



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les hautes Rives
02160, Maizy, France

ALCOHOL ETHANOL

Reactivo para la determinación cuantitativa del alcohol en el suero, plasma, sangre total u orina humana.

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

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

CODIGO CNQ : AX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



IVD USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1)

La mayoría de los toxicólogos consideran que el etanol es la sustancia química más frecuentemente consumida de forma abusiva. En consecuencia, la medida del etanol es uno de los testes que más se realiza en los laboratorios de toxicología. Aunque encontrado con menos frecuencia, es importante incluir el metanol, el isopropanol y la acetona (metabolito del isopropanol), en la evaluación por cromatografía en fase gaseosa de una intoxicación aguda por alcohol.

PRINCIPIO (4)

Técnica enzimática descrita por Gadsen R. H. y al. El esquema de la reacción es el siguiente:



La relación ADH y NAD⁺/Alcohol se mantiene elevada de forma que el equilibrio sea alcanzado rápidamente. El etanol es rápidamente transformado en acetaldehído y NADH. La reacción es desplazada casi en totalidad hacia la derecha por la utilización de un agente que atrapa el acetaldehído en el transcurso de su formación.

La absorbancia del NADH, proporcional a la concentración en alcohol en la muestra, es medida a 340 nm en punto final.

REACTIVOS

Vial R1

ENZIMA COENZIMA

NAD⁺ ≥ 2,4 mmol/L

(Nicotinamida adenina dinucleótido)

ADH ≥ 25 000 UI/L

(Alcohol deshidrogenasa)

Tampón TRIS pH 8,65 ± 0,1 a 25°C

Estabilizador

Conservante

Xn, R22-32: Nocivo por ingestión. El contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

S22-38: No respirar el polvo. En caso de ventilación insuficiente, úsese equipo respiratorio adecuado.

Después de reconstitución: Nulo

Vial R2

STANDARD

Etanol: aproximadamente 100 mg/dL (21,7 mmol/L)

Ver la etiqueta del vial R2 para conocer la concentración exacta.

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados a personal cualificado, para uso in vitro únicamente.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas). No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- Los reactivos contienen azida sódica (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre o el plomo de las tuberías. Enjuagar con abundante agua.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

REF 99029: Utilizar un objeto no cortante para quitar la cápsula.

Añadir sin demora al contenido del vial R1 (enzima-coenzima) la cantidad de agua desmineralizada indicada en la etiqueta.

Agitar suavemente hasta su completa disolución antes de utilizar el reactivo (aproximadamente 10 minutos).

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8°C en el vial de origen bien cerrado, protegido de la luz.

- **Standard (vial R2):** transferir por vertido la cantidad necesaria, taponar de nuevo y almacenar a 2-8°C.
- Utilizados y almacenados como se indica, el reactivo (vial R1) antes de abrir y el Standard (vial R2) son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Después de reconstitución:
 - ✓ El reactivo de trabajo es estable 7 días en ausencia de contaminación.

No utilizar el reactivo R1 si está turbio o si la absorbancia a 340 nm es > 0,500. No utilizar el reactivo de trabajo (vial R1) después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (1) (2)

Orina. Suero. plasma. sangre total (utilizar un agente desinfectante no alcoholizado en el momento de la punción venosa). Los anticoagulantes que se pueden utilizar son la heparina, el oxalato de Potasio, el EDTA, el citrato o el fluoruro de Sodio.

Estabilidad en la sangre total: (sin fluoruro de sodio)

- ✓ 2 días a 18-25°C.
- ✓ 2 semanas a 2-8°C.
- ✓ 4 semanas a -15°C.

Estabilidad en la sangre total: (con fluoruro de sodio)

- ✓ 2 semanas a 18-25°C.
- ✓ 3 meses a 2-8°C.
- ✓ 6 meses a -15°C.

Los tubos para las muestras deben estar herméticamente cerrados para evitar una disminución del volumen en alcohol por evaporación.

INTERFERENCIAS (1) (3)

Los estudios de interferencia realizados sobre sueros no han puesto en evidencia ninguna interferencia con el Procedimiento n°1 :

Interferente	Alcohol en la muestra (g/L)	Resultados
Acido ascórbico	0.95	No hay interferencia hasta 250 mg/L
Bilirrubina total	0.96	No hay interferencia hasta 418 µmol/L
Hemoglobina	0.90	No hay interferencia hasta 189 µmol/L
Glucosa	0.507	No hay interferencia hasta 10 g/L
Turbidez	0.90	No hay interferencia hasta 0.308 abs (lactescencia)

Los sueros o plasmas muy turbios, fuertemente ictericos o hemolizados pueden ser desproteinizados antes de la prueba (§ **MODO DE EMPLEO**).

Ciertos alcoholes interfieren con la técnica de determinación pero reaccionan con más lentitud que el etanol (respetar los tiempos de incubación indicados en el modo de empleo):

Sustancia	% aproximativo de reactividad
Etanol	100
n-Butanol	28
Isopropanol	4
Metanol	0,3
Etileno glicol	1,6
Acetona	0

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.



Fabricante



Fecha de caducidad



IVD



Temperatura de conservación



Referencia del producto



Consultar instrucciones



Numero de lote



Protegido de la luz



Suficiente para



REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sueros de controles normales y patológicos.
3. Agua desmineralizada para la reconstitución del reactivo.
4. TCA (Acido tricloroacético) 62,5 g/L

CALIBRACION

- Standard de la caja (vial R2) dosificado en condiciones estandarizadas por método enzimático y con Standard acuoso trazable sobre Standard NERL
 - O cualquier calibrador trazable sobre un método o un material de referencia.
- La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.

Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:

1. Cambio de lote de reactivo.
2. Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos se salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un nuevo vial de control.

CONTROL DE CALIDAD

CODIGO CNQ: AX

- Control Normal Etanol Amoniaco Bicarbonato [REF] 95013
- Control Patológico Etanol Amoniaco Bicarbonato [REF] 95023
- Programa externo de control de la calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar un nuevo vial de control y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

SIGNOS CLINICOS (1) (2)

Concentración en alcohol etílico

Estados de influencia alcohólica

SANGRE TOTAL:

mg/dL	mmol/L	
50-100	10,9-21,7	Manchas rojas, ralentización de los reflejos, pérdida de agudeza visual
> 100	> 21,7	Depresión del sistema nervioso central (SNC)
> 400	> 86,8	Defunción que puede ocurrir por paro respiratorio

ORINA: Los valores después de absorción son similares a las del suero

SUERO: Multiplicar por 1,2 a 1,3 los valores dados para la sangre total.

La concentración en alcohol es virtualmente indetectable en el sujeto con astenia.

Para la misma tasa de alcohol, se observan variaciones importantes del grado de disfuncionamiento del SNC en función de los individuos. La concentración legalmente aceptable para conducir un vehículo es diferente en función del país considerado.

PRESTACIONES

Intra-serie N = 20	Tasa baja	Tasa elevada	Inter-serie N = 20	Tasa baja	Tasa elevada
Media mg/dL	41.2	108.3	Media mg/dL	41.6	109.5
S.D. mg/dL	0,87	1.41	S.D. mg/dL	1.6	1.3
C.V. %	2,1	1,3	C.V. %	3,97	1,23

Límite de detección: aproximadamente 10 mg/dL

Sensibilidad para 100 mg/dL: aproximadamente 0,430 Abs. a 340 nm.

Comparación con reactivo comercial (método enzimático):

40 sueros situados entre 0.40 y 2.80 g/L han sido dosificados con los 2 métodos.

Ecuación de la recta de regresión lineal:

$$y = 1,0069x - 0,21 \quad r = 0,9987$$

X (g/L)	Inexactitud tolerable (4)	Valor calculado de Y	Inexactitud observada	Conclusión
1,00	+/-0.05	1,00	0,00	Aceptado
3,00	+/-0.09	3,02	0,02	Aceptado

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 300 mg/dL (65 mmol/L).

Más allá, diluir la muestra (1 + 4) con una solución NaCl a 9 g/L y hacer de nuevo la prueba teniendo en cuenta la dilución en el cálculo del resultado. El límite de linealidad depende de la relación de dilución muestra/reactivo.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner el reactivo y las muestras a temperatura ambiente.

Procedimiento n°1: Sueros, plasmas, orinas (Sin desproteínización)

Medir en tubos de ensayo de 5 mL:	Blanco	Standard	Prueba
Reactivo de Trabajo (vial R1)	3 mL	3 mL	3 mL
Agua desmineralizada	10 µL		
Standard (vial R2)		10 µL	
Muestra			10 µL

Mezclar. Incubar 10 minutos a 37°C ó 15 minutos a 30°C ó 30 minutos a temperatura ambiente.

Leer las absorbencias a 340 nm (o Hg 334) contra el blanco de reactivo.

La reacción es estable 2 horas (ver § INTERFERENCIAS).

Nota:

Orinas: se recomienda realizar un blanco muestra (10 µL de muestra + 3 mL de agua, leída contra el agua). Deducir la absorbencia del blanco muestra de la absorbencia obtenida para la prueba (leída contra el blanco reactivo).

Procedimiento n°2: Sangre total, plasma o sueros muy turbios, fuertemente hemolizados o ictericos (Con desproteínización)

1- Preparación del sobrenadante

Introducir en tubos para centrifugar:	Standard	Muestra
Solución TCA a 62,5 g/L	1,8 mL	1,8 mL
Standard (vial R2)	200 µL	
Muestra		200 µL

Tapar bien de nuevo. Agitar vigorosamente. Dejar reposar 5 minutos.

Centrifugar 5 minutos a 2000-3000 RPM (el tubo Standard no necesita ser centrifugado).

2- Determinación

Medir en tubos de ensayo de 5 mL	Blanco	Standard	Prueba
Reactivo de Trabajo (vial R1)	3 mL	3 mL	3 mL
Agua desmineralizada	100 µL		
Standard diluido en TCA		100 µL	
Sobrenadante			100 µL

Mezclar. Incubar 10 minutos a 37°C ó 15 minutos a 30°C ó 30 minutos a temperatura ambiente.

Leer las absorbencias a 340 nm (o Hg 334) contra el blanco reactivo.

La reacción es estable 2 horas (ver § INTERFERENCIAS).

Nota:

Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico BIOLABO.

CALCULO

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

$$\text{resultado} = \frac{\text{Abs (Prueba)}}{\text{Abs (Standard)}} \times \text{concentración del Standard}$$

BIBLIOGRAFIA

- (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