

ALCOHOL (ETHANOL)

Determinazione Enzimatica Endpoint dell'Alcool nel Siero, Plasma, Sangue intero e Urina

5 x 10 ml

REF CP01-50

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa dell'etanolo nel siero e nel e nel sangue intero.

PRINCIPIO

L'Etanolo in presenza di NAD⁺ e ADH viene convertito in Acetaldeide + NADH.

L'assorbanza del NADH, misurata spettrofotometricamente a 340 nm, è proporzionale alla concentrazione di alcool del campione.

REAGENTI

Contenuto delle confezioni:	CP01-50
REAGENT 1 (polvere) Tampone Tris NAD ⁺ , ADH	5 flaconi
STANDARD Etanolo NOTA: la concentrazione dello standard è riportata sull'etichetta del flacone.	1 x 2.5 ml

STABILITA': i reagenti sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

REAGENTI ADDIZIONALI NON COMPRESI NEL KIT

Soluzione di acido tricloroacetico (TCA) 62.5 g/L.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE DI LAVORO

Pipettare 10 ml esatti di acqua distillata in un flacone di Reagent 1.

Agitare delicatamente fino a completa dissoluzione.

Lasciar stabilizzare il reagente di lavoro per circa 10 minuti.

STABILITA': almeno 7 giorni a 2-8°C.

ATTENZIONE: scartare il reagente di lavoro se si presenta torbido o se la sua assorbanza a 340 nm è > 0.500.

CAMPIONE

Siero, plasma, sangue intero e urina (non usare tamponi ad alcool per il prelievo del sangue).

Anticoagulanti: eparina, potassio ossalato, EDTA, sodio citrato o sodio fluoruro.

STABILITA' nel sangue intero:

2 giorni a 18-25°C, 2 settimane a 2-8°C e 4 settimane a -15°C.

Conservare i campioni con il tappo ben serrato per evitare l'evaporazione.

PROCEDIMENTO MANUALE

Lunghezza d'onda:	340 nm
Cammino ottico:	1 cm
Lettura:	contro bianco reagente
Temperatura:	37 - 30°C - temperatura ambiente
Tempo di reazione:	10 - 15 - 30 minuti
Linearità:	fino a 300 mg/dl
Rapporto Reagente/Campione:	300/1

Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

PROCEDIMENTO SENZA DEPROTEINIZZAZIONE

(campione: siero, plasma, urina)

Pipettare in cuvette o provette contraddistinte:

B/R: Bianco Reagente, Std: Standard, C: Campione

	B/R	Std	C
Reagente di lavoro	3,0 ml	3,0 ml	3,0 ml
Acqua demineralizzata	10 µl		
Standard		10 µl	
Campione			10 µl

Miscelare con cura. Incubare per 10 minuti a 37°C, per 15 minuti a 30°C o per 30 minuti a temperatura ambiente. Leggere a 340 nm l'assorbanza del campione (Ac) e dello standard (Ast) contro bianco reagente. La reazione è stabile per 2 ore.

PROCEDIMENTO CON DEPROTEINIZZAZIONE

(campione: sangue intero, siero o plasma itterici, emolizzati o torbidi)

Pipettare in provette da centrifuga:

	Std	C
Soluzione TCA 62.5 g/L	1,8 ml	1,8 ml
Standard	200 µl	
Campione		200 µl

Chiudere le provette e agitare vigorosamente. Attendere 5 minuti. Centrifugare per 5 minuti a 2000-3000 rpm (non è necessario centrifugare lo standard).

Pipettare in provette o cuvette contraddistinte:

	B/R	Std	C
Reagente di lavoro	3,0 ml	3,0 ml	3,0 ml
Acqua demineralizzata	100 µl		
Standard diluito con TCA		100 µl	
Supernatante			100 µl

Miscelare con cura. Incubare per 10 minuti a 37°C, per 15 minuti a 30°C o per 30 minuti a temperatura ambiente. Leggere a 340 nm l'assorbanza del campione (Ac) e dello standard (Ast) contro bianco reagente. La reazione è stabile per 2 ore.

CALCOLO

Calcolare la concentrazione nel campione utilizzando le formule:

Alcool [g/L] = (Ac / Ast) x conc. standard [g/L]

Alcool [mmol/L] = (Ac / Ast) x conc. standard [mmol/L]

VALORI DI RIFERIMENTO

Concentrazione di etanolo in:

SANGUE INTERO:

mg/dl (mmol/L)	Sintomi
50-100 (10.9-21.7)	Vampate, lentezza di riflessi, attività visiva indebolita
> 100 (>21.7)	Depressione del sistema nervoso centrale (CNS)
> 400 (>86.8)	Morte accidentale (es. collasso respiratorio)

SIERO e URINA: moltiplicare per 1,2 - 1,3 i valori indicati per il sangue intero

NOTA: il livello di alcool non è rilevabile in soggetti astemi.

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è di circa 10 mg/dl.

Sensibilità per 100 mg/dl di etanolo: circa 0,430 ΔAbs.

Linearità: fino a 300 mg/dl (65 mmol/L).

Per valori superiori, diluire i campioni con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Precisione nella serie

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/dl)	41.2	108.3
DS	0.87	1.41
CV %	2.1	1.3

Precisione tra le serie

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/dl)	41.6	109.5
DS	1.6	1.3
CV %	3.97	1.23

Correlazione: la correlazione del metodo FAR (Y) con un metodo attualmente in commercio (X) ha evidenziato la seguente equazione:

$$Y = 1.0069 X - 0.21 \quad r = 0.9987$$

Interferenze:

- sieri o plasma itterici, emolizzati o torbidi devono essere deproteizzati prima del test (vedere Procedimento con deproteizzazione).

- urina: eseguire un bianco campione (10 µl di campione + 3,0 ml di acqua) e sottrarre l'assorbanza del bianco campione da quella del campione.

Alcuni alcoli interferiscono nella determinazione ma reagiscono più lentamente dell'etanolo. Per evitare interferenze rispettare il tempo di incubazione riportato nel procedimento.

OSSERVAZIONI

- I limiti fissati per legge per la concentrazione di alcool nel sangue per coloro che sono alla guida di veicoli a motore variano da stato a stato

PRECAUZIONI



ATTENZIONE

Il REAGENTE 1 Irritante per gli occhi (H319). Provoca irritazione cutanea (H315).

IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: sciacquare abbondantemente con acqua. IN

CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti.

Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

Evitare il contatto con la pelle e l'ingestione.

Seguire le normali precauzioni per l'utilizzo di sostanze chimiche.

BIBLIOGRAFIA

- Gadsen R.H. 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.

PRODUTTORE

FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: order@farddiag.com e-mail: farddiag@farddiag.com

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso