

#### USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, su supporto di reazione (card), per la determinazione rapida semiquantitativa della concentrazione di alcol etilico (etanolo, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) in campioni di urine umane.

#### PRINCIPIO del METODO

La procedura analitica si basa sul reazioni enzimatico-colorimetriche in grado di rilevare la presenza di etanolo urinario a concentrazioni superiori a 0,04%. Il test permette una valutazione visiva ed esclusivamente semiquantitativa della presenza di etanolo nel campione: non si tratta di un kit di libera vendita.

Il presente metodo fornisce risultati qualitativi e preliminari che dovrebbero essere sempre confermati con metodiche di riferimento, quali la gascromatografia (gascromatografia con "spazio di testa"). Inoltre, i risultati positivi dovrebbero sempre essere supportati da evidenze cliniche o valutazioni specialistiche: infatti non risulterebbe corretto effettuare considerazioni cliniche e giudizi medico legali basati su test relativi a sostanze d'abuso soprattutto qualora si tratti di risultati positivi preliminari.

#### CONSIDERAZIONI CLINICHE

L'intossicazione da etanolo può provocare disturbi della percezione, malformazioni fetali ed, in casi gravi, anche coma e morte. La BAC (concentrazione relativa ematica di alcol etilico i.e.: Blood Alcohol Concentration) corrispondente a tali manifestazioni patologiche risulta variabile da individuo a individuo.

Il Dipartimento dei Trasporti degli Stati Uniti (DOT, i.e. United States Department of Transportation) ha stabilito una BAC di 0,02% (200 ng/ml) quale valore soglia (cut-off) superiore al quale un soggetto è considerato positivo per la presenza di alcol etilico<sup>1,4</sup>. Poiché la concentrazione di alcol nelle urine è generalmente superiore a quella riscontrabile nel sangue e nella saliva, il valore soglia della concentrazione di etanolo nelle urine è stato fissato a 0,04% (400ng/ml). La ricerca della presenza di etanolo nel sangue, nelle urine e nella saliva viene comunemente impiegata per finalità legali ed in caso di sospetta intossicazione: la gascromatografia ed i metodi enzimatici rappresentano le procedure analitiche più diffuse e nella determinazione della presenza di etanolo nei fluidi umani. La presente metodologia rappresenta un valido sistema di screening in grado di determinare rapidamente la presenza di etanolo: il suo valore soglia (cut-off) è di 0,04%.

#### PRINCIPIO DEL METODO

La procedura analitica sfrutta l'elevata specificità dell'enzima alcol-ossidasi per il substrato etanolo (i.e. alcol etilico), in presenza di perossidasi e tetrametilbenzidina (TMB), secondo la reazione



Lo sviluppo di una colorazione specifica nell'area reattiva può essere osservata in appena 60 secondi dopo l'immersione della parte di striscia assorbente che fuoriesce dal dip stick (vedi dopo) nel campione di urine, quando la concentrazione di alcol etilico nel campione supera lo 0,04% (400 nfg/ml). È necessario ricordare, comunque, che anche gli alcoli metilico, propilico e allilico possono sviluppare una colorazione del pad reattivo, sebbene tali composti non siano normalmente presenti nelle urine umane.

#### REAGENTI

Il supporto di reazione (dip stick) contiene il sistema reagentario enzimatico-colorimetrico adsorbito sulla zona reattiva (pad) di una striscia in materiale assorbente fisicamente inserita nello stick. Ciascun supporto di reazione contiene:

Tetrametilbenzidina (TMB)	0,52mg
Alcol-ossidasi (EC)	0,15 IU
Perossidasi(EC)	0,25 IU
Proteine	0,05mg

#### CONTENUTO DEL KIT

- 20 dip stick sigillati singolarmente in sacchetto riportante il diagramma colorato di interpretazione (color Code)

#### ATTREZZATURA RICHIESTA (non a corredo)

Timer

#### PRECAUZIONI

1. Tutti i campioni biologici, le strisce reattive ed i monouso devono essere considerati potenzialmente infetti e, come tali, smaltiti secondo la normativa vigente
2. Indossare guanti protettivi: lavarsi le mani alla fine della seduta analitica
3. Il kit è stato formulato esclusivamente per determinazioni *in vitro*
4. Portare tutto il materiale reagentario a T. A. prima della seduta analitica
5. Non possono essere utilizzati materiali per il controllo di qualità contenenti sodio azoturo
6. Le card sono particolarmente sensibili all'umidità

#### STABILITÀ DEI REAGENTI

Il kit deve essere conservato a 2-30°C. I supporti immunocromatografici (stick) sono sensibili all'umidità ed al calore eccessivo. Si consiglia di effettuare il test subito dopo aver estratto la stick dal sacchetto sigillato. Non utilizzare dopo la data di scadenza. **NON CONGELARE**

#### RACCOLTA DEL CAMPIONE

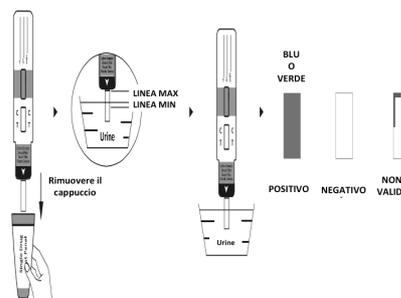
I campioni di urina devono essere raccolti in contenitore specifico monouso, senza aggiunta di stabilizzanti. I campioni di urina possono essere conservati fino a 48 ore a 2-8°C prima del test. Per periodi prolungati di conservazione è necessario congelare a -20°C. Campioni contenenti precipitati visibili devono essere centrifugati, filtrati o lasciati decantare. Qualora venga utilizzato un campione refrigerato o congelato, portarlo a T. A. prima di analizzarlo, solo dopo averlo risospeso accuratamente.

#### PROCEDURA ANALITICA

1. Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente
2. Togliere il supporto di reazione (card) dall'involucro di protezione, tagliando il sacchetto lungo il bordo sigillato e porlo su una superficie piana. Utilizzare entro breve tempo
3. Rimuovere il cappuccio dello stick
4. Immergere verticalmente la parte di striscia assorbente che fuoriesce dallo stick (vedi figura sotto) e mantenerla tale posizione per circa 30 secondi
5. Posizionare lo stick orizzontalmente sul piano di lavoro
6. Far partire il timer: **leggere il risultato dopo 2 minuti e comunque non oltre 5 minuti**

#### INTERPRETAZIONE dei RISULTATI

**IN BASE ALLA COLORAZIONE SVILUPPATAS IN CORRISPONDENZA DELLA ZONA DI REAZIONE (sviluppo o meno di colore) FARE RIFERIMENTO ALL'ILLUSTRAZIONE A COLORI RIPORTATA SU CIASCUN SACCHETTO CONTENENTE LO STICK, e registrare il risultato come descritto di seguito**



**NEGATIVO:** non si sviluppa alcuna colorazione evidente (in alcuni casi si può osservare una lieve colorazione giallo pallido) a livello della zona di reazione: la concentrazione di etanolo urinario è < 0,04%

**POSITIVO:** si sviluppa la banda colorata soltanto nella zona di reazione. Un risultato POSITIVO indica una concentrazione di etanolo nel campione ≥ 0,04 % che può essere apprezzata in modo semiquantitativo (ed approssimativo) in base alla variazione cromatica del pad (ZONA T) confrontabile con lo schema di colori riportato sul sacchetto porta-stick. N.B.: per concentrazioni di etanolo elevate (> 0,2%) si può osservare una colorazione francamente verde

**NON VALIDO (RIPETERE):** il test è da considerarsi "non valido" qualora SOLTANTO i bordi del pad (zona Test) risultino colorati. La causa più frequente di un risultato NON VALIDO può essere ascritta un volume insufficiente di campione adsorbito: in tal caso è necessario ripetere il test attenendosi scrupolosamente alle istruzioni.

#### CONTROLLO DI QUALITÀ

1. L'utilizzo di un controllo esterno (è raccomandabile per valutare ulteriormente la correttezza dei dati analitici).
2. Non impiegare campioni di controllo contenenti sodio azoturo in quanto tale composto inibisce l'attività dell'enzima alcol-ossidasi.
3. Una valutazione della qualità del metodo può essere eseguita allestendo direttamente in Laboratorio una soluzione test preparata aggiungendo 10 gocce (ca. 500 µl) di etanolo assoluto in 240 ml. Di acqua bidistillata: tale diluizione deve esibire un risultato francamente positivo

#### PRESTAZIONI DEL METODO

##### Accuratezza

Alcohol Rapid Test (URINE)	Risultati	>0.04% (aggiunta)	0	Risultati totali
	Positivi	26	0	26
Negativi	1	29	30	
Risultati totali	27	29	56	
% Concordanza	96%	100%	98%	
	Sensibilità	Specificità	Concordanza	

#### Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione è stabilito a 0,04% (400 ng/ml) di etanolo

#### VALORI ATTESI

Il presente metodo è configurato come test quantitativo con cut-off. Identifica alcool etilico (etanolo) in campioni di urine umane alla concentrazione di 0,04% (400ng/ml)

#### Interferenze analitiche

I seguenti composti possono provocare interferenze analitiche (cross-reattività) con il test:

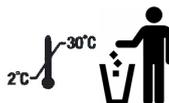
Forti ossidanti	Acido ascorbico
Acido tannico	Polifenoli
Mercaptani	Acido urico
Bilirubina	Acido ossalico

#### BIBLIOGRAFIA

1. National Highway Traffic Safety Administration (NHTSA), DOT, Federal Register, 59:147. August 1994, PP 22382-90
2. Bergmeyer, H.U., et AL., Methods of Enzyme Analysis, 3<sup>rd</sup> ed. Vol.II, 1983
3. Jones, A.W., Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Vol. 6, p. 53-59, 1979
4. McCall, K.E.L., et AL., Clin. Sci. Vol. 56, p.283-286, 1979

Codici di Riferimento:  
CALU20 URINE ALCOHOL

20 Tests



Bio Plastic Sas – 00100 Roma