

Willi Fox – Ethylglucuronide (EtG)

Mode d'emploi (IFU)

1. Champ d'application

Le test rapide **Willi Fox** – Ethylglucuronide est un immunodosage rapide pour la détection qualitative du biomarqueur spécifique à l'alcool éthylglucuronide dans l'urine humaine avec un seuil de détection à 500 ng/ml. Il peut être utilisé comme aide à l'introduction ou à l'observation de mesures thérapeutiques ou à la surveillance du personnel de certaines professions où l'alcool est un sujet particulièrement sensible (pilotes, chauffeurs, médecins, etc).

Des réflexions cliniques ainsi que l'avis d'un spécialiste pour chaque résultat de test en relation avec un abus d'alcool sont indispensables, surtout si les résultats préliminaires sont positifs. Les tests sont prévus pour l'utilisation dans les laboratoires professionnels et les cabinets médicaux par du personnel qualifié et doivent être exécutés selon le mode d'emploi.

2. Résumé du principe du test

Le test rapide **Willi Fox** – Ethylglucuronide est un immunodosage à écoulement latéral qui est basé sur le principe de la concurrence des liaisons. L'éthylglucuronide est un métabolite secondaire non-oxydatif de l'alcool éthylique qui se forme dans le corps via glucuronidation après la consommation d'alcool. L'EtG résulte de la conjugaison *in vivo* de l'éthanol avec l'acide glucuronique par l'UDP-glucuronosyltransférase. Seulement entre 0,02 et 0,04 % de l'alcool est métabolisé de cette manière.

L'EtG peut être détecté dans l'urine dans les deux à quatre jours après la consommation d'alcool. L'EtG peut être utilisé comme biomarqueur dans les tests d'alcoolémie des programmes de surveillance et a l'avantage, par rapport aux tests standards, d'avoir une période de détection plus large.

4. Principe du test

Le test rapide **Willi Fox** – Ethylglucuronide fonctionne sur le principe suivant: des molécules EtG immobilisées sur la membrane de test entrent en concurrence avec des molécules EtG éventuellement présentes dans l'urine pour un nombre limité de sites de liaison des anticorps (test de compétition).

La cassette de test contient une membrane sur laquelle sont déposées dans la région-test des molécules EtG immobilisées (conjugué EtG). Sur le coussin rose sur le côté droit (Start) de la membrane sont déposés des complexes constitués d'anticorps monoclonaux anti-EtG et d'or colloïdal. L'urine migre par capillarité le long de la membrane et les anticorps contenus dans l'urine atteignent la région-test. Si l'urine ne contient pas de molécules EtG, le complexe anticorps-or se lie au conjugué EtG sur la membrane et forme une ligne visible. L'apparition d'une ligne dans la région-test signifie donc un résultat négatif. Si l'urine contient des molécules EtG, celles-ci vont entrer en concurrence avec les conjugués EtG de la région-test et occuper tous les sites de liaison des anticorps, si leur concentration est assez élevée. La liaison des complexes colorés anticorps-or est donc empêchée dans la région-test. Si aucune ligne n'est visible, le résultat est positif. Pour confirmer le déroulement correct du test, une région-contrôle se trouve également sur la bandelette. Dans cette région a lieu une réaction antigène-anticorps qui confirme que le test a bien été exécuté. La ligne de contrôle colorée doit toujours apparaître, indépendamment du résultat du test.

Résultat négatif: apparition de deux lignes colorées (C, T).

Résultat positif : apparition d'une ligne colorée (C).

5. Contenu de l'emballage

- Cassettes de test à tremper, emballées individuellement dans des emballages scellés (chaque cassette avec une pipette à usage unique et un déshydratant) – *Le déshydratant n'entre pas dans l'exécution du test, prière de le jeter !*
- 1 mode d'emploi

6. Matériel supplémentaire requis (non livré)

- Récipient propre et sec pour récolter l'urine
- Chronomètre
- Gants

7. Stockage

Les tests rapides **Willi Fox** – Ethylglucuronide peuvent être conservés dans leur emballage scellé à température ambiante (2-30°C) jusqu'à la date de péremption indiquée.

Ne pas congeler !

8. Remarques importantes

- *Le test est prévu uniquement pour diagnostic in vitro par du personnel formé.*
- *A usage unique.*
- *Lisez précisément le mode d'emploi avant l'application du test.*
- *Les échantillons d'urine ainsi que tous les matériaux en contact avec eux peuvent être infectieux. Prenez toutes les précautions nécessaires pour la manipulation et l'élimination des échantillons. Evitez tout contact avec la peau par le port de gants et de vêtements de laboratoire.*
- *Utilisez un nouveau récipient et une nouvelle pipette pour chaque échantillon pour éviter les contaminations croisées.*
- *Utilisez un nouvel échantillon s'il y a un risque que l'échantillon utilisé soit mal marqué, contaminé ou abîmé.*
- *N'employez pas le test après échéance de la date de péremption.*
- *N'utilisez pas le test si l'emballage de feuille de protection est endommagé.*
- *Exécutez le test immédiatement (maximum une heure) après ouverture de l'emballage.*
- *Faites attention à la période d'évaluation indiquée.*
- *Stockez ou transportez le test uniquement aux températures indiquées.*

9. Prélèvement et traitement de l'échantillon

Le test rapide **Willi Fox** – Ethylglucuronide a été développé pour l'analyse d'échantillons d'urine. On peut récolter l'urine fraîche à tout moment de la journée. On peut directement utiliser l'échantillon et aucun traitement préalable spécifique n'est nécessaire. Cependant, certaines bactéries ou certains champignons peuvent produire ou décomposer de l'EtG. Pour cette raison, il faut utiliser des échantillons d'urine frais. Les échantillons peuvent être conservés au frais de 2°C à 8°C jusqu'à trois jours, et congelés à -20°C pour une période de conservation plus longue. Avant l'exécution du test, les échantillons doivent être amenés à température ambiante (15°C à 30°C). Les échantillons congelés doivent être bien mélangés après la décongélation. Si de grosses impuretés sont visibles dans l'échantillon, comme des particules en suspension, l'échantillon doit être centrifugé, filtré ou laissé au repos le temps que les particules se soient déposées au fond du récipient.

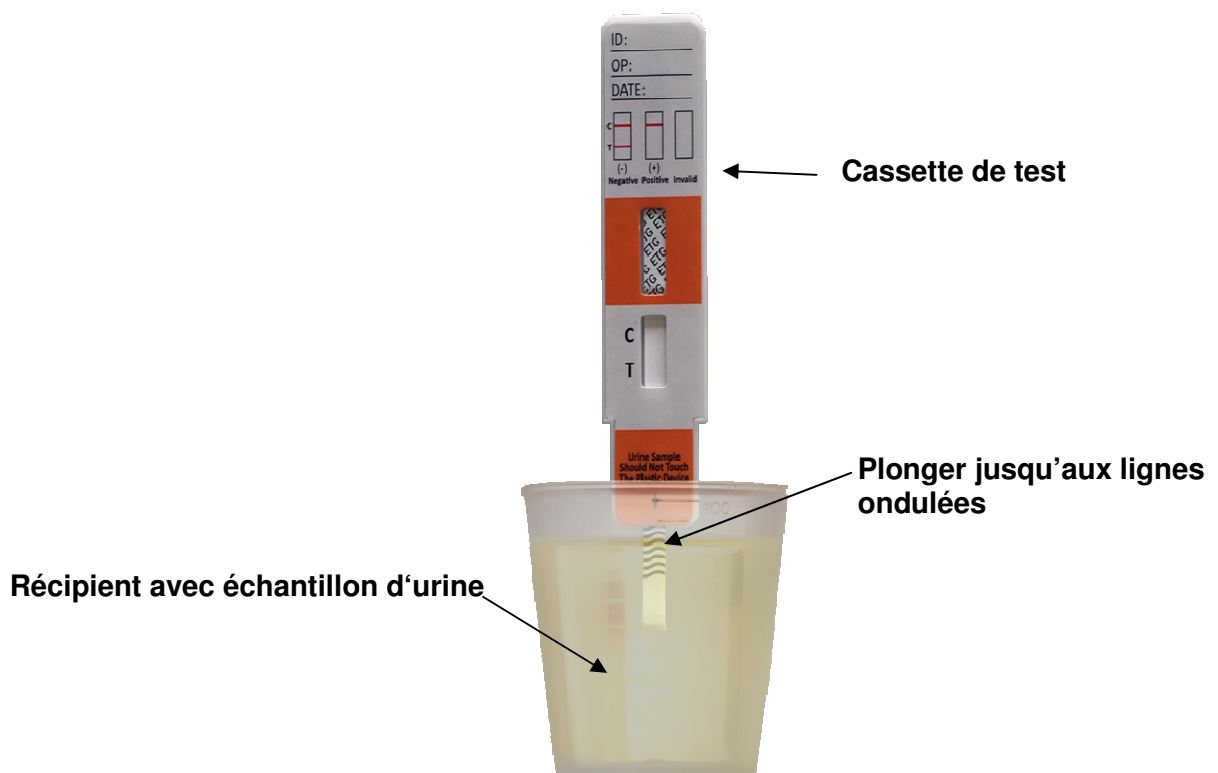
10. Exécution et interprétation du test

Faites attention aux explications concernant le prélèvement et le traitement de l'échantillon. Considérez également les « Remarques importantes » (chapitre 8). La cassette de test (dans son emballage scellé), l'échantillon du patient (urine) et / ou une éventuelle solution standard de contrôle doivent être amenés à température ambiante (15°C à 30°C) avant l'exécution du test. Ouvrez l'emballage de la cassette de test uniquement avant l'exécution imminente du test.

1. Sortez la cassette de test de son emballage scellé. Identifiez-la avec le nom / les coordonnées du patient ou en tant que solution de contrôle éventuelle.
2. Enlevez le capuchon de protection.
3. Plongez la bandelette du test dans la direction indiquée par la flèche dans l'échantillon d'urine. La bandelette doit être plongée en tout cas **jusqu'au marquage indiqué par des lignes ondulées, mais surtout pas jusqu'au plastique de la cassette.**

Maintenez la bandelette-test ainsi plongée pendant 10 à 15 secondes dans l'échantillon.

4. Remettez le capuchon de protection sur le test et posez le test sur une surface plane.
5. Démarrez le chronomètre et attendez l'apparition des lignes.
6. Le résultat du test doit être relevé après 5 minutes. N'attendez **pas plus de 10 minutes** pour relever le résultat !



7. Le résultat doit être relevé après **5 à 8 minutes**.

Le résultat ne peut plus être relevé après une attente de plus de 10 minutes.

N'attendez pas plus de 10 minutes pour relever le résultat !

Interprétation du résultat



Résultat négatif:

Deux lignes rouges apparaissent dans la fenêtre de test:

Une ligne de test (T), qui indique le résultat du test, et une ligne de contrôle (C), qui confirme le déroulement correct du test. L'intensité de couleur de la ligne T peut être plus ou moins forte que la ligne C et varier entre le rose et le rouge.

Attention: Même une coloration rose légère dans la zone de test T, si elle a été interprétée après le temps correct d'évaluation (5 à 10 minutes), doit déjà être interprétée comme négative !



Résultat positif:

Une ligne rouge apparaît dans la région (C):

Aucune ligne n'apparaît dans la région de test (T). Cela signifie un résultat positif et que la concentration d'EtG dans l'urine se situe au-dessus de la limite de détection.



Test non-valable:

Aucune ligne rouge n'apparaît dans la région de contrôle (C). Le test n'est **pas valable** et doit être refait.

11. Champ d'application

- Le test a été conçu pour l'analyse d'urine humaine.
- Un résultat de test positif montre uniquement la présence d'EtG / de métabolites d'alcool dans l'urine. Il ne donne pas d'indication sur la concentration exacte d'EtG ou même la possibilité d'une intoxication.
- Un résultat de test négatif ne prouve pas nécessairement que l'urine ne contient pas d'EtG. Un résultat peut également être indiqué comme négatif si de l'EtG est contenu dans l'urine, mais que la concentration est en-dessous de la limite de détection.
- Le test donne un résultat analytique temporaire. Pour la confirmation du résultat du test, il faut utiliser une méthode chimique plus spécifique. La méthode GC/MS s'est établie à la NIDA (National Institute of Drug Abuse) comme la méthode la plus fiable. Le résultat du test doit être comparé avec des symptômes cliniques et jugé avec compétence professionnelle, surtout si le résultat du test est positif.
- Il existe la possibilité que le résultat du test soit faussé par une erreur technique, une erreur de manipulation, des substances dans l'échantillon d'urine ou des facteurs externes qui pourraient influencer le déroulement correct du test et qui ne sont pas mentionnés dans le chapitre « Spécificité ».
- Un test EtG ne peut pas faire la différence entre une consommation d'alcool légale et illégale.
- Certains aliments ou compléments alimentaires peuvent positivement fausser le résultat.
- Des manipulations comme le rajout de substances ou de produits chimiques dans l'échantillon d'urine peuvent fausser le résultat.

12. Contrôle de qualité

Une fonction de contrôle (C) est incorporée dans le test. Cette fonction se manifeste par une ligne rouge (C) dans la région de contrôle du test. L'apparition de cette ligne confirme la quantité suffisante de liquide, une absorption correcte de la membrane et la fonctionnalité correcte du test.

D'après les Bonnes Pratiques de Laboratoire (en anglais GLP), il est conseillé d'effectuer des contrôles internes pour assurer l'exécution réglementaire du test. Des solutions de contrôle standard ne sont pas incluses dans l'emballage de test, mais disponibles sur le marché. Les échantillons positifs et négatifs doivent être manipulés de la même manière que les échantillons d'urine.

13. Caractéristiques du test

A. Pertinence

Une étude a été réalisée où les tests EtG *Willi Fox* ont été comparés grâce à la technique GC/MS. L'étude comparative a donné les résultats suivants :

Méthode		GC/MS		Total Résultats
Test rapide Willi Fox EtG	Résultats	Positif	Négatif	
	Positif	83	1	84
	Négatif	2	164	166
Total Résultats		85	165	250
Concordance en %		97,6%	99,4%	98,8%

B. Reproductibilité

Une étude a été réalisée dans trois cabinets médicaux différents par du personnel non instruit en la matière. Trois lots différents (charges de production) des tests EtG *Willi Fox* ont été utilisés pour cela. L'utilité de cette étude était d'exposer le déroulement du test et l'interaction entre le déroulement du test et l'utilisateur. Les résultats sont les suivants :

EtG

EtG Concentration en ng/ml	Echantillons par utilisateur	Utilisateur A		Utilisateur B		Utilisateur C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
250	10	10	0	10	0	10	0
375	10	8	2	8	2	9	1
625	10	1	9	2	8	2	8
750	10	0	10	0	10	0	10

C. Sensibilité analytique

De l'EtG à la concentration indiquée ci-dessous a été rajouté à de l'urine sans EtG. Les résultats sont les suivants :

EtG Concentration en ng/ml	Concentration d'EtG par rapport à la limite de détec- tion (cut-off)	Nomb- re d'écha- ntillons	Résultat visible	
			Négatif	Positif
0	0 % Cut-off	30	30	0
250	-50% Cut-off	30	30	0
375	-25% Cut-off	30	26	4
500	Cut-off	30	15	15
625	25% Cut-off	30	3	27
750	50% Cut-off	30	0	30
0	300% Cut-off	30	0	30

D. Spécificité analytique

Le tableau suivant indique la concentration (ng/ml) de liaisons qui ont montré un résultat positif après un temps d'attente de 5 à 10 minutes avec le test EtG *Willi Fox* :

Substance/ Liaisons	Concentration en ng/ml
	500
Ethyl- β -D-Glucuronide	50'000
Propyl- β -D-Glucuronide	100'000
Morphine -3 β -Glucuronide	100'000
Morphine -6 β -Glucuronide	100'000
Glucuronic Acide	>100'000
Ethanol	>100'000
Methanol	

E. Influence du poids spécifique de l'urine sur le résultat du test

Des concentrations d'éthylglucuronide de 250 ng/ml et 750 ng/ml ont été ajoutées à 15 échantillons d'urine avec un poids spécifique normal, haut et bas. Les échantillons d'urine avec leurs poids spécifiques différents ont ensuite été testés avec le test EtG *Willi Fox* sans rajout d'éthylglucuronide, ainsi qu'avec l'ajout. Les résultats ont démontré que le poids spécifique (1.005-1.045) n'a pas d'influence sur le résultat du test.

E. Influence de la valeur pH de l'urine sur le résultat du test

De l'urine ne contenant pas d'EtG a été répartie en des échantillons de même quantité. La valeur pH de chaque échantillon a ensuite été modifiée à 5, 6, 7, 8 et 9. Ces échantillons différents avec des valeurs pH différentes ont ensuite reçu un ajout de concentration d'éthylglucuronide de 500 ng/ml et 1500 ng/ml. Les échantillons d'urine avec valeur de pH différente ont ensuite été testés avec le test EtG *Willi Fox* sans éthylglucuronide, et avec éthylglucuronide. Les résultats ont montré que la valeur pH n'a pas d'influence sur le résultat du test.

E. Réaction croisée

Une étude a été réalisée pour vérifier la réaction croisée du test EtG *Willi Fox* avec les substances / liaisons dans de l'urine sans EtG et également dans de l'urine contenant de l'EtG. Les substances / liaisons suivantes ne montrent pas de réaction croisée au test avec le test EtG *Willi Fox* à une concentration de 100µg/ml:









4-Acetaninophenol	4-Dimethylaminoantipyrin
Aceton	Acetophenetidin
N-Acetylprocainamid	Acetylsalicylic Acide
Albumin	Amitriptylin
Amobarbital	Amoxapin
Amoxicillin	Aminopyrin
Ampicillin	L-Ascorbic Acide
Apomorphin	Aspartam
Atropin	Benzilic Acide
Benzoic Acide	Benzphetamin
Bilirubin	D/L-Brompheniramin
Buspiron	Cannabidol
Cimetidin	Chloralhydrat
Chloramphenicol	Chlordiazepoxid
Chloroquin	Chlorothiazid
D/L-Chloropheniramin	Chlorpromazine
Chlorprothixen	Cholesterol
Clomipramin	Codein
Cortison	L-Cotinin
Creatinin	Cyclobarbital
Cyclobenzaprin	
4-Dimethylaminoantipyrin	Deoxycorticosteron
Dextromethorphan	Diclofenac
Diflunisal	Digoxin
Diphenhydramin	Ecgonine methyl ester
L -Ψ-Ephedrin	β-Estradiol
Estrone-3-Sulfat	Ethyl-p-aminobenzoat
[1R,2S] (-) Ephedrine	L(-)-Epinephrin
Erythromycin	Fenoprofen
Furosemid	Gentisic Acide
Hemoglobin	Hydralazin
Hydrochlorothiazid	Hydrocortison
O-Hydroxyhippuric Acide	p-Hydroxyamphetamin
p-Hydroxytyramin	Ibuprofen
Iproniazid	D/L-Isoproterenol
Isoxsuprin	Ketamin
Ketoprofen	Labetalol
Loperamid	Meperidin
Meprobamat	Methoxyphenamin
Methylphenidat	Nalidixic Acide
Naloxon	Naltrexon
Naproxen	Niacinamid
Nifedipin	Norethindron
D-Norpropoxyphen	Noscapin
D/L-Octopamin	Oxalic Acide
Oxolinic Acide	Oxymetazolin
Papaverin	Penicillin-G

Pentazocine hydrochlorid	Perphenazin
Phenelzin	Trans-2-phenylcyclo-propylamine hydrochlorid
L-Phenylephrin	β -Phenylethylamin
Phenylpropanolamin	Prednisolon
Prednison	D/L-Propranolol
D-Propoxyphen	D-Pseudoephedrin
Quinacrin	Quinin
Quindin	Ranitidin
Salicylic Acide	Serotonin
Sulfamethazin	Sulindac
Tetracyclin	Tetrahydrocortisone 3-acetate
Tetrahydrozolin	Tetrahydrocortisone 3 (β -D-glucuronide)
Thiamin	Thioridazin
D/L-Tyrosin	Tolbutamid
Triamteren	Trifluoperazin
Trimethoprim	Tryptamin
D/L-Tryptophan	Tyramin
Uric Acide	Verapamil
Zomepirac	

14. Littérature

1. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 6th Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 2002; 129.
2. Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986.

15. Explication des symboles

	Numéro de produit		À usage unique
	Numéro de lot		Date de péremption
	Température de conservation		Contenu
	Pour usage in vitro seulement		Mode d'emploi

Tous les tests EtG- *Willi Fox* sont fabriqués et distribués par :

Willi Fox GmbH
CH - 4001 Basel
Tel. +41 (0)61 534 74 65
Fax +41 (0)61 535 14 80
willifox@willifox.com
www.willifox.com

