

Syfte

Wako NEFA-HR(2) testet är ett enzymatiskt färgtest för kvantitativ in-vitro-bestämning av de fria fettsyrorerna (NEFA) i serum.

Sammanfattning och förklaring av testet

Albuminbundna fria fettsyror (NEFA) i serum är en viktig energileverantör i den perifera vävnaden. NEFA-koncentrationen i serum är avhängig av en balans i upptaget mellan lever och den perifera vävnaden, och en frisättning från fettvävnaden. Vid kroppsansträngning sjunker NEFA-halten, och den ökar vid fasta, nedkyllning, vid panikångest eller rökning. En ökning resp. minskning kan också observeras vid diabetes, lever- och endokrina sjukdomar.

NEFA har bestämts med extraktionsmetoden, vilken var svår att genomföra p.g.a. användningen av organiska lösningsmedel. Den enzymatiska metoden med acyl-CoA-oxidaser (ACOD) har fått stor spridning tack vare den utmärkta specificiteten och det exakta genomförandet. NEFA-HR(2) är ett reagens-kit för bestämning av de fria fettsyrorerna och bygger på en enzymatisk metod med 3-metyl-N-etyl-N-(β-hydroxietyl)-anilin (MEHA) som violett färgagens. Tillförlitliga resultat uppnås utan interferens från askorbinsyra och bilirubin.

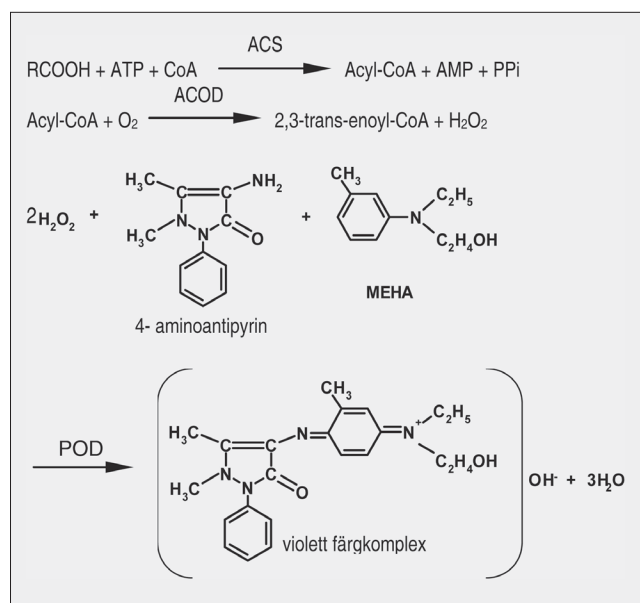
Testprincip

Oförestade fettsyror (NEFA) i provet omsätts genom acyl-CoA syntetaser (ACS) till acyl-CoA, AMP och fosforsyra (PPI) under inverkan av coenzym A (CoA) och adenosin-5-trifosfatdinatriumsalt (ATP).

Acyl-CoA uppstår, vilket omvandlas till 2,3-trans-enoyl-CoA och väteperoxid under inverkan av acyl-CoA-oxidaser (ACOD). I närvaro av peroxidaser (POD) bildas ett blåviolett färgkomplex under inverkan av 3-metyl-N-etyl-N-(β-hydroxietyl)-anilin (MEHA) och 4-aminoantipyrin (4-AA) p.g.a. oxidativ koppling.

Genom att mäta absorbtionen av den blåvioletta färgen kan man bestämma NEFA-koncentrationen.

Reaktion



Fysikaliska och kemiska tecken på instabilitet

Förekomsten av fällningar i reagensen eller kontrollvärden som ligger utanför det av tillverkaren angivna intervallet är ett tecken på instabilitet hos reagensen.

Utrustning

Reagensen är avsedd för användning i kommersiellt tillgängliga analysautomater. När det gäller beskrivningar av hur utrustningen hanteras och dess specifikationer hänvisar vi till tillverkarens manual. En praktisk validering av förfarandet genom användaren på plats genom bestämning av ett tillräckligt stort antal adekvata kontroll- och patientserum är ett oavsligt krav.

Reagenser

Innehåll och lagringsförhållanden

R1 Set:	R1a: Färgreagens A R1: Lösning A	Lagring vid 2–10 °C
R2 Set:	R2a: Färgreagens B R2: Lösning B	Lagring vid 2–10 °C

Beståndsdelar

R1 Set:

R1a: Färgreagens A	(<i>efter rekonstitution</i>)	
ACS		0,53 U/ml
CoA		0,31 mmol/l
ATP		4,3 mmol/l
4-AA		1,5 mmol/l
ADD		2,6 U/ml
Natriumacid		0,062 %
(lyofiliserad färgreagens)		(0,8 %)

R1: Lösning A	Fosfat-buffer, pH 7,0 Natriumacid	50 mmol/l 0,05 %
----------------------	--------------------------------------	---------------------

R2 Set:

R2a: Färgreagens B	(<i>efter rekonstitution</i>)	
ACOD		12 U/ml
POD		14 U/ml

R2: Lösning B	MEHA	2,4 mmol/l
----------------------	------	------------

Framtagning av reagenser

R1: Blanda ordentligt innehållet i en flaska färgreagens A (R1a) med lösningen A (R1). Förvara brukslösningen vid 2–10 °C och förbruka den inom 1 månad.

R2: Blanda ordentligt innehållet i en flaska färgreagens B (R2a) med lösningen B (R2). Förvara brukslösningen vid 2–10 °C och förbruka den inom 1 månad.

Provtagning och -förvaring

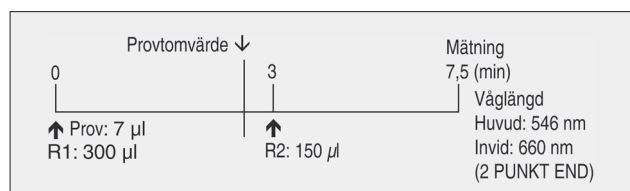
Serumprover skall användas för bestämningen.

Vi rekommenderar att värdena bestäms omedelbart efter blodtappningen, eftersom enzymer såsom lipoproteinlipaser och fosfolipaser hydrolyserar fetterna och det bildas fettsyror. Vid lagring skall serumproverna frysas. Stabilitet: 2 dagar vid 4 °C.

Heparin förorsakar en stimulering av lipoprotein lipas, något som leder till en ökning av de fria fettsyrorerna vid heparinbehandling. Blodet hos dessa patienter kan bestämmas endast genom en förbehandling.²

Standardförfarande

Temperatur: 37 °C (Hitachi® 737)



Kalibrerare: Wako NEFA Standard (kan levereras separat).

Beräkning av NEFA-koncentrationen

NEFA-koncentrationen bestäms med hjälp av en kalibreringskurva.

$$\text{Omvandlingsfaktorer: mg/dl} = \text{mmol/l} \times 28,2$$

$$(\text{beräknat för oljesyra, MW} = 282)$$

$$\text{mmol/l (mval/l} = \text{mEq/l)} = \text{mg/dl} \times 0,03$$

Användning i olika analysautomater

Ange parametrarna enligt apparattillverkarens bruksanvisning. På begäran skickar vi applikationer för analysautomater.

Resultat

Slutresultaten beräknas automatiskt och uttrycks i koncentrationenhet mEq/l. Använd också alltid samma måttenhet för kalibreraren.

Referensområden³

Män:	0,1–0,60 mmol/L (2,8–16,9 mg/dL)
Kvinnor:	0,1–0,45 mmol/L (2,8–12,7 mg/dL)

Eftersom värdena är avhängiga av ålder, kön, kostvanor, land och andra faktorer bör varje laboratorium bestämma sina egna värden för detta förfarande.

Effektdata för testet

- (1) **Korrekthet**
Hvis en kontrollserumpröve av kjent konsentrasjon brukes i testen, så ligger måleverdien i området fra $\pm 15\%$ til den kjente konsentrasjonen.
- (2) **Sensitivitet**
a) Om rent vann används som prov uppgår absorptionen inte till mer än 0,140.
b) Om en standard med känd koncentration (oljesyra 1 mEq/l) används, ligger absorptionen i intervallet 0,100–0,380.
- (3) **Precision**
Om ett prov testas 5 gånger eller oftare under en procedur, ligger VK inte högre än 1,5 %.
- (4) **Mätintervall**
0,01–4,00 mEq/l NEFA (vid tillämpning av standardförfarandet)

Korrelation

Provmaterial	Serum
Korrelationskoefficient	$r = 0,997$ (n = 50)
Regressionsutjämning	$y = 1,013x - 0,043$
y	Wako NEFA-HR(2) (ACS – ACOD-metod, mEq/l)
x	Wako NEFA C (ACS – ACOD-metod, mEq/l)

Interferenser

- a) Bilirubin kan förorsaka en svag sänkning av värdena.
b) Askorbinsyra och hemolys har inget avgörande inflytande på värdena.
c) Citrat, oxalat, EDTA och natriumfluorid i vanliga kvantiteter har inget väsentligt inflytande på mätresultatet.

Varningar och försiktighetsåtgärder

- Endast för *in-vitro*-tillämpningar.
- Detta test får användas endast av kvalificerad yrkespersonal. Tillämpliga nationella och regionala föreskrifter och lagar gäller.
- Får ej användas på människa eller djur *in-vivo*.
- Reagenserna får användas uteslutande för det förfarande som beskrivs här. En effekt kan inte garanteras om reagenserna används i andra förfaranden eller för andra ändamål.
- Beakta manualen från tillverkaren vid handhavandet av apparaterna!
- Lagring av reagenserna skall ske under de förhållanden som anges. Använd inte reagenser med ett utgångsdatum på förpackningen.
- Använd inte reagenser som har frysts in av misstag! Sådana reagenser kan leda till felaktiga resultat.
- Öppnade reagenser skall inte förvaras någon längre tid. Tillslut väl efter öppnandet och förvara i angiven temperatur.
- Använd behållarna och annat material endast för det beskrivna teständamålet.
- Flaskorna är förslutna under vakuum. Avlägsna proppen sakta så att inget material går till spillo.
- Om NEFA-reagensen används tillsammans med en kolesterol eller triglyceridbestämning, kan det inträffa att enzymerna kolesterolesteras och lipoproteinlipas fäster i de andra reagenserna i kuvetten och påverkar värdena i NEFA-bestämningen.
- Använd NEFA Standard för kalibreringen.
- Detta prov skall inte utgöra det enda underlaget för framtagningen av en klinisk diagnos.
- Applicera inte reagenserna på mun, ögon eller hud! Skölj omedelbart med mycket vatten vid kontakt med hud eller ögon.
- Var försiktig! Skär inte i aluminiumförsiglingen när denna avlägsnas.
- Vid kasseringen av reagenserna skall regionala och nationella föreskrifter beaktas. Lösning A innehåller 3 mg/l kaliumjärncyanid (1 mg/l som cyan).
- Allt material som kommer i beröring med provet skall betraktas som potentiellt infektiöst. Hanteringen av dessa material skall utföras i överensstämmelse med riktlinjerna för god laboratoriepraxis och på ett sätt som uppfyller gällande nationella och internationella bestämmelser.
- Natriumacid kan bilda explosiva blandningar med koppar eller bly. Även om reagenserna innehåller endast minimala mängder natriumacid, måste avloppen spolas med rikligt med vatten efter det att reagenserna har kasserats.

Kvalitetskontroll

Ett kvalitetskontrollprogram rekommenderas för alla kliniska laboratorier.

Litteratur

1. Rogiers V, Stability of the long chain non-esterified fatty acid pattern in plasma and blood during different storage conditions. Clin Chim Acta. 84, 49–54 (1978).
2. Krebs, M. et al., Prevention of *in Vitro* Lipolysis by Tetrahydrolipstatin. Clin. Chem. 46 (7), 950–954 (2000).
3. Aufenanger, J. and Kattermann, R. Klinisch-chemische Meßgröße: Freie Fettsäuren (FFS), S. 319–320 in Greiling / Greßner: Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. edition, Schattauer (1995).

Beställningsinformation

Best. nr.	Produkt	Förpackning
434-91795	NEFA-HR(2) R1 Set	R1a: 4 x för 50 ml R1: 4 x 50 ml
436-91995	NEFA-HR(2) R2 Set	R2a: 4 x för 25 ml R2: 4 x 25 ml
270-77000	NEFA Standard	CAL: 2 x 10 ml