

ARK™ Ethyl Glucuronide Assay

Bitte lesen Sie diese Gebrauchsinformation für den ARK Ethyl Glucuronide Assay von ARK Diagnostics, Inc. vor der Verwendung sorgfältig durch und befolgen Sie die entsprechenden Anweisungen. Der Test ist ein einfaches und schnelles Analyseverfahren zum Nachweis von Ethylglucuronid im Urin. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nur dann gewährleistet werden, wenn die Anleitungen dieser Gebrauchsanweisung genau beachtet werden.

Kundenservice












ARK Diagnostics, Inc.

48089 Fremont Blvd
 Fremont, CA 94538 USA
 Tel: 1-877-869-2320
 Fax: 1-510-270-6298
 customersupport@ark-tdm.com
 www.ark-tdm.com



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP Den Haag
 Niederlande

Verwendete Symbole

	Chargenbezeichnung	 TT-MM-JJJJ	Verwendbar bis/Verfallsdatum
	Bestellnummer		Hersteller
	Autorisierte EU-Vertretung		CE-Kennzeichnung
	Siehe Gebrauchsanweisung	 	Reagenz 1/Reagenz 2
	Temperaturbeschränkung		<i>In vitro</i> Diagnostikum
Rx Only	Anwendung nur nach Vorschrift		

© 2018, ARK Diagnostics, Inc.

 Reagenzkit  5036-0001-00

 Reagenzkit  5036-0001-01

 Reagenzkit  5036-0001-02

1 Name

ARK™ Ethyl Glucuronide Assay

2 Verwendungszweck

Der ARK Ethyl Glucuronide Assay dient der qualitativen bzw. semi-quantitativen Bestimmung von Ethylglucuronid in Humanurin bei Cut-off Konzentrationen von 500 ng/mL bzw. 1000 ng/mL. Der Test liefert ein einfaches und schnelles Analyseverfahren zum Nachweis von Ethylglucuronid in Urin und ist für die professionelle Verwendung auf klinisch-chemischen Analysensystemen bestimmt.

Der semi-quantitative Modus ermöglicht es jedem Labor, (1) eine geeignete Probenverdünnung für die Bestätigungsanalyse zu bestimmen bzw. (2) entsprechende Qualitätskontrollverfahren zu etablieren.

Der ARK Ethyl Glucuronide Assay liefert nur ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Um ein abgesichertes analytisches Ergebnis zu erhalten, muss ein alternatives chemisches Verfahren eingesetzt werden. Die Bestätigungsverfahren der Wahl sind Gas-Chromatographie/Massenspektrometrie (GC-MS) oder Flüssig-Chromatographie/Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Bei jedem Drogentest-Ergebnis sollte eine klinische Betrachtung und professionelle Beurteilung angewandt werden, vor allem dann, wenn das vorläufige Testergebnis positiv ausfällt.

3 Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Die Beurteilung des Alkoholkonsums ist wichtig für die medizinische Behandlung alkoholabhängiger Personen. Anwendungen in der Forensik sowie bei Arbeitsplatzuntersuchungen sind ebenfalls üblich. Ethylglucuronid (EtG) ist ein direkter Ethanol-Metabolit, der durch enzymatische Konjugation von Ethanol mit Glucuronsäure gebildet wird.^{1,2} Der Ethanol-Metabolismus führt zu einer zeitabhängigen Urinausscheidung von Ethylglucuronid und anderen Metaboliten. In der Regel ist Alkohol im Urin nur wenige Stunden nachweisbar, während EtG mehrere Tage auch nach vollständiger Ausscheidung des Alkohols aus dem Körper detektiert werden kann.³ EtG kann damit ein nützlicher diagnostischer Biomarker zur Bestimmung von kürzlich erfolgtem Alkoholkonsum und zur Überwachung der Abstinenz bei Alkoholikern in Alkoholentzugsprogrammen sein.⁴⁻⁷ Ethanol kann auch *in vitro* durch Fermentierung von Glukose in zuckerhaltigen Urinproben (Diabetes), Bakterien oder Hefe entstehen, wenn die Proben warmen Temperaturen ausgesetzt sind.⁸ In solchen Fällen kann ein EtG-Test bestätigen, ob der Alkohol in der Probe auf den Konsum von Ethanol zurückzuführen ist oder ob er *in vitro* durch Fermentierung entstanden ist. Derzeit wird EtG meist mittels GC/MS und LC-MS/MS überwacht.⁹⁻¹⁰

Aktuell gibt es keinen Konsens über einen EtG Cut-off. Ein unbeabsichtigter Kontakt mit Ethanol, das etwa in Desinfektionsmitteln und anderen Produkten oder Lebensmitteln enthalten ist, kann zu nachweisbaren EtG-Werten führen.

Der ARK Ethyl Glucuronide Assay ist ein *in vitro* Diagnostikum. Der Nachweis von Ethylglucuronid in Humanurin unterstützt die Beurteilung der Compliance bei der Behandlung von Substanzmissbrauch durch übermäßigen Ethanolkonsum. Die Bestimmung von EtG Werten im Urin wird außerdem für die bestmögliche Auswahl von Kandidaten für Lebertransplantationen herangezogen sowie für die Früherkennung von Rückfällen nach einer Lebertransplantation.¹¹

4 Grundlagen des Verfahrens

Der ARK Ethyl Glucuronide Assay ist ein homogener Enzymimmunoassay, der zur Analyse von Ethylglucuronid in Humanurin eingesetzt wird. Der Assay basiert auf der Konkurrenz um Antikörper-Bindungsstellen zwischen dem Analyten in der Probe und dem analyt-gekoppelten rekombinanten Enzym Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH). Die Aktivität des Enzyms nimmt ab, sobald es an den Antikörper gebunden ist. Damit kann die Analytkonzentration in der Probe anhand der Enzymaktivität gemessen werden. Das aktive Enzym wandelt Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD) in Gegenwart von Glukose-6-Phosphat (G6P) zu NADH um. Die daraus resultierende Extinktionsänderung ist spektralphotometrisch messbar. Das endogene G6PDH hat keinen störenden Einfluss auf die Ergebnisse, da das Koenzym NAD lediglich mit dem bakteriellen Enzym des Assays interagiert.

5 Reagenzien

REF	Produktbeschreibung	Größe/Volumen
5036-0001-00	ARK Ethyl Glucuronide Assay Reagenz R1 – Antikörper/Substrat Polyklonale Schafs-Antikörper gegen Ethylglucuronid, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, Rinderserumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 28 mL
	Reagenz R2 – Enzym Mit rekombinantem Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) gekoppeltes Ethylglucuronid-Derivat, Rinderserumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 14 mL

REF	Product Description	Größe/Volumen
5036-0001-01	ARK Ethyl Glucuronide Assay Reagenz R1 – Antikörper/Substrat Polyklonale Schafs-Antikörper gegen Ethylglucuronid, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, Rinderserumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 115 mL
	Reagenz R2 – Enzym Mit rekombinantem Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) gekoppeltes Ethylglucuronid-Derivat, Rinderserumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 58 mL

REF	Product Description	Größe/Volumen
5036-0001-02	ARK Ethyl Glucuronide Assay Reagenz [R1] – Antikörper/Substrat Polyklonale Schafs-Antikörper gegen Ethylglucuronid, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, Rinderserumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 500 mL
	Reagenz [R2] – Enzym Mit rekombinantem Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (rG6PDH) gekoppeltes Ethylglucuronid-Derivat, Rinderserumalbumin, Natriumazid und Stabilisatoren	1 X 250 mL

Handhabung und Lagerung der Reagenzien

ARK Ethyl Glucuronide Assay Reagenzien werden flüssig und gebrauchsfertig geliefert. Sie können direkt aus dem Kühlschrank verwendet werden. Wenn die Reagenzien nicht in Gebrauch sind, müssen sie bei 2-8°C aufrecht und mit fest geschlossener Schraubkappe gelagert werden. Die Reagenzien bleiben bis zum Haltbarkeitsdatum auf dem Etikett stabil, wenn sie gemäß Anleitung gelagert werden. Frieren Sie die Reagenzien nicht ein. Vermeiden Sie eine längere Einwirkung von Temperaturen über 32°C. **Unsachgemäße Lagerung der Reagenzien kann die Leistung des Tests beeinflussen.**

ARK Ethyl Glucuronide Produkte enthalten ≤0,09% Natriumazid. Zur Vorsicht sollten alle betroffenen Leitungen, auch die der verwendeten Geräte, mit ausreichend Wasser gespült werden, um eine mögliche Ansammlung von explosiven Metallaziden zu verhindern. Bei den übrigen Assay-Komponenten ist keine besondere Handhabung erforderlich.

6 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Zur *in-vitro*-diagnostischen Verwendung. Anwendung nur nach Vorschrift.
- Die Reagenzien [R1] und [R2] werden als zusammengehörendes Set geliefert und sollten nicht mit Reagenzien aus anderen Chargen gemischt werden.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums sollten die Reagenzien nicht mehr verwendet werden.
- Die Reagenzien enthalten ≤0.09% Natriumazid.

7 Probenabnahme und Vorbereitung der Analyse

- Als Probenmaterial wird Humanurin benötigt. Behandeln Sie Proben als potentiell infektiöses Material.
- Sammeln Sie den Urin in geeigneten Probenröhrchen und befolgen Sie die üblichen Vorgehensweisen. Stellen Sie sicher, dass die chemische und physische Integrität der Urinprobe vom Zeitpunkt der Abnahme bis zum Zeitpunkt der Analyse sowie während des Transports gewährleistet bleibt. Es wird empfohlen, stets frische Urinproben zu verwenden.

- Verschließen Sie die Urinprobe direkt nach der Abnahme, lagern Sie diese bei 2-8°C und analysieren Sie sie innerhalb von 7 Tagen nach Abnahme. Sollten Sie die Analyse innerhalb dieser 7 Tage nicht durchführen können, frieren Sie die Urinprobe ein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung sowie wiederholtes Einfrieren und Auftauen, um die Probenintegrität sicherzustellen.
- Eingefrorene Proben müssen vor der Analyse aufgetaut und gründlich gemischt werden.
- Zentrifugieren Sie stark getrübe Proben bzw. Proben, die sichtbare Partikel enthalten, bevor Sie den Test durchführen.
- Der empfohlene pH-Bereich für Urinproben liegt zwischen 4,0 und 11,0.
- Wenn Sie den Verdacht haben, die Probe sei verfälscht worden, nehmen Sie eine weitere Probe ab. Die Verfälschung von Urinproben kann das Testergebnis beeinflussen.

8 Testverfahren

Mitgeliefertes Material

ARK Ethyl Glucuronide Assay – **REF** 5036-0001-00, 5036-0001-01 or 5036-0001-02

Benötigtes Material – Separat erhältlich

ARK Ethyl Glucuronide Calibrator – **REF** 5036-0002-00

ARK Ethyl Glucuronide Calibrator A (Negative) – **REF** 5036-0002-01

ARK Ethyl Glucuronide Calibrator C (500 ng/mL Cut-off) – **REF** 5036-0002-02

ARK Ethyl Glucuronide Calibrator D (1000 ng/mL Cut-off) – **REF** 5036-0002-03

Qualitätskontrolle – ARK Ethyl Glucuronide Control (375 ng/mL & 625 ng/mL) – **REF** 5036-0003-00 oder ARK Ethyl Glucuronide Control (750 ng/mL & 1250 ng/mL) – **REF** 5036-0003-01

Analysensystem

Die Reagenzien **R1** und **R2** müssen vor dem Gebrauch eventuell in gerätespezifische Reagenzbehälter umgefüllt werden. Vermeiden Sie eine Kreuzkontamination von **R1** und **R2**. Informationen zur täglichen Wartung finden Sie im gerätespezifischen Benutzerhandbuch. Informationen zur Programmierung des ARK Ethyl Glucuronide Assays gibt das gerätespezifische Applikationsprotokoll bzw. unser Kundenservice.

Verfahren

Informationen zur Durchführung bzw. Kalibration des Assays finden Sie im gerätespezifischen Benutzerhandbuch.

Qualitative Ergebnisse

Verwenden Sie den 500 ng/mL Calibrator C bzw. den 1000 ng/mL Calibrator D, um negative und positive Proben zu unterscheiden, entsprechend Ihrer laborspezifischen Kriterien. Für jeden Cut-off Bereich stehen Qualitätskontrollen zur Verfügung. Nutzen Sie die Low (375 ng/mL) und High (625 ng/mL) Controls mit Cut-off Calibrator C bzw. die Low (750 ng/mL) und High (1250 ng/mL)

Controls mit Cut-off Calibrator D als Negativ- bzw. Positiv-Kontrolle. Alle qualitativen Testergebnisse werden als Enzymaktivität (mA/min) angegeben. Testergebnisse mit geringerer Enzymaktivität im Vergleich zum entsprechenden Cut-off Calibrator gelten als negativ, Testergebnisse mit gleicher oder höherer Enzymaktivität im Vergleich zum Cut-off Calibrator gelten als positiv.

Semi-quantitative Ergebnisse

Führen Sie eine 5-Punkt-Kalibration durch, um einen Näherungswert der Ethylglucuronid-Konzentration zu erhalten und bestimmen Sie die Extinktionsrate der Kalibratoren doppelt. Überprüfen Sie die Kalibrationskurve mit der ARK Low und High Control gemäß des von Ihnen festgelegten Laborplans zur Qualitätssicherung. Im semi-quantitativen Modus liegt der Messbereich zwischen 100 ng/mL und 2000 ng/mL. Proben, deren Ethylglucuronid-Konzentration über 2000 ng/mL liegt, können mit dem ARK Calibrator A (Negativer Urin) verdünnt werden. Die Ergebnisse sollten dann innerhalb des genannten Bereichs liegen.

Gründe für eine erneute Kalibration

- Wenn eine neue Reagenzcharge verwendet wird
- Wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle es erfordern
- Wenn das Standard-Laborprotokoll es erfordert
- Wenn die vorherige Kalibrationskurve mindestens 28 Tage verwendet wurde.

Qualitätskontrolle (QC)

Jedes Labor sollte sein eigenes Qualitätskontrollverfahren für den ARK Ethyl Glucuronide Assay erstellen. Alle Vorgaben der Qualitätskontrollen und Messungen sollten unter Berücksichtigung der lokalen, Landes- oder Bundesvorschriften bzw. Akkreditierungsanforderungen befolgt werden.

Jedes Labor sollte für neue Kontrollchargen seine eigenen Bereiche festlegen. Die ARK Ethyl Glucuronide Control ist zur Qualitätskontrolle des ARK Ethyl Glucuronide Assays bestimmt und sowohl im qualitativen als auch im semi-quantitativen Modus einsetzbar.

Bezogen auf den 500 ng/mL bzw. 1000 ng/mL Cut-off Calibrator sollte im qualitativen Modus die Low Control negativ und die High Control positiv sein.

9 Ergebnisse und erwartete Werte

Eine tatsächliche Konzentration kann nicht ermittelt werden. Dazu ist ein Bestätigungsverfahren notwendig.

Qualitative Analyse – Negative Ergebnisse

Eine Probe, deren Wert unter dem des Cut-off Calibrators C bzw. des Cut-off Calibrators D liegt, wird als negativ interpretiert; d.h., die Probe enthält entweder kein Ethylglucuronid oder lediglich in einer Konzentration unterhalb des Cut-off-Wertes, der für diesen Assay verwendet wurde.

Qualitative Analyse – Positive Ergebnisse

Eine Probe, deren Wert gleich ist wie der des Cut-off Calibrators C bzw. des Cut-off Calibrators D oder darüber liegt, wird als positiv interpretiert und weist darauf hin, dass sie Ethylglucuronid enthält.

Semi-quantitative Analyse

Die Semi-Quantifizierung von positiven Ergebnissen ermöglicht es dem Labor, die geeignete Probenverdünnung für die Bestätigung der verwendeten analytischen Methode zu ermitteln. Die Semi-Quantifizierung erlaubt dem Labor außerdem, Qualitätskontrollverfahren zu etablieren und die Reproduzierbarkeit zu ermitteln. Proben mit Ethylglucuronid-Konzentrationen über 2000 ng/mL können mit dem ARK Calibrator A (Negativ-Urin) verdünnt werden. Die Ergebnisse der verdünnten Proben sollten dann zwischen 100 ng/mL und 2000 ng/mL liegen.

Die mit diesem Test erzielten Ergebnisse sollten stets im Zusammenhang mit der Krankengeschichte des Patienten, dem klinischen Erscheinungsbild und anderen Befunden interpretiert werden.

10 Grenzen des Verfahrens

- Dieser Assay ist nur zur Verwendung mit Humanurin bestimmt.
- Die ARK Ethyl Glucuronide Assay Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen wurden als Set entwickelt. Werden Produkte ausgetauscht, kann die Performance nicht mehr gewährleistet werden.
- Ein positives Testergebnis mit dem ARK Ethyl Glucuronide Assay ist lediglich ein Hinweis darauf, dass Ethylglucuronid in der Probe vorhanden ist, und korreliert nicht notwendigerweise mit der physiologischen oder psychologischen Wirkung.
- Borsäure wird als Konservierungsmittel nicht empfohlen.
- Berücksichtigen Sie bei der Interpretation der Ergebnisse, dass Urinkonzentrationen aufgrund von Flüssigkeitszufuhr und anderen Variablen extrem variieren können.
- Auch Substanzen, die in der Spezifitätsstudie nicht untersucht wurden, können möglicherweise den Test beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.
- Lagern Sie bearbeitete Patientenproben gefroren bei -20°C , um die Probenstabilität zu gewährleisten.
- Kontakt mit Ethanol aus anderen Quellen, z.B. in Desinfektionslösungen, kann zu falsch-positiven Ergebnissen führen.

11 Spezifische Leistungsmerkmale

Die Daten in diesem Abschnitt wurden mit dem ARK Ethyl Glucuronide Assay auf einem klinisch-chemischen Analysensystem vom Typ Beckman Coulter AU680[®] ermittelt.

Präzision

Die Präzision wurde durch Messung von Ethylglucuronid in Humanurin bestimmt. Analyt-freier, negativer Humanurin wurde mit Ethylglucuronid dotiert (0,0 bis 2000,0 ng/mL). Die Messung erfolgte sowohl qualitativ als auch semi-quantitativ über 20 Tage, bei 2 Läufen pro Tag, in vierfacher Ausführung (N=160). Calibrator C (500 ng/mL) sowie Calibrator D (1000 ng/mL) wurden jeweils als Cut-off Calibrator eingesetzt, um die Präzision im qualitativen Modus zu ermitteln.

Qualitative Präzision (500 ng/mL Cut-off)

Ethylglucuronid (ng/mL)	Relative % Cut-off	Ergebnis
0,0	-100	160 Negativ
250,0	-50	160 Negativ
375,0	-25	160 Negativ
500,0	0	95 Negativ; 65 Positiv
625,0	+25	160 Positiv
750,0	+50	160 Positiv
1000,0	+100	160 Positiv

Qualitative Präzision (1000 ng/mL Cut-off)

Ethylglucuronid (ng/mL)	Relative % Cut-off	Ergebnis
0,0	-100	160 Negativ
500,0	-50	160 Negativ
750,0	-25	160 Negativ
1000,0	0	98 Negativ; 62 Positiv
1250,0	+25	160 Positiv
1500,0	+50	160 Positiv
2000,0	+100	160 Positiv

Semi-quantitative Präzision

Ethylglucuronid (ng/mL)		In der Serie		Gesamt	
Getesteter Level	Mittelwert	SD	VK (%)	SD	VK (%)
0,0	0,0	0,00	NA	0,00	NA
250,0	233,6	9,07	3,9	12,12	5,2
375,0	383,5	11,85	3,1	16,97	4,4
500,0	498,6	14,88	3,0	22,43	4,5
625,0	634,5	18,44	2,9	28,55	4,5
750,0	732,0	23,27	3,2	30,63	4,2
1000,0	959,8	27,47	2,9	39,67	4,1
1250,0	1212,7	39,69	3,3	51,27	4,2
1500,0	1462,3	50,22	3,4	68,90	4,7
2000,0	1983,8	86,79	4,4	140,44	7,1

Analytische Wiederfindung

Die analytische Wiederfindung des ARK Ethyl Glucuronide Assays wurde im semi-quantitativen Modus ermittelt. Analyt-freier, negativer Humanurin wurde mit Ethylglucuronid in unterschiedlichen Konzentrationen versetzt (0,0 bis 2000,0 ng/mL). In sechs (6) Wiederholungen wurde die mittlere Analyt-Konzentration bestimmt und die prozentuale Wiederfindung berechnet.

Getestete Konzentration (ng/mL)	Mittelwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,0	0,0	NA
50,0	47,6	95,2
100,0	106,3	106,3
250,0	264,2	105,7
500,0	521,7	104,3
700,0	714,1	102,0
1000,0	989,4	98,9
1300,0	1338,6	103,0
1500,0	1551,2	103,4
1800,0	1749,9	97,2
2000,0	2010,4	100,5

Bestimmungsgrenze

Die niedrigste getestete Ethylglucuronid-Konzentration, die die Kriterien der Wiederfindung ($\pm 15\%$) bzw. Präzision ($< 20\%$ VK) erfüllte, lag bei 50,0 ng/mL.

Linearität

Wie im CLSI Protokoll EP6-A empfohlen, wurden Linearitätsstudien im semi-quantitativen Modus durchgeführt. Analyt-freier, negativer Humanurin wurde mit Ethylglucuronid (2000,0 ng/mL) versetzt und proportional mit analyt-freiem Humanurin verdünnt. Die Ethylglucuronid-Konzentrationen lagen dabei zwischen 0,0 und 2000,0 ng/mL. Die Linearität der spezifischen Verdünnungen galt als akzeptabel, wenn die prozentuale Differenz zwischen den prognostizierten Regressionswerten 1. und 2. Ordnung bei $\pm 10\%$ lag. Zwischen 0,0 und 2000,0 ng/mL konnte eine lineare Beziehung nachgewiesen werden ($y = 1,0061x - 2,5181$).

Geschätzter Wert (ng/mL)	Ergebnisse (ng/mL)	Wiederfindung (%)	Progn. Ergebnisse 1. Ordnung	Progn. Ergebnisse 2. Ordnung	Differenz (%)
0,0	0,0	NA	-2,52	-8,47	NA
75,0	68,1	90,7	72,94	69,05	-5,33
100,0	92,7	92,7	98,09	94,85	-3,31
200,0	191,7	95,9	198,70	197,77	-0,47
400,0	405,2	101,3	399,92	402,41	0,62
800,0	796,1	99,5	802,36	806,89	0,56
1000,0	1013,1	101,3	1003,58	1006,73	0,31
1200,0	1226,9	102,2	1204,80	1204,97	0,01
1400,0	1404,4	100,3	1406,02	1401,61	-0,31
2000,0	1995,5	99,8	2009,68	1981,93	-1,38

Analytische Spezifität

Alle getesteten Substanzen wurden analyt-freiem negativen Humanurin beigefügt.

Die Muttersubstanz Ethanol sowie die in Urin häufig vorkommenden Glucuronide lieferten bei den getesteten Konzentrationen sowohl im qualitativen als auch im semi-quantitativen Modus ein negatives Ergebnis.

Substanz	Getestete Konzentration (µg/mL)	Semi-quantitativ	Qualitativ	
		Mittelwert (ng/mL)	500 ng/mL Cut-off	1000 ng/mL Cut-off
Acetaldehyd	10.000	1,5	Negativ	Negativ
Buprenorphin-Glucuronid	10	4,2	Negativ	Negativ
Butanol	10.000	16,2	Negativ	Negativ
D-Glukose	10.000	25,7	Negativ	Negativ
Ethanol	100.000	33,8	Negativ	Negativ
Ethylenglycol	10.000	0,0	Negativ	Negativ
Ethylsulfat	100	0,0	Negativ	Negativ
Glucuronsäure	10.000	14,3	Negativ	Negativ
Hydroxykumarin-Glucuronid	10	5,7	Negativ	Negativ
Isopropanol	10.000	0,1	Negativ	Negativ
Lorazepam Glucuronid	10	1,0	Negativ	Negativ
Methanol	10.000	0,6	Negativ	Negativ
Methylglucuronid	20	432,8	Negativ	Negativ
Morphine-3-Glucuronid	200	7,8	Negativ	Negativ
Morphine-6-Glucuronid	100	0,0	Negativ	Negativ
Norbuprenorphin-Glucuronid	10	3,8	Negativ	Negativ
n-Propanol	10.000	1,0	Negativ	Negativ
Oxazepam-Glucuronid	10	1,7	Negativ	Negativ
p-Nitrophenyl-Glucuronid	1000	374,0	Negativ	Negativ
Propyl D-glucuronid	0,5	407,9	Negativ	Negativ
Temazepam-Glucuronid	10	0,8	Negativ	Negativ
Trichloroethylglucuronid	5	3,8	Negativ	Negativ

Die folgenden, strukturell nicht verwandten Substanzen lieferten bei den gemessenen Konzentrationen sowohl im qualitativen als auch im semi-quantitativen Modus ein negatives Ergebnis.

Substanz	Getestete Konzentration (µg/mL)	Semi-quantitativ	Qualitativ	
		Mittelwert (ng/mL)	500 ng/mL Cut-off	1000 ng/mL Cut-off
6-Acetylmorphin	200	18,5	Negativ	Negativ
Acetaminophen	500	56,0	Negativ	Negativ
Acetylsalicylsäure	500	0,0	Negativ	Negativ
Amitriptylin	100	4,0	Negativ	Negativ
Amoxicillin	100	0,5	Negativ	Negativ
Amphetamin	500	31,9	Negativ	Negativ
Benzoylecgonin	200	8,1	Negativ	Negativ
Carbamazepin	500	43,9	Negativ	Negativ
Chlorpromazin	100	7,2	Negativ	Negativ
Clomipramin	100	5,1	Negativ	Negativ
Cimetidin	500	0,5	Negativ	Negativ
Codein	200	77,6	Negativ	Negativ
Desipramin	500	35,9	Negativ	Negativ
Dextromethorphan	200	26,5	Negativ	Negativ
Dihydrocodein	200	17,6	Negativ	Negativ
Doxepin	200	24,0	Negativ	Negativ
Ephedrin	500	42,7	Negativ	Negativ
Fentanyl	200	4,5	Negativ	Negativ
Fluoxetin	500	37,1	Negativ	Negativ
Fluphenazin	500	35,9	Negativ	Negativ
Heroin	200	26,4	Negativ	Negativ
Hydrocodon	200	13,8	Negativ	Negativ
Hydromorphon	200	17,1	Negativ	Negativ
Ibuprofen	1000	21,2	Negativ	Negativ
Imipramin	500	39,4	Negativ	Negativ
Koffein	100	4,9	Negativ	Negativ
Levorphanol	500	27,1	Negativ	Negativ
Maprotilin	500	38,7	Negativ	Negativ
Meperidin	500	29,5	Negativ	Negativ
Methadon	500	47,0	Negativ	Negativ
Metronidazol	500	1,0	Negativ	Negativ
Morphin	200	12,7	Negativ	Negativ
Nalbuphin	500	37,7	Negativ	Negativ
Naltrexon	3000	42,9	Negativ	Negativ
Norcodein	200	10,1	Negativ	Negativ
Normorphin	200	6,3	Negativ	Negativ
Nortriptylin	500	23,1	Negativ	Negativ
Oxazepam	500	31,4	Negativ	Negativ
Oxycodon	200	12,3	Negativ	Negativ
Phencyclidin	500	31,4	Negativ	Negativ
Phenobarbital	500	28,6	Negativ	Negativ
Ranitidin	500	0,2	Negativ	Negativ
Secobarbital	500	33,9	Negativ	Negativ
Talwin	500	40,7	Negativ	Negativ
Thebain	100	9,4	Negativ	Negativ
Thioridazin	500	85,3	Negativ	Negativ

Substanz	Getestete Konzentration (µg/mL)	Semi-quantitativ	Qualitativ	
		Mittelwert (ng/mL)	500 ng/mL Cut-off	1000 ng/mL Cut-off
Tramadol	500	0,9	Negativ	Negativ

Interferenzen – Endogene Substanzen

Hohe Konzentrationen der folgenden endogenen Substanzen wurden analyt-freiem negativen Humanurin beigefügt.

Bei den gemessenen Konzentrationen wurden weder im qualitativen noch im semi-quantitativen Modus Interferenzen beobachtet.

Substanz	Getestete Konzentration (µg/mL)	Semi-quantitativ	Qualitativ	
		Mittelwert (ng/mL)	500 ng/mL Cut-off	1000 ng/mL Cut-off
Aceton	1000	0,0	Negativ	Negativ
Ascorbinsäure	2000	0,0	Negativ	Negativ
Ethanol	100	0,0	Negativ	Negativ
Galaktose	100	0,0	Negativ	Negativ
Glukose	30000	81,5	Negativ	Negativ
Hemoglobin	3000	0,0	Negativ	Negativ
Humanalbumin	5000	0,0	Negativ	Negativ
Kreatinin	4000	0,0	Negativ	Negativ
Natriumchlorid	9000	0,0	Negativ	Negativ
Oxalsäure	300	39,0	Negativ	Negativ
Riboflavin	40	0,0	Negativ	Negativ
Urea	10000	0,0	Negativ	Negativ

Interferenzen – Spezifisches Gewicht und pH

Urinproben mit einem spezifischen Gewicht von 1,0077 bis 1,0351 bzw. mit pH Werten zwischen 3,0 und 11,0 wurden ohne Ethylglucuronid getestet. Interferenzen wurden nicht beobachtet.

Vergleichsanalyse

Einhundert (100) bestätigte EtG-positive sowie einhundertundeins (101) bestätigte EtG-negative klinische Urinproben wurden mit dem ARK Ethyl Glucuronide Assay analysiert. Das LC-MS/MS Bestätigungsverfahren wurde durch ein akkreditiertes Referenzlabor durchgeführt unter Verwendung eines Ethylglucuronid-Cut-offs von 50,0 ng/mL. Der ARK Ethyl Glucuronide Assay (500 ng/mL bzw. 1000 ng/mL Cut-off) unterschied klar zwischen positiven und negativen Ergebnissen, bei 100% klinischer Sensitivität und 99% klinischer Spezifität mit dem 500 ng/mL Cut-off sowie 100% klinischer Sensitivität und 100% klinischer Spezifität mit dem 1000 ng/mL Cut-off.

Qualitative Analyse – 500 ng/mL Cut-off

LC-MS/MS			
		(+)	(-)
ARK Ethyl Glucuronide Assay	(+)	100	1*
	(-)	0	100

*Zusammenfassung der abweichenden Ergebnisse

Proben-ID	ARK Qualitativ (Negativ/Positiv)	ARK Semi-quantitativ (ng/mL)	LC-MS/MS Ethyl Glucuronide (ng/mL)
176	Positiv	565,0	<50,0

Qualitative Analyse – 1000 ng/mL Cut-off

LC-MS/MS			
		(+)	(-)
ARK Ethyl Glucuronide Assay	(+)	95	0
	(-)	0	106

Fünf (5) der einhundert (100) bestätigten EtG-positiven Proben enthielten Ethylglucuronid-Konzentrationen zwischen den beiden Cut-offs des ARK Assays. Diese Proben wurden, bezogen auf den 500 ng/mL Cut-off, durch den ARK Assay als positiv gemessen, und, bezogen auf den 1000 ng/mL Cut-off, als negativ. Dies wurde mittels LC-MS/MS bestätigt. Die Ergebnisse dieser 5 Proben sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben-ID	ARK Qualitativ (Negativ/Positiv)	ARK Semi-quantitativ (ng/mL)	LC-MS/MS Ethyl Glucuronid (ng/mL)
044	Negativ	668,4	900,0
045	Negativ	529,3	580,0
050	Negativ	631,3	600,0
062	Negativ	981,3	930,0
072	Negativ	691,8	720,0

12 Referenzen

1. Schmitt, G. et al. 1995. Ethyl Glucuronide: An unusual Ethanol Metabolite in Humans. Synthesis, Analytical Data, and Determination in Serum and Urine. *Journal of Analytical Toxicology* **19**:91-94.
2. Dahl, H. et al. 2002. Comparison of Urinary Excretion Characteristics of Ethanol and Ethyl Glucuronide. *Journal of Analytical Toxicology* **26**:201-204.
3. Wurst, FM et al. 2003. Ethyl Glucuronide – The direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction* **98**(S2):51-61.
4. Seidl, S. et al. 2001. Ethyl Glucuronide – A Biological Marker for recent alcohol consumption. *Addiction Biology* **6**(3):205-212.
5. Skipper, G.E et al. 2004. Ethyl Glucuronide: A Biomarker to identify Alcohol use by Health Professionals Recovering from Substance use Disorders. *Alcohol and Alcoholism* **39**(5):445-449.
6. Wurst, FM et al. 2000. Ethyl Glucuronide – A marker of Recent Alcohol Consumption with Clinical and Forensic Implications. *Alcohol* **20**(2):111-116.
7. Skipper, G.E., et al. 2004. Ethyl Glucuronide (EtG): A new marker to detect Alcohol use in recovering physicians. *Journal of Medical Licensure and Discipline* **90**(2):14-17.
8. Saady, J.J. et al. 1993. Production of urinary ethanol after sample collection. *Journal of Forensic Sciences* **38**:1467-1471.
9. Zimmer, H. et al. 2002. Preliminary immunochemical test for the determination of Ethyl Glucuronide in serum and urine: Comparison of screening method results with Gas Chromatography – Mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology* **26**:11-16.
10. Weinmann W. et al. 2004. Confirmatory Analysis of Ethyl Glucuronide in urine by liquid chromatography/Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry according to forensic guidelines. *J. Am. Soc. Mass Spectrom* **15**(2):188-193.
11. Stauer, K. et al. 2011. Urinary ethyl glucuronide as a novel screening tool in patients pre- and post-liver transplantation improves detection of alcohol consumption. *Hepatology* **54**:1640–1649.

13 Markenzeichen

ARKTM ist ein Markenzeichen von ARK Diagnostics, Inc.

Alle anderen Marken- oder Produktnamen sind Markenzeichen der entsprechenden Markeninhaber.



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Gedruckt in den USA
Überarbeitet September 2018
1600-0609-00DE Rev 02