



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

ALCOOL ETHANOL

Réactif pour le dosage quantitatif de l'alcool dans le sérum, le plasma, le sang total, ou l'urine humaine.

REF 99029 R1 10 x 10 mL R2 1 x 5 mL

REF 99059 R1 2 x 100 mL R2 1 x 10 mL

CODE CNQ : AX

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50



IVD USAGE IN VITRO

Fax : (33) 03 23 256 256

INTERET CLINIQUE (1)

La plupart des toxicologues considèrent que l'éthanol est la substance chimique la plus souvent consommée de manière abusive. Par conséquent, la mesure de l'éthanol est un des tests les plus fréquemment réalisés dans les laboratoires de toxicologie. Bien que moins couramment rencontré, il est important d'inclure le méthanol, l'isopropanol et l'acétone (métabolite de l'isopropanol) dans l'évaluation (chromatographie en phase gazeuse) d'une intoxication aiguë par alcool.

PRINCIPE (4)

Technique enzymatique décrite par Gadsen R. H. et al. Le schéma de la réaction est le suivant :



Le rapport ADH et NAD⁺/ Alcool est maintenu élevé de manière à ce que l'équilibre soit atteint assez rapidement. L'éthanol est rapidement transformé en acétaldéhyde et NADH. La réaction est déplacée presque en totalité vers la droite par l'utilisation d'un agent piégeant l'acétaldéhyde au fur et à mesure de sa formation. L'absorbance du NADH, proportionnelle à la concentration en alcool dans le spécimen, est mesurée à 340 nm en point final.

REACTIFS

flacon R1 ENZYME COENZYME

NAD⁺ ≥ 2,4 mmol/L
(Nicotinamide adénine dinucléotide)
ADH ≥ 25 000 U/L
(Alcool déshydrogénase)
Tampon TRIS pH 8,65 ± 0,1 à 25° C
Stabilisant
Conservateur

Avant reconstitution :

Xn, R22-32 : Nocif en cas d'ingestion, au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique S22-38 : Ne pas respirer les poussières. En cas de ventilation insuffisante, porter un appareil respiratoire approprié

Après reconstitution : Néant

flacon R2 ETALON

Ethanol : environ 1,00 g/L (21,7 mmol/L)

Voir l'étiquette du flacon R2 pour connaître la concentration exacte.

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
 - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
 - Ne pas pipeter avec la bouche.
 - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
 - Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
 - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

REF 99029 (flacon R1) : Utiliser un objet non coupant pour enlever la capsule aluminium.

Ajouter sans délai au contenu du flacon R1 (enzyme-coenzyme) la quantité d'eau déminéralisée indiquée sur l'étiquette.

Agiter doucement jusqu'à complète dissolution avant d'utiliser le réactif (environ 10 minutes).

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C dans le flacon d'origine bien bouché et à l'abri de la lumière.

- Etalon (flacon R2) : transférer par versement la quantité nécessaire, bien reboucher le flacon et stocker à 2-8 °C
- Utilisés et stockés comme indiqués, le réactif (flacon R1) avant ouverture et le standard (flacon R2) sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Après reconstitution et en l'absence de contamination :

- ✓ Le réactif de travail (flacon R1) est stable 7 jours

Ne pas utiliser le réactif (flacon R1) s'il est trouble ou si l'absorbance à 340 nm est > 0,500.

Ne pas utiliser le réactif de travail (flacon R1) après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret).

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (1) (2)

Urines, Sérum, plasma, sang total (utiliser un agent désinfectant non alcoolisé lors de la ponction veineuse). Les anticoagulants utilisables sont l'héparine, l'oxalate de Potassium, l'E.D.T.A., le citrate ou le fluorure de Sodium.

- Stabilité dans le sang total : (sans fluorure de sodium) :
2 jours à 18-25° C, 2 semaines à 2-8° C, 4 semaines à -15° C.
- Stabilité dans le sang total : (avec fluorure de sodium) :
2 semaines à 18-25° C, 3 mois à 2-8° C, 6 mois à -15° C.

Les tubes à prélèvement doivent être hermétiquement bouchés pour éviter une diminution de la teneur en alcool par évaporation.

INTERFERENCES (1) (3)

Les études d'interférence réalisées sur sérums n'ont mis en évidence aucune interférence avec la Procédure n°1 :

Interfèrent	Alcool dans le spécimen (g/L)	Résultats
Acide ascorbique	0.95	Pas d'interférence jusqu'à 250 mg/L
Bilirubine totale	0.96	Pas d'interférence jusqu'à 418 µmol/L
Hémoglobine	0.90	Pas d'interférence jusqu'à 189 µmol/L
Glucose	0.507	Pas d'interférence jusqu'à 10 g/L
Turbidité	0.90	Pas d'interférence jusqu'à 0.308 abs (lactescence)

Les sérums ou plasmas très troubles, fortement ictériques ou hémolysés peuvent être déprotéinisés avant dosage (§ MODE

OPERATOIRE).

Certains alcools interfèrent avec la technique de dosage mais réagissent plus lentement que l'éthanol (respecter les temps d'incubation indiqués dans le mode opératoire) :

Substance	% approximatif de réactivité
Ethanol	100
n-Butanol	28
Isopropanol	4
Méthanol	0,3
Ethylène glycol	1,6
Acétone	0

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Contrôles normaux et pathologiques.
3. Eau déminéralisée pour la reconstitution du réactif.
4. TCA (Acide trichloroacétique) 62,5 g/L

CALIBRATION

- Etalon du coffret (flacon R2) dosé dans des conditions standardisées par méthode enzymatique et avec étalon aqueux traçable sur standard NERL
- Ou tout calibrant raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opération de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle obtenues sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un nouveau flacon de contrôle.

CONTRÔLE DE QUALITE

CODE CNQ : AX

- Contrôle Normal Ethanol Ammoniac Bicarbonate **REF** 95013
- Contrôle Pathologique Ethanol Ammoniac Bicarbonate **REF** 95023
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opération de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un nouveau flacon de contrôle et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

SIGNES CLINIQUES (1) (2)

Concentration en alcool éthylique
SANG TOTAL :

Stades d'influence alcoolique

g/L	mmol/L	
0,50-1,00	10,9-21,7	Rougeurs, ralentissement des réflexes, perte d'acuité visuelle
> 1,00	> 21,7	Dépression du système nerveux central (SNC)
> 4,00	> 86,8	Décès pouvant survenir par arrêt respiratoire

URINES: Les valeurs après absorption sont similaires à celles du sérum

SERUM: Multiplier par 1,2 à 1,3 les valeurs données pour le sang total.

La concentration en alcool est virtuellement indétectable chez le sujet abstinant. Pour un même taux d'alcool, on observe des variations importantes du degré de dysfonctionnement du SNC en fonction des individus. La concentration légalement acceptable pour conduire un véhicule est différente en fonction du pays considéré.

PERFORMANCES (4)

Intra-série N = 20	Taux faible	Taux élevé	Intra-série N = 20	Taux faible	Taux élevé
Moyenne g/L	0,412	1,083	Moyenne g/L	0,416	1,095
S.D. g/L	0,0087	0,0141	S.D. g/L	0,016	0,013
C.V. %	2,1	1,3	C.V. %	3,97	1,23

Limite de détection : environ 0,10 g/L

Sensibilité pour 1 g/L : environ 0,430 Abs à 340 nm.

Comparaison avec réactif du commerce (méthode enzymatique) :

40 sérums situés entre 0.40 et 2.80 g/L ont été dosés avec les 2 méthodes.

Equation de la droite de régression linéaire :

$$y = 1,0069 x - 0,0021 \quad r = 0,9987$$

X (g/L)	Inexactitude tolérable (4)	Valeur exp. de Y	Inexactitude	Conclusion
1,00	+/-0.05	1,00	0,00	Accepté
3,00	+/-0.09	3,02	0,02	Accepté

LIMITE DE LINEARITE

La réaction est linéaire jusqu'à 3 g/L (65 mmol/L).

Au-delà, diluer le spécimen (1 + 4) avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Porter le réactif et les spécimens à température ambiante.

Procédure n°1 : Sérums, plasmas, Urines (Sans déprotéinisation)

Mesurer dans des tubes à essais de 5 mL :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif de Travail (flacon R1)	3 mL	3 mL	3 mL
Eau déminéralisée	10 µL		
Etalon (flacon R2)		10 µL	
Spécimen			10 µL

Mélanger. Incuber 10 minutes à 37° C ou 15 minutes à 30° C ou 30 minutes à température ambiante.
Lire les absorbances à 340 nm (ou Hg 334) contre le blanc réactif.
La réaction est stable 2 heures (voir § INTERFERENCES).

Remarque :

Urines : Il est recommandé de réaliser un blanc échantillon (10 µL d'échantillon + 3 mL d'eau, lu contre l'eau). Déduire ensuite l'absorbance du blanc échantillon de l'absorbance obtenue pour l'essai (lu contre le blanc réactif).

Procédure n°2 : Sang total, plasma ou sérum très troubles, fortement hémolysés ou ictériques (Avec déprotéinisation)

1- Préparation du surnageant

Introduire dans des tubes à centrifuger :	Etalon	Spécimen
Solution TCA à 62,5 g/L	1,8 mL	1,8 mL
Etalon (flacon R2)	200 µL	
Spécimen		200 µL

Bien boucher. Agiter vigoureusement. Laisser reposer 5 minutes.
Centrifuger 5 minutes à 2000-3000 TPM (le tube Etalon n'a pas besoin d'être centrifugé).

2- Dosage

Mesurer dans des tubes à essais de 5 mL	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif de Travail (flacon R1)	3 mL	3 mL	3 mL
Eau déminéralisée	100 µL		
Etalon dilué dans TCA		100 µL	
Surnageant			100 µL

Mélanger. Incuber 10 minutes à 37° C ou 15 minutes à 30° C ou 30 minutes à température ambiante.
Lire les absorbances à 340 nm (ou Hg 334) contre le blanc réactif.
La réaction est stable 2 heures (voir § INTERFERENCES).

Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 922-927.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 1344-1347.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-251 à 3-253
- (4) GADSDEN R.H., TAYLOR E.H., STEINDEL S.J. et al : Ethanol in Biological Fluids by Enzymic Analysis. In : Selected Methods of Emergency Toxicology. C.S. Frings, W.R. Faulkner, Eds. Vol 11. Selected Methods of Clinical Chemistry, Washington DC, AACC Press, 1986, p. 63-65