

U-Etylglukuronid (EtG) (screen) på Atellica (NPU28003)**U-Etylglukuronid (EtG) (screen) på Atellica (NPU28003)****Bakgrund, indikation och tolkning**

Huvuddelen av etanolen (95-98%) elimineras från blodbanan via två oxidationssteg till ättiksyra. Resterande del utsöndras oförändrat i svett, urin och utandningsluft.

En liten fraktion etanol (ca 0,1 %) konjugeras dock till etylglukuronid (EtG) och etylsulfat (EtS) med hjälp av enzymerna uridin-fosfat glukuronyltransferas eller sulfotransferas [1,2]. EtG är en direkt metabolit av etanol och därför en specifik markör för etanolkonsumtion. EtG och EtS elimineras betydligt långsammare än etanol och kan detekteras i urin i många timmar upp till några dygn efter alkoholintag, där detektionstiden primärt beror på alkoholmängden. Mätning av EtG och EtS i urin påvisar ett intag som ligger nära i tiden (de senaste dygnet). Redan inom en timme efter alkoholintag kan EtG och EtS påvisas. EtG är den kvantitativt viktigaste av de två och halten i urin är i genomsnitt ungefär dubbelt så hög som EtS [3].

EtG kan utnyttjas som känslig markör för aktuell alkoholkonsumtion tex. för påvisande av enstaka intag eller tidig upptäckt av återfall i missbruk av alkohol i olika utredningsärenden, men även för att bekräfta nykterhet. Vid behandling och uppföljning av alkoholrelaterade problem kan EtG som komplement till långtidsmarkörer (PEth och/eller CDT) ge tilläggsinformation om problemets omfattning.

I screeningmetoden för EtG använder vi ett reagens från ARK Diagnostics Inc. [4]. Positiva fynd från screeningen bör verifieras med en konfirmerande masspektrometrisk metod. Verifieringsanalysen ska mäta både EtG och EtS.

Referensintervall

Negativt (< gränsvärde 0,5 mg/L) [2].

Analysprincip

ARK Etylglukuronid-metoden är en homogen enzymimmunanalysteknik som används för analys av etylglukuronid i humant urin [4].

Metoden är baserad på konkurrens mellan drog i provet och drog märkt med enzymet glukos-6-fosfat dehydrogenas (G6PDH) för antikroppsbindningsställen. Enzymaktiviteten minskar vid bindning till antikroppen, så att drogkoncentrationen i provet kan mätas med avseende på enzymaktivitet.

När det enzymmärkta etylglukuronid är bundet till antikroppen är enzymet (Glukos-6-fosfat dehydrogenas, G6PDH) blockerat och kan inte förbruka testets substrat. Omvänt när det enzymmärkta etylglukuronidet inte är bundet till antikroppen är substratet tillgängligt för enzymet och kan förbrukas. Förbrukningen av substrat mäts indirekt genom bildning av NADH från NAD (nikotinamidadenindinukleotid) i närvaro av glukos-6-fosfat (G6P). Aktivt enzym omvandlar (NAD) till NADH vilket resulterar i en absorptionsförändring som mäts spektrofotometriskt. NADH absorberar UV-ljus selektivt vid 340 nm. Detta innebär att vid hög koncentration etylglukuronid i provet får man en stor absorptionsförändring; omvänt vid låg etylglukuronidkoncentration får man en liten absorptionsförändring [4]. Absorptionsförändringen är direkt proportionell mot EtG-koncentrationen i provet. Instrumentet beräknar automatiskt etylglukuronid-koncentration ur absorptionsförändringen.

Metodbeskrivning

U-Etylglukuronid (EtG) (screen) på Atellica (NPU28003)Gäller för
Klinisk kemi

LU

Endogent G6PDH interfererar inte eftersom koenzymet NAD endast fungerar med det bakteriella enzymet som används i metoden [4].

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Inga kända interferenser [4].

Under lagring av prov kan EtG både syntetiseras och elimineras av samtidigt bakteriuri, sannolikt beroende av typ av bakteriförekomst [2]. EtG analyseras därför samtidigt eftersom EtS inte påverkas av denna felkälla. EtS bestäms endast vid verifiering av positivt EtG i screeningen.

Mätområde

Mätområde: 0,1-2,0 mg/L [4].

Kvantifieringsgräns

Kvantifieringsgräns (LOQ): 0,05 mg/L [4].

Mätosäkerhet

Utvärdering från inkörning av metoden på Atellica hösten 2020 [5].

| Nivå (µg/L) | Imprecision (CV%) | n |
|-------------|-------------------|----|
| 0.35 | 2.9 | 50 |
| 0.60 | 2.1 | 50 |

Spårbarhet

Metoden är spårbar till spårbarhetsintyg ” ARK Ethyl Glucuronide Calibrator – Traceability Statement”, ARK Diagnostics, Inc.

Det finns ingen internationellt erkänd standard för etylglukuronid. ARK etylglukuronid kalibratorer/kontroller bereds genom volumetrisk spädning av högren etylglukuronid (certifierad lösning) i icke-steril, behandlad humanurin fri från etylglukuronid. Den certifierade lösningen av etylglukuronid är verifierad med LC/MS [6].

Ackreditering

Metoden är ackrediterad.

Referenser

1. Dahl H, Stephanson N, Beck O. Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol and ethyl glucuronide. Journal of Analytical Toxicology , 26:201-204, 2002.
2. Nilsson-Ehle P, red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur 2012, 9:e upplagan sid 708.
3. Helander A. Böttcher M. Fehr C, Dahmen N, Beck O. Detection times for urinary ethylglucuronide and ethyl sulphate in heavy drinkers during alcohol detoxification. Alcohol & Alcoholism 44:55-61, 2009.
4. Produktblad ARK: ARK Ethyl Glucuronide Assay, ARK Diagnostics Inc., 1600-0609-00 Rev 03.

Metodbeskrivning

U-Etylglukuronid (EtG) (screen) på Atellica (NPU28003)

Gäller för
Klinisk kemi

LU

-
5. Verifieringsrapport: Verifiering av metoder på Atellicaplattformen – missbruk (dok ID 21-73), Laboratoriemedicin Bas, finns på arbetsplatsen.
 6. Produktblad ARK: ARK Ethyl Glucuronide Calibrator, ARK Diagnostics Inc., 1600-0613-00 Rev 01.
 7. ABC Analyshantering (Hantering reagens, kalibratorer och kontroller Atellica Cobas och BNII) (dok ID 20-65), Laboratoriemedicin Bas, finns på arbetsplatsen.
 8. Instrumenthandhavande Atellica (dok ID 20-79), Laboratoriemedicin Bas, finns på arbetsplatsen.
 9. Arbetsplatsbeskrivning Atellica Missbruk (dok ID 21-314 och 21-316), Laboratoriemedicin Bas, finns på arbetsplatsen.
 10. Atellica analysdata (dok ID 20-139), Laboratoriemedicin Bas, finns på arbetsplatsen.
 11. Instrumenthandhavande ADM (Atellica Data Manager) (dok ID 20-379), Laboratoriemedicin Bas, finns på arbetsplatsen.
 12. Equalis rekommendation S027 version 1.0, Rutiner vid beställning och svarsrapportering av narkotikaanalyser i urinprov, Expertgruppen för Läkemedel och toxikologi, 2019-02-28, https://www.equalis.se/media/bfpezhyg/s027_rutiner-vid-beställning-och-svarsrapportering-av-narkotikaanalyser-i-urinprov_1-0.pdf