

Willi Fox – Ethyl Glucuronide (EtG)

Testanleitung (IFU)

1. Anwendungsbereich

Der **Willi Fox** - Ethyl Glucuronide Test ist ein immunologischer Einstufen-Schnelltest zum raschen, qualitativen Nachweis des alkoholspezifischen Biomarkers Ethylglucuronid in humanem Urin mit einem Cutoff Wert von 500 ng/ml. Er kann als Hilfsmittel zur Einleitung oder Beobachtung von therapeutischen Massnahmen verwendet werden oder zur Beobachtung von Angehöriger alkoholsensitiver Berufsgruppen wie Piloten, Berufskraftfahrern, Ärzten usw. eingesetzt werden.

Klinische Überlegungen und fachliches Urteil sollten bei jedem Testresultat auf Alkoholmissbrauch angewendet werden, besonders bei vorläufig positiven Ergebnissen. Die Tests sind für den Einsatz in professionellen Labors und Arztpraxen mit geschultem Personal entwickelt worden und sollten gemäss der Testanleitung durchgeführt werden.

2. Zusammenfassung des Testprinzips

Beim **Willi Fox** - Ethyl Glucuronide Schnelltest handelt es sich um ein lateral-flow Immunoassay, basierend auf dem Prinzip von konkurrenzierenden Bindungen. Ethylglucuronid (EtG) ist ein nicht-oxidativer Nebenmetabolit von Ethylalkohol, der im Körper via Glucuronidierung nach Alkoholkonsum gebildet wird. EtG entsteht durch *in vivo* Konjugation von Ethanol mit Glucuronsäure durch UDP Glucuronosyl Transferase. Nur 0,02-0,04% des Alkohols werden auf diese Weise metabolisiert.

EtG kann im Urin zwei bis vier Tage nach Alkoholkonsum nachgewiesen werden. EtG kann als Biomarker bei Alkoholtests in Überwachungsprogrammen benutzt werden und hat gegenüber Standardalkoholtests den Vorteil, dass die Zeitspanne zum Nachweis von Alkoholkonsum länger ist.

4. Testprinzip

Beim **Willi Fox** - Ethyl Glucuronide Schnelltest konkurrieren immobilisierte EtG-Moleküle auf der Testmembran mit eventuell im Urin enthaltenen EtG-Molekülen um eine begrenzte Anzahl von Antikörperbindungsstellen (Kompetitionstest).

Die Testkassette enthält einen Membranstreifen, der in der Testregion mit immobilisierten EtG-Molekülen (EtG-Konjugat) besetzt ist. In dem rosa gefärbten Kissen am rechten Ende (Start) der Membran befinden sich Komplexe aus monoklonalen Antikörpern gegen EtG und kolloidalem Gold. Mit dem Urin, der durch Kapillarkraft der Membran entlang fließt, gelangen die Antikörper in die Testregion. Sind keine EtG-Moleküle im Urin enthalten, binden die Antikörper-Gold-Komplexe dort an die EtG-Konjugate auf der Membran und bilden eine sichtbare Linie. Das Erscheinen einer Linie in der Testregion bedeutet daher ein negatives Testergebnis. Sind EtG-Moleküle im Urin enthalten, werden sie mit den EtG-Konjugaten in der Testregion um die Bindungsstellen an den Antikörpern konkurrieren und, wenn ihre Konzentration hoch genug ist, die Bindungsstellen vollständig besetzen. Dadurch wird eine Bindung der farbigen Antikörper-Gold-Komplexe in der Testregion verhindert. Ist keine Linie in der Testregion sichtbar, liegt daher ein positives Ergebnis vor. Zur internen Verfahrenskontrolle befindet sich auf dem Teststreifen eine Kontrollregion, in der eine weitere Antigen-Antikörperreaktion den korrekten Ablauf des Tests anzeigt. Die farbige Kontrolllinie sollte in jedem Fall erscheinen, ungeachtet dessen, ob EtG im Urin enthalten ist oder nicht.

Bei **negativen** Ergebnis werden also **zwei Farblinien** (C, T) erscheinen und bei **positivem Ergebnis** erscheint **eine Farblinie** (C).

5. Inhalt der Testpackung

- Tauchtestkassetten in verschweissten Folienbeuteln (jeweils mit einer Einwegpipette und einem Trockenmittel). – *Das Trockenmittel ist kein Testbestandteil, bitte in den Abfall geben!*
- 1 Testanleitung

6. Zusätzlich benötigtes Material (nicht mitgeliefert)

- Sauberes und trockenes Gefäß zum Sammeln des Urins
- (Stopp)uhr
- Handschuhe

7. Lagerung und Haltbarkeit

Die **Willi Fox** – EtG-Tests können im verschlossenen Beutel bei Raumtemperatur (2-30°C) bis zum angegebenen Verfallsdatum aufbewahrt werden.

Nicht einfrieren!

8. Wichtige Hinweise

- *Nur zur Anwendung als in vitro Diagnostikum durch Fachpersonal!*
- *Nur zum Einmalgebrauch*
- *Lesen Sie vor Ausführung des Tests die Testanleitung genau durch.*
- *Urinproben und alle mit ihnen in Berührung kommenden Materialien können möglicherweise infektiös sein. Entsprechende Vorsichtsmassnahmen bei der Handhabung und Entsorgung sollten daher getroffen werden. Vermeiden Sie Hautkontakt durch Tragen von Laborhandschuhen und Laborkleidung.*
- *Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probenbehälter und eine eigene Pipette verwendet werden.*
- *Besteht der Verdacht, eine Probe könnte falsch gekennzeichnet, kontaminiert oder verdorben sein, sollte eine neue Probe genommen werden.*
- *Test nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden.*
- *Test nicht verwenden, wenn Folienverpackung beschädigt ist.*
- *Test umgehend (innerhalb höchstens einer Stunde) nach Öffnung der Folienverpackung verwenden.*
- *Bitte beachten Sie die angegebenen Auswertungszeiten.*
- *Test nur unter angegebenen Temperaturen lagern und transportieren.*

9. Probegewinnung und Vorbehandlung

Der **Willi Fox** - EtG Schnelltest wurde für die Untersuchung von Urinproben entwickelt. Frischer Urin, der zu jeder Tageszeit gesammelt werden kann, erfordert keine besondere Vorbehandlung und kann direkt eingesetzt werden. Doch manche Bakterien/ Pilze können EtG produzieren oder abbauen. Es sollten daher frische Urinproben benutzt werden. Die Proben können gekühlt bei 2°C bis 8°C bis zu drei Tage und gefroren bei -20°C für längere Zeit aufbewahrt werden. Vor der Durchführung des Tests müssen die Proben auf Raumtemperatur (15°C bis 30°C) gebracht werden. Gefrorene Proben nach dem Auftauen gründlich mischen. Falls sichtbare Verunreinigungen wie Schwebepartikel vorhanden sind, sollte die Probe zentrifugiert, gefiltert oder so lange stehen gelassen werden, bis sich die Partikel auf den Boden des Gefässes abgesetzt haben.

10. Testdurchführung und Auswertung

Beachten Sie bitte die Erläuterungen zur Probengewinnung und -vorbehandlung und die ‚Wichtigen Hinweise‘. Die Testkassette (im verschlossenen Folienbeutel), die Patientenprobe (Urin) und/oder eine allfällige Standardkontrolllösung sollten vor Durchführung des Tests auf Raumtemperatur (15°C bis 30°C) gebracht werden. Öffnen Sie den Folienbeutel der Testkassette erst unmittelbar bevor Sie den Test durchführen.

1. Nehmen Sie die Testkassette aus der versiegelten Schutzhülle und versehen Sie sie mit einem Kennzeichen für die Patientenprobe oder für die allfällige eingesetzte Kontrolllösung.
2. Entfernen Sie die Schutzkappe
3. Tauchen Sie den Streifen des Tauchtests senkrecht in Richtung der Pfeile in die Urinprobe. Dabei muss der Streifen mindestens **bis zur Markierung mit den Wellen, aber auf keinen Fall bis zum Plastik der Kassette eingetaucht** werden.

Halten Sie den Tauchtest für 10-15 Sekunden in die Urinprobe.

4. Setzen Sie die Schutzkappe wieder auf den Test und legen Sie den Test auf eine ebene Unterlage.
5. Starten Sie die Stoppuhr und warten Sie bis die Linien erscheinen
6. Der Test sollte nach 5 Minuten abgelesen werden. Warten sie **nicht länger als 10 Minuten** mit dem ablesen!

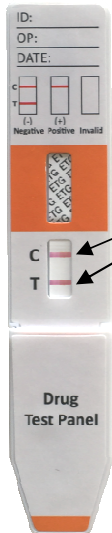


7. Die Auswertung sollte nach **5 bis 8 Minuten** erfolgen.

Nach 10 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.

Warten Sie nicht länger als 10 Minuten mit dem Ablesen des Ergebnisses!

Auswertung



Negatives Testergebnis:

Zwei rote Linien erscheinen im Sichtfenster:

Eine Testlinie (T), welche das Testergebnis anzeigt und eine Kontrolllinie (C), die den korrekten Ablauf des Tests bestätigt. Die Farbintensität der Testlinie kann schwächer oder stärker sein als die der Kontrolllinie und zwischen rosa und rot variieren.

Achtung: Selbst eine nur leichte rosa Verfärbung im Testbereich (T) muss, wenn innerhalb der Auswertungszeit (5 bis 10 Minuten) als negativ interpretiert werden!



Positives Testergebnis:

Eine rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C):

Das **Fehlen einer roten Linie** in der Testregion (T) bedeutet ein positives Ergebnis und dass die Konzentration von EtG im Urin im nachweisbaren Bereich liegt.



Ungültiges Testergebnis:

Keine eine rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C). Der Test ist **ungültig** und sollte wiederholt werden.

11. Einsatzbereich und Grenzen

- Der Test wurde entwickelt für die Untersuchung von menschlichem Urin.
- Ein positives Testergebnis zeigt nur die Anwesenheit von EtG/ Alkoholmetaboliten im Urin an. Es gibt keine Auskunft darüber, wie hoch die EtG-Konzentration ist, oder ob sogar eine Vergiftung vorliegt.
- Ein negatives Ergebnis muss nicht notwendigerweise nachweisen, dass die Urinprobe EtG-frei ist. Ein negatives Ergebnis können Sie auch erhalten, wenn EtG im Urin vorhanden sind, die Konzentration sich aber unterhalb der Nachweisgrenzen befindet.
- Der Test liefert ein vorläufiges analytisches Ergebnis. Zur Bestätigung des Testergebnisses ist der Einsatz einer spezifischeren chemischen Nachweismethode erforderlich. GC/MS hat sich dafür bei der NIDA (National Institute of Drug Abuse) als bevorzugte Methode etabliert. Das Testergebnis sollte mit der klinischen Symptomatik verglichen und fachlich beurteilt werden, insbesondere wenn ein vorläufig positives Testergebnis vorliegt.
- Es besteht die Möglichkeit, dass das Testergebnis durch technische Fehler, Fehler in der Versuchsdurchführung oder auch Substanzen in der Urinprobe oder Faktoren, die den Test beeinflussen und nicht im Abschnitt "Spezifität" erwähnt wurden, verfälscht wird.
- Ein EtG-Test kann nicht unterscheiden zwischen legalen und illegalem Alkoholkonsum.
- Gewisse Nahrungsmittel oder Nahrungsmittelzusätze können auch ein positives Ergebnis bewirken.
- Manipulationen wie das Zufügen von Substanzen und Chemikalien in die Urinprobe kann auch zu einem falschen Ergebnis führen

12. Qualitätskontrolle

Eine Funktionskontrolle(C) ist im Test eingebaut. Dazu ist die rote Linie (C) in der Kontrollregion des Tests vorgesehen. Das Erscheinen dieser Linie bestätigt das Vorhandensein von genügend Probeflüssigkeit, ausreichender Saugfähigkeit der Membrane und korrekter Funktionalität des Tests.

Nach den Richtlinien für gute Laborpraxis (GLP) wird empfohlen, interne Kontrollen durchzuführen, um die ordnungsgemäße Durchführung des Tests zu gewährleisten. Standardkontrolllösungen hierfür sind nicht in der Testpackung beigelegt, sind aber im Handel erhältlich. Die Positiv- und Negativproben sollten in gleicher Weise wie Urinproben behandelt werden.

13. Testeigenschaften

A. Richtigkeit

Es wurde eine Studie durchgeführt, bei dem der *Willi Fox* – Einstufen-EtG-Schnelltests mit GC/MS Technik verglichen wurde. Der Vergleich führte zu diesen Ergebnissen:

Methode		GC/MS		Total Resultate
Willi Fox EtG-Schnelltest	Resultate	Positiv	Negativ	
	Positiv	83	1	84
	Negativ	2	164	166
Total Resultate		85	165	250
Übereinstimmung in %		97,6%	99,4%	98,8%

B. Reproduzierbarkeit

Eine Studie wurde in drei verschiedenen Arztpraxen mit ungeschulten Angestellten durchgeführt, welche dabei drei unterschiedlichen Lots (Produktionschargen) der *Willi Fox* – EtG-Tests verwendet haben. Zweck der Studie war die Darstellung des Testablaufs und der Interaktion zwischen Testablauf und Anwender und führte zu folgenden Ergebnissen:

EtG

EtG Konzentration in ng/ml	Proben pro Anwender	Anwender A		Anwender B		Anwender 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. Analytische Sensivität

Ein Pool von EtG freiem Urin wurde mit EtG in der untenstehenden Konzentration versetzt und führte zu folgenden Ergebnissen:

EtG Konzentration in ng/ml	EtG-Konzentration im Bezug zur Nachweisgrenze (cut-off)	Anzahl Proben	Sichtbares Ergebnis	
			Negativ	Positiv
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. Analytische Spezifität

Die folgende Tabelle listet die Konzentration (ng/ml) von Verbindungen auf, welche mit dem **Willi Fox** – EtG Test innerhalb der Auswertungszeit von 5-10 Minuten positiv nachgewiesen wurden:

Substanz/ Verbindungen	Konzentration in ng/ml
	500
Ethyl- β -D-Glucuronoide	50'000
Propyl- β -D-Glucuronoide	100'000
Morphine -3 β -Glucuronoide	100'000
Morphine -6 β -Glucuronoide	100'000
Glucuronic Säure	>100'000
Ethanol	>100'000
Methanol	

E. Der Effekt des spezifischen Gewichts von Urin auf das Testergebnis

15 Urinproben mit normalem, hohem und tiefem spezifischen Gewicht wurden mit Ethyl- Glucuronid-Konzentrationen von jeweils 250ng/ml und 750ng/ml versehen. Die Urinproben mit unterschiedlichem spezifischem Gewicht wurden dann jeweils ohne Ethyl-Glucuronid und mit Ethyl-Glucuronid Zugabe mit dem **Willi Fox** – EtG Test getestet. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass das spezifische Gewicht (1.005-1.045) keinen Einfluss auf das Testergebnis hat.

E. Der Effekt des pH-Werts von Urin auf das Testergebnis

Ein Pool von EtG freiem Urin wurde in gleich grosse Proben aufgeteilt und dann der pH-Wert auf 5,6,7,8 und 9 verändert. Diese verschiedenen Proben mit unterschiedlichem pH-Wert wurden dann mit Ethyl-Glucuronid-Konzentrationen von jeweils 500ng/ml und 1500ng/ml versehen. Die Urinproben mit unterschiedlichem pH-Wert wurden dann jeweils ohne Ethyl-Glucuronid und mit Ethyl-Glucuronid Zugabe mit dem **Willi Fox** – EtG Test getestet. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass der pH-Wert keinen Einfluss auf das Testergebnis hat.

E. Kreuzreaktivität

Eine Studie wurde durchgeführt um die Kreuzreaktivität vom **Willi Fox** – EtG-Test mit Substanzen/ Verbindungen in EtG-freiem Urin, wie auch in auf EtG positiv getestetem Urin nachzuweisen. Die folgenden Substanzen/ Verbindungen zeigten keine Kreuzreaktionen beim Test mit dem **Willi Fox** – EtG-Test bei einer Konzentration von 100µg/ml:






4-Acetaninophenol	4-Dimethylaminoantipyrin
Aceton	Acetophenetidin
N-Acetylprocainamid	Acetylsalicylic Säure
Albumin	Amitriptylin
Amobarbital	Amoxapin
Amoxicillin	Aminopyrin
Ampicillin	L-Ascorbic Säure
Apomorphin	Aspartam
Atropin	Benzilic Säure
Benzoic Säure	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	
Deoxycorticosteron	Dextromethorphan
Diazepam	Diclofenac
Dicyclomin	Diflunisal
Diphenhydramin	5,5 Diphenylhydantoin
Disopyramid	Doxylamin
Ecgonine	Ecgonine methyl ester
EMDP	Ephredin
L -Ephedrin	(+/-)-Epinephrin
Erythromycin	β-Estradiol
Estrone-3-Sulfat	Ethyl-p-aminobenzoat
Etodolac	Famprofazon
Fentanyl	Fluoxetin
Furosemid	Gentisic Säure
d-Glucose	Guaicol glyceryl Esther
Hemoglobin	Hydralazin
Hydrochlorothiazid	Hydrocortison
O-Hydroxyhippuric Säure	p-Hydroxymethamphetamin
3-Hydroxytyramin (Dopamine)	Hydroxyzin
Ibuprofen	Imipramin
Iproniazid	D/L-Isoproterenol
Isoxsuprin	Kanamycin
Ketamin	Ketoprofen
Labetalol	Levorphanol
Lidocain	Lindan (Hexachlorocyclohexan)
Loperamid	Maprotilin
Meperidin	
d-Methamphetamin	l-Methamphetamin
Methadon	Methoxyphenamin
(+)-3,4 Methylendioxy	Methylphenidat
Mephentermin	Metoprolol

Meprobamat	Morphin Sulfat
Methyprylon	Nalidixic Säure
Nalorphin	Naloxon
Naltrexon	a-Naphthalenacetic Säure
Naproxen	Niacinamid
Nifedipin	Nimesulid
Norcodein	Norethindron
D-Norpropoxyphen	Noscapin
D/L-Octopamin	Orphenadrin
Oxalic Säure	Oxazepam
Oxolinic Säure	Oxycodon
Oxymetazolin	Oxymorphon
Papaverin	Pemoline
Penicillin-G	
Pentazocine hydrochlorid	Perphenazin
Phencyclidin	Phenelzin
Pheniramin	Phenobarbital
Phenothiazin	Phentermin
Prednisolon	Prednison
Procain	Promazin
Promethazin	L-Propoxyphen
D/L-Propranolol	D-Pseudoephedrin
Quinacrin	Quinin
Quindin	Ranitidin
Riboflavin	
Salicylic Säure	Serotonin (5Hydroxytryptamin)
Sodium Chlorid	Sulfamethazin
Sulindac	Sustiva (Efavirenz)
Temazepam	Tetracyclin
Tetrahydrocortisone 3-acetate	Tetrahydrocortexolon
Tetrahydrozolin	Thebain
Thiamin	Thioridazin
L-Thyroxin	Tolbutamid
Cis-Tramadol	Trans-2-Phenylcyclopropylamin
Trazodon	Trimethobenzamid
Triamteren	Trifluoperazin
Trimethoprim	Trimipramin
Tryptamin	D/L-Tryptophan
Tyramin	D,I-Tyrosin
Uric Säure	Verapamil
Digoxin	Lithium Carbonat
I-Phenylephrin	

14. Literatur

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. Symbolerläuterungen

REF	Produktnummer		nur zum Einmalgebrauch
LOT	Chargennummer		Verfalldatum
	Lagertemperatur		Inhalt
IVD	nur für in vitro-diagnostische Zwecke		Gebrauchsanweisung

Alle *Willi Fox* – EtG Tests werden in der Schweiz hergestellt und vertrieben durch:



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