



ETANOL-L3K®

Números de catálogo: 273-30
273-17

Presentaciones: 6 x 30 mL
6 x 20 mL

USO

Para la determinación cuantitativa in vitro de etanol en suero, plasma y orina.

PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Vea la Hoja de Seguridad del Producto.

REACTIVOS

Reactivo Etanol-L3K®: solución que contiene un amortiguador (pH 7.3 a 25°C), 1.35 mmol/L de análogo de NAD, > 203 KU/L de alcohol deshidrogenasa (levadura), estabilizadores y un conservador.

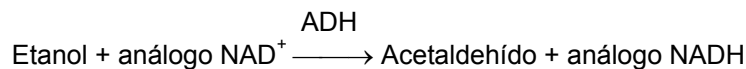
Estándar de Etanol: 1 x 5 mL de una solución que contiene 20 mmol/L (92 mg/dL) de etanol y un conservador.

RESUMEN DE LA PRUEBA

El etanol (alcohol etílico) es la sustancia tóxica más común implicada en casos médico-legales. El consumo de alcohol es un factor frecuente en todo tipo de accidentes y la intoxicación con etanol puede ser fatal. Analizar el etanol en pacientes comatosos ayuda en el diagnóstico diferencial de la causa del coma (1).

Los primeros métodos para el análisis de etanol dependían de la separación del etanol de la muestra. El método descrito aquí es un procedimiento enzimático que no requiere separación y es rápido y fácil de automatizar. Este método se basa en el primer método enzimático descrito por Bonnichsen y Theorelle (2) y modificado más tarde por otros autores. (3) Sin embargo, el método actual es único en cuanto a que ya no se necesita una trampa de aldehído con el fin de dirigir la reacción. Esto se completa con el uso de un cofactor con un potencial altamente oxidante.

PRINCIPIO



La enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) cataliza la conversión de etanol a acetaldehído y análogo de NADH. El potencial altamente oxidante del análogo NAD⁺ conduce la reacción hacia delante. La tasa de incremento en absorbancia a 340 nm o 380 nm debido a la reducción del análogo NAD⁺ a análogo NADH es proporcional a la cantidad de etanol presente en la muestra.

PREPARACION DEL REACTIVO

Los reactivos son suministrados listos para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

Los reactivos incluidos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas a 2-8°C.

El estándar de etanol debe cerrarse bien mientras no se use ya que su exposición a la atmósfera ocasiona la evaporación del etanol.

DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. La turbidez indica deterioro.

INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier analizador con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 340nm o 380 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

Pueden utilizarse orina, plasma o suero fresco, claro, no bemozizado. Las muestras deben estar cerradas. Se han analizado los anticoagulantes EDTA, heparina y citrato y pueden utilizarse con esta prueba.

Las muestras pueden almacenarse hasta por 3 días a $2-8^{\circ}\text{C}$. Si es necesario, pueden congelarse pero evitarse los ciclos de descongelamiento repetidos. Las muestras deben estar a temperatura ambiente ($18-26^{\circ}\text{C}$) para ser analizadas. Las muestras de orina deben almacenarse con un poco de espacio de aire como sea posible. El contenedor de la muestra debe invertirse suavemente y varias veces antes de abrir. Siempre coloque los tapones a los tubos de ensayo para evitar la evaporación del alcohol.

No debe usarse etanol para limpiar el sitio de venopunción o para limpiar o esterilizar la cristalería u otro equipo usado para recolectar la muestra o llevar a cabo el análisis. Evite el uso de tubos de ensayo, cubetas o pipetas que hayan sido limpiadas o esterilizadas con etanol.

LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Se llevaron a cabo estudios de interferencias por lactato y LDH utilizando muestras de etanol de 22 mmol/L (100 mg/dL) utilizando un criterio de significancia de variancia $>10\%$ a partir del control. No se encontró interferencia importante por LDH a concentraciones de ésta de 0-10,000 U/L en presencia de 200 mg/dL de lactato.

Se llevaron a cabo estudios de interferencias por ictericia, lipemia y hemoglobina empleando una muestra de etanol de 22 mmol/L (100 mg/dL) y utilizando un criterio de significancia de variancia $>10\%$ a partir del control.

No se encontró interferencia importante por ictericia a concentraciones de bilirrubina de 0-684 $\mu\text{mol/L}$ (0-40 mg/dL). No se encontró interferencia importante por lipemia a concentraciones de intralípidos de 0-1000 mg/dL [0-33.87 mmol/L (0-3000 mg/dL) de triglicéridos].

Se estudiaron concentraciones de hemoglobina de 0-155 $\mu\text{mol/L}$ (0-1000 mg/dL) con resultados aceptables a concentraciones de 93 $\mu\text{mol/L}$ (600 mg/dL). A una concentración de hemoglobina de 93 $\mu\text{mol/L}$ (600 mg/dL), se reportó una interferencia negativa de 6.8%.

Consulte un resumen de la influencia de drogas en pruebas de laboratorio clínico en Young, D.S. (4).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de etanol.

Condiciones

Analizadores automatizados

Longitud de onda	Primaria	340 nm o 380 nm
	Secundaria	520 nm
Temperatura		37°C
Paso de luz		Depende del analizador
Tipo de reacción		Cinética
Tiempo de reacción		2.5 minutos
Volumen de la muestra		3 μL
Volumen de reactivo		300 μL
Volumen total		303 μL
Relación muestra/reactivo		1:100

CALIBRACION

Se incluyen un estándar de etanol en el equipo y debe usarse conforme a las instrucciones para calibrar el procedimiento. El estándar de etanol está en base acuosa y los valores fueron asignados utilizando los estándares de etanol trazables de NIST.

CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar dos niveles de control según se requiera. Los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULOS Y RESULTADOS

Resultados

La concentración de etanol se expresa en mmol/L (mg/dL). Los resultados en mmol/L pueden convertirse a mg/dL aplicando el factor de 4.61.

Limitaciones

Una muestra con una concentración de etanol que exceda el límite de linealidad, debe diluirse con solución salina a 0.9% y volver a analizarse incorporando el factor de dilución de 5 en el cálculo del resultado. No se use con sangre completa. Cada usuario final es responsable de verificar las características de rendimiento empleando el equipo de laboratorio actual.

VALORES DE REFERENCIA (5)

El límite legal en plasma o suero para conductores es menor de 17 mmol/L (78 mg/dL) (Canadá).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando procedimientos automatizados, a menos que se indique lo contrario.

Estudio de recuperación

Se agregó etanol a dos grupos de muestras para aumentar la concentración de etanol en 9.1 mmol/L (41.8 mg/dL) y 34.7 mmol/L (160.1 mg/dL). La recuperación del etanol agregado promedió 96.2%.

Rango Reportable (NCCLS EP6-P)

El rango reportable utilizando un procedimiento automatizado dependerá de la proporción muestra/reactivo utilizada. El procedimiento automatizado descrito dio un rango de 2.2-130.3 mmol/L (10-600 mg/dL).

Especificidad

Se prepararon y analizaron soluciones potencialmente interferentes. A continuación se listan las concentraciones de los solventes y los resultados de los análisis, expresados como unidades de etanol.

Los resultados indican que la prueba está diseñada para detectar etanol y no otros alcoholes.

Solvente	Concentración de solvente (mg/dL)	Unidades de Etanol		% Reactividad
		mmol/L	mg/dL	
Acetona	100	0.3	1.3	1.3
	2000	0.3	1.2	0.1
Butanol	100	1.2	5.3	5.3
	200	2.7	12.4	6.2
Etilen-glicol	100	0.6	2.8	2.8
	2000	1.0	4.7	0.2
Metanol	100	0.2	1.0	1.0
	2000	0.1	0.4	0
Isopropanol	100	0.1	0.3	0.3
	2000	1.4	6.4	0.3

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se obtuvieron las estimaciones de precisión en reactivos control comercialmente disponibles. cada muestra fue analizada en un analizador Beckman Synchron CX5® dos veces por corrida, dos corridas por día por 20 días. Los datos de precisión se muestran en la siguiente tabla:

Nivel		DE Total		CV Total %	DE dentro de la corrida		CV dentro de la corrida %
mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL		mmol/L	mg/dL	
8.8	40.3	0.4	1.8	4.6	0.3	1.2	3.0
21.3	98.1	0.6	2.6	2.6	0.4	1.8	1.8
53.3	245.1	1.3	6.1	2.5	0.4	2.1	0.8

Exactitud (NCCLS EP9-P)

Se comparó el desempeño de este método (y) con el de otro método de etanol cinético (x) en un analizador Beckman Synchron CX5 con muestras de 40 pacientes que oscilaron de 4.8-141.3 mmol/L (22-650 mg/dL).

	Suero	Plasma	Orina
Pendiente	1.02	1.015	1.02
Intercepción (mg/ dL)	0.38	-0.40	-0.75
Media (mg/dL) L3K	184	173	168
Media (mg/dL) Referencia	180	171	165
Error estándar del estimado	4.10	3.20	4.67
Coefficiente de correlación	0.9996	0.9997	0.9994
Número de muestras	40	40	40

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. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, 1990.
5. McQueen, M.J., (Editor), SI Units in Clinical Chemistry (1980), Clinical Chemistry section Health Sciences Laboratory Medicine Program.

IN27330-9

Mayo 15, 2002

L3K® es una marca registrada de Diagnostic Chemicals Limited.