 8.69 mmol/l de NAD, 1,450 u/ml de alcohol deshidrogenasa (levadura) y 9.9 mmol/l de glutatión.

Tampón de etanol: Una solución que contiene 75 mmol/l de pirofosfato tetrasódico, 22 mmol/l de glicina y 75 mmol/l de sulfato de hidrazina.

Calibrador de etanol: Una solución que contiene 92 mg/dl o 0.092% p/v (20 mmol/l) de etanol.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCIÓN PARA SU USO

S24/25: Evite el contacto con la piel y los ojos.

Evite la ingestión.

Para obtener mayor información, lea la hoja de datos de seguridad de materiales.

PREPARACIÓN, ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL AGENTE REACTIVO

Añada 2.3 ml de agua desionizada al número requerido de frascos del agente reactivo de NAD-ADH. Deje pasar un minuto para que se reconstituya, luego mézclelo ligeramente.

Un solo agente de reacción de trabajo puede prepararse mezclando el agente reactivo de NAD-ADH reconstituido con el tampón de etanol en una proporción de 1:10.

El agente reactivo que se suministra es estable hasta la fecha de caducidad, a una temperatura de 2 a 8°C.

El agente reactivo de NAD-ADH reconstituido es estable durante siete días a una temperatura de 2 a 8°C o durante dos meses a una temperatura de menos 20 a 0°C. El agente reactivo de trabajo es estable durante siete días a una temperatura de 2 a 8°C.

El calibrador de etanol debe estar herméticamente cerrado cuando no se emplee, pues su exposición a la atmósfera produce la evaporación del etanol.

Las afirmaciones acerca de la estabilidad se fundan en estudios realizados en tiempo real.

DETERIORO DEL AGENTE REACTIVO

El agente reactivo debe ser transparente. La turbidez podría ser una indicación de deterioro.

ELIMINACIÓN

Los agentes reactivos se deben eliminar de acuerdo con las estipulaciones de las normas federales, provinciales, estatales y locales.

MUESTRA

Muestra de suero o plasma recién sacado, transparente, sin hemolizar. Las muestras deben conservarse bien cerradas.

ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras pueden conservarse refrigeradas hasta 2 semanas.⁽⁴⁾ La muestra debe estar a temperatura ambiente (18 a 26°C) para la realización del análisis. Siempre tape herméticamente las probetas para evitar la evaporación del alcohol.

No se debe usar etanol para limpiar el lugar del pinchazo en la vena, ni para limpiar o esterilizar los utensilios de vidrio ni los equipos para la recolección de las muestras o para efectuar el análisis. Evite emplear probetas, tubos o pipetas que hayan sido limpiadas o esterilizadas con etanol.

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

No se ha realizado estudios de contaminación cruzada en instrumentos automatizados. Ciertas combinaciones de agentes reactivos / instrumentos empleados en secuencia en este análisis pueden interferir con las características del agente reactivo y los resultados del análisis. Se desconoce si existen problemas de posible contaminación cruzada, o de sus efectos.

El análisis se realizó en los laboratorios de Genzyme Diagnostics para determinar la especificidad del agente reactivo de etanol. Se prepararon y analizaron soluciones de compuestos que tuvieran posibilidad de producir interferencia. Las concentraciones de disolventes y los resultados de los análisis, expresados como unidades de etanol, se indican a continuación.

| Disolvente | Concentración (p/v) | Unidades de etanol | | | Reactividad en % |
|--------------|---------------------|--------------------|-------|----------|------------------|
| | | p/v en % | mg/dl | p/v en % | |
| Acetona | 0.1 | 0.000 | 0 | 0.0 | 0% |
| | 2.0 | 0.000 | 0 | 0.0 | 0% |
| n-Butanol | 0.1 | 0.025 | 25 | 5.4 | 25% |
| | 2.0 | 0.311 | 311 | 67.5 | 16% |
| Etilénglicol | 0.1 | 0.001 | 1 | 0.2 | 1% |
| | 2.0 | 0.014 | 14 | 3.0 | 0.7% |
| Metanol | 0.1 | 0.000 | 0 | 0.0 | 0% |
| | 2.0 | 0.001 | 1 | 0.2 | 0.05% |
| Isopropanol | 0.1 | 0.005 | 5 | 1.1 | 5% |
| | 2.0 | 0.085 | 85 | 18.5 | 4% |

La información que se presenta arriba se funda en los resultados de los estudios practicados por Genzyme Diagnostics, y está vigente a la fecha de su publicación.

Se puede obtener un resumen de la influencia de los medicamentos en estudios clínicos de laboratorio consultando a Young, D.S.⁽⁵⁾

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

MATERIALES SUMINISTRADOS

Agentes reactivos y calibrador de etanol de Genzyme Diagnostics.

MATERIALES NECESARIOS (PERO NO SUMINISTRADOS)

- 1) Analizador automatizado, capaz de medir con precisión la absorbencia a una longitud de onda adecuada, según la aplicación por instrumento.
- 2) Materiales de control de calidad.
- 3) Agua desionizada para reconstitución.

CONDICIÓN DEL ANÁLISIS

Para la obtención de los datos que se presentan en este encarte, se realizaron estudios con este agente reactivo en un analizador automatizado en modo de análisis de punto final, con una proporción de 1:123 entre la muestra y el agente reactivo, y una lectura de longitud de onda de 340 nm. Si desea ayuda para aplicaciones en analizadores automatizados en Canadá o EE UU, comuníquese con Genzyme Diagnostics Technical Services llamando al teléfono (800) 565-0265. En otros países, llame al distribuidor de su localidad.

CALIBRACIÓN

Se incluye un calibrador de etanol que debe emplearse para calibrar el procedimiento. La frecuencia de la calibración utilizando un sistema automatizado depende del sistema y de los parámetros aplicados.

CONTROL DE CALIDAD

Deben analizarse los controles de concentración normal y anormal, según sea necesario, de conformidad con las directrices locales, estatales y federales. Los resultados deben estar dentro de los límites aceptables establecidos por el laboratorio.

CÁLCULOS

El analizador calcula automáticamente la concentración de etanol de cada muestra.

LIMITACIONES DEL ANÁLISIS

Debe diluirse con una solución salina al 0.9% y volver a analizarse las muestras con una concentración de etanol que supere la linealidad, teniendo en cuenta el factor de dilución en el cálculo del valor.

INTERVALOS DE REFERENCIA

Es posible que se observen valores de hasta 10 mg/dl (0.01% p/v o 2.2 mmol/l) en las muestras de suero debido a la presencia de sustancias reductoras volátiles; esto no indica necesariamente la ingestión de etanol.⁽⁶⁾

El límite legal para conductores es de menos de 80 mg/dl (0.08% p/v o 17 mmol/l).⁽⁷⁾

Estos valores se sugieren como pauta. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios límites estimados.

CARACTERÍSTICAS DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS

La concentración de etanol se expresa en mg/dl (% p/v o mmol/l).

LÍMITES SIGNIFICATIVOS

La linealidad del procedimiento descrito es de 230 mg/dl (0.23% o 50 mmol/l).

ESTUDIOS DE PRECISIÓN

La precisión diaria fue establecida mediante el análisis de tres sueros almacenados de control dos veces al día, durante diez días.

| Concentración | | SD total | | CV total en % | Concentración | | SD dentro de la prueba | | CV en % dentro de la prueba |
|---------------|--------|----------|--------|---------------|---------------|--------|------------------------|--------|-----------------------------|
| mg/dl | mmol/l | mg/dl | mmol/l | | mg/dl | mmol/l | mg/dl | mmol/l | |
| 52 | 11.3 | 0.8 | 0.17 | 1.5 | 50 | 10.9 | 0.3 | 0.07 | 0.6 |
| 97 | 21.1 | 2.2 | 0.48 | 2.3 | 99 | 21.5 | 1.1 | 0.24 | 1.1 |
| 137 | 29.7 | 3.4 | 0.74 | 2.5 | 150 | 32.6 | 7.0 | 1.52 | 4.7 |

La precisión dentro del día fue establecida mediante el análisis de tres sueros de control veinte veces.

PRECISIÓN (suero)

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método similar de análisis de alcohol deshidrogenasa UV (x). El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.991 (\text{método de referencia}) + 1.2 \text{ mg/dl o } 0.012\% \text{ p/v (0.26 mmol/l)}.$$

PRECISIÓN (plasma)

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método similar de análisis de alcohol deshidrogenasa UV (x). El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.9984 (\text{método de referencia}) + 1.2 \text{ mg/dl o } 0.012\% \text{ p/v (0.26 mmol/l)}.$$

La información que se presenta arriba se funda en los resultados de los estudios practicados por Genzyme Diagnostics, y está vigente a la fecha de su publicación.

MARCAS DE FÁBRICA

Todas las marcas de fábrica, marcas, nombres de productos y nombres comerciales son de propiedad de sus respectivas empresas.

Elaborado por:



Continente americano
Genzyme Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada

Internacional
Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, RU

Teléfono: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Correo electrónico:
customerservice@genzyme.com
pediagnosticttechnical@genzyme.com

Correo electrónico:
ukdiagcustomerservice@genzyme.com

www.genzymediagnosics.com

Definitions for Symbols/ Definición de los Símbolos

LOT

Batch Code
Código de lote



Manufacturer
Fabricante



Consult instructions for use
Consulte las instrucciones de uso

IVD

In vitro diagnostic medical device
Dispositivo médico para el diagnóstico in vitro



Use by
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
Fecha de caducidad
AAAA-MM-DD o AAAA-MM

REF

Catalog number
Número de catálogo



Temperature limitation
Límites de temperatura

REFERENCES/ REFERENCIAS

1. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.), Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Toronto, 1171-1175 (1994).
2. Bonnichsen, R.K., Theorell, H., An Enzymatic Method for the Micro Determination of Ethanol, Scand. J. Clin. Lab. Invest. 3, 58 (1951).
3. Lundquist, F., The Determination of Ethyl Alcohol in Blood and Tissues. Methods of Biochemical Analysis, Vol III, Editor, D. Glick, Interscience Publishers, New York, 1957 p. 217-251.
4. Tietz, N.W., (Editor), Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition, 1995.
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, 1990.
6. Tietz, N.W., (Editor), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1970, p. 844.
7. McQueen, M.J., (Editor), SI Units in Clinical Chemistry (1980), Clinical Chemistry section Health Sciences Laboratory Medicine Program.

IN22929-8
January 28, 2010