

#### Utilisation

Le coffret Wako NEFA-HR(2) utilise une méthode enzymatique en colorimétrie pour le dosage quantitatif in vitro des acides gras non estérifiés (NEFA) dans le sérum.

#### Résumé du test

Les acides gras non estérifiés (NEFA), en se combinant à l'albumine du sérum, constituent une importante source d'énergie pour les tissus périphériques. La quantité de NEFA dans le sérum dépend de l'équilibre entre les apports venant du foie et des tissus périphériques, et la restitution à partir des tissus adipeux. La quantité de NEFA diminue sous l'effet de l'exercice physique, augmente en cas de sous-alimentation, de rhume, de peur ou de tabagisme. C'est ainsi qu'on observe des élévations et des diminutions des NEFA dans le diabète, les affections hépatiques et les maladies endocriniennes.

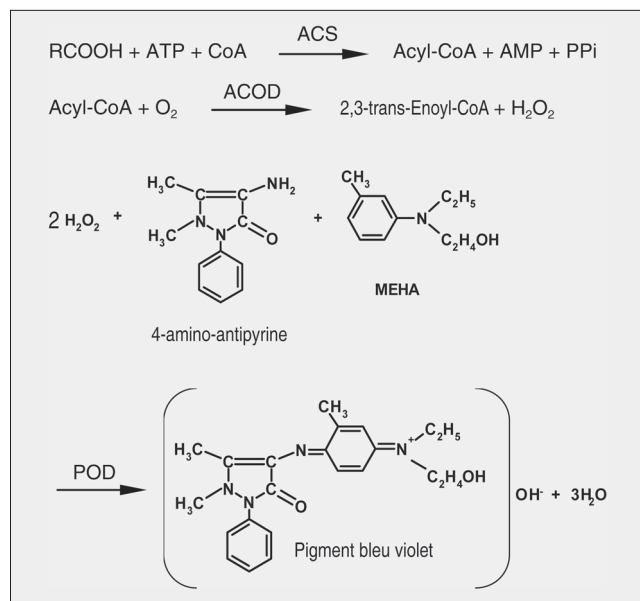
Les techniques de dosage des NEFA utilisaient une méthode d'extraction par solvant organique, difficile à mettre en oeuvre. La méthode enzymatique utilisant l'Acyl-CoA oxydase (ACOD), l'Acyl-CoA obtenu est oxydé et libère du 2,3-trans-Enoyl-CoA et du peroxyde d'hydrogène. En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène libéré conduit à la formation d'un pigment bleu violet par condensation oxydative avec la 3-Méthyl-N-Ethyl-N-(β-Hydroxyéthyl)-Aniline (MEHA) comme agent coloré en violet. Ce dosage donne des résultats fiables, sans interférences de la bilirubine ou de l'acide ascorbique.

#### Principe de la méthode

Sous l'action de l'Acyl-CoA synthétase, et en présence de coenzyme A et de sel trisodique d'adénosine 5-triphosphate (ATP), les acides gras non estérifiés de l'échantillon sont transformés en Acyl-CoA, AMP et acide pyrophosphorique (PPi). Grâce à l'Acyl-CoA oxydase (ACOD), l'Acyl-CoA obtenu est oxydé et libère du 2,3-trans-Enoyl-CoA et du peroxyde d'hydrogène. En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène libéré conduit à la formation d'un pigment bleu violet par condensation oxydative avec la 3-Méthyl-N-Ethyl-N-(β-Hydroxyéthyl)-Aniline (MEHA) et la 4-amino-antipyrine (4-AA).

La concentration en acides gras non estérifiés (NEFA) s'obtient par la mesure de l'absorbance du composé coloré en bleu violet.

#### Réactions



#### Signes physiques ou chimiques d'instabilité

La présence de précipités dans les réactifs ou des valeurs de sérums de contrôle en dehors des limites de confiance peuvent être le signe d'une instabilité du réactif.

#### Instruments

Le réactif doit être utilisé sur les analyseurs automatiques présents sur le marché. Consulter le manuel d'instruction pour la description du mode opératoire et les spécifications de l'appareil. Il est indispensable que l'utilisateur procède à une validation dans son laboratoire en pratiquant un nombre suffisant de mesures sur des échantillons appropriés de sérums de contrôle ou de patients.

#### Adaptation aux analyseurs automatiques

Entrer les paramètres de mesure conformément au manuel de l'appareil. Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

#### Réactifs

##### Composition et conditions de conservation

<b>R1 Set :</b>	R1a :	Colorant A	Conservé entre 2–10 °C
	R1 :	Solvant A	
<b>R2 Set :</b>	R2a :	Colorant B	Conservé entre 2–10 °C
	R2 :	Solvant B	

##### Ingrédients

###### R1 Set :

<b>R1a : Colorant A</b>	(après reconstitution)	
ACS		0,53 U/ml
CoA		0,31 mmol/l
ATP		4,3 mmol/l
4-AA		1,5 mmol/l
AOD		2,6 U/ml
Azide de sodium (Colorant A lyophilisé)		0,062 % (0,8 %)
<b>R1 : Solvant A</b>	Tampon Phosphate, pH 7,0	50 mmol/l
	Azide de sodium	0,05 %

###### R2 Set :

<b>R2a : Colorant B</b>	(après reconstitution)	
ACOD		12 U/ml
POD		14 U/ml
<b>R2 : Solvant B</b>	MEHA	2,4 mmol/l

#### Préparation du réactif

R1 : Préparer le réactif R1 en mélangeant un flacon de Colorant A et un flacon de solvant A. Après préparation, conserver le réactif R1 entre 2–10 °C et l'utiliser dans 1 mois.

R2 : Préparer le réactif R2 en mélangeant un flacon de Colorant B et un flacon de solvant B. Après préparation, conserver le réactif R2 entre 2–10 °C et l'utiliser dans 1 mois.

#### Recueil et préparation des échantillons

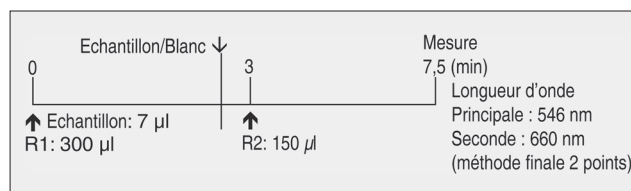
Le sérum peut être utilisé comme échantillon.

Effectuer le dosage sur les échantillons immédiatement après le prélèvement, car les enzymes comme la lipoprotéine lipase, la phospholipase etc. hydrolysent les lipides et forment des acides gras. Pour conserver le sérum, congeler l'échantillon. Conservation : 2 jours à 4 °C.<sup>1</sup>

La prise d'héparine in vivo donne des valeurs faussement augmentées. Du fait de la stimulation de la lipoprotéine lipase dans les échantillons de patients sous traitement hépariné, il est possible d'utiliser le sang total pour ce dosage, mais uniquement après un traitement préalable approprié.<sup>2</sup>

#### Mode opératoire standard

Température : 37 °C (Hitachi® 737)



Calibrateur : Wako NEFA Standard (disponible séparément.)

#### Calcul de la concentration en acides gras non estérifiés

Calculer la concentration en acides gras non estérifiés à partir de la courbe de calibration établie en fonction de l'absorbance du calibrateur.

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

$$(\text{calculé pour l'acideoléique, MW} = 282)$$

$$\text{mmol/l (mval/l} = \text{mEq/l)} = \text{mg/dl} \times 0,035$$

#### Résultats

Les résultats finals sont calculés de façon automatique et imprimés. Les résultats donnent la concentration en Eq/l. Utiliser toujours la même unité pour le calibrateur.

#### Valeurs usuelles<sup>3</sup>

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

Plusieurs facteurs comme l'âge, le sexe, l'alimentation, la situation géographique ou d'autres ayant une incidence sur les valeurs usuelles, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs pour ce dosage.

#### Performances

- (1) **Exactitude**  
Lors de la mesure d'un sérum de contrôle de concentration connue, la valeur obtenue se situe dans l'intervalle de  $\pm 15\%$  de la concentration connue.
- (2) **Sensibilité**
  - a) Le dosage d'eau purifiée donne une absorbance d'au maximum 0,140.
  - b) Le dosage d'un standard de concentration donnée (acide oléique 1 mEq/l) donne une absorbance de 0,100–0,380.
- (3) **Précision**  
Lors d'un dosage répété au moins 5 fois dans une série, le CV de l'absorbance reste inférieur à 1,5 %.
- (4) **Domaine de mesure**  
La concentration en acides gras non estérifiés est de 0,01–4,00 mEq/l. (En mode opératoire standard)

#### Corrélation

Spécimen	Sérum
Coefficient de corrélation	$r = 0,997$ (n = 50)
Droite de régression	$y = 1,013x - 0,043$
y	Wako NEFA-HR(2) (méthode ACS - ACOD, mEq/l)
x	Wako NEFA C (méthode ACS - ACOD, mEq/l)

#### Interférences

- a) La bilirubine présente une légère influence négative sur le dosage.
- b) L'acide ascorbique et l'hémolyse n'ont pas d'influence significative sur le dosage.
- c) Le citrate, l'oxalate, l'EDTA et le fluorure de sodium, utilisés aux concentrations habituelles, n'ont pas d'influence significative sur le dosage.

#### Avertissements et précautions d'emploi

- Utilisation exclusive pour diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation et l'adaptation de ce dosage sont réservées aux professionnels. Se référer à la législation en vigueur et aux réglementations locales ou nationales.
- Ne doit pas être utilisé *in vivo* chez l'homme ou l'animal.
- Ne pas utiliser les réactifs pour d'autres applications que celles décrites dans la notice. La performance ne peut être assurée si les réactifs sont utilisés selon d'autres procédés.
- Le fonctionnement des analyseurs doit se faire dans les conditions appropriées et selon les instructions du manuel de l'appareil.
- Conserver les réactifs selon les conditions indiquées. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption mentionnée sur l'étiquette de chaque emballage.
- Ne pas utiliser de réactifs congelés par inadvertance. De tels réactifs peuvent donner des résultats erronés.
- Après ouverture, il est recommandé d'utiliser les réactifs immédiatement. Pour conserver les réactifs après ouverture, boucher les flacons et garder les selon les conditions indiquées.
- Ne pas utiliser les emballages et les autres matériels du coffret pour un quelconque usage autre que celui ici décrit.
- Le flacon est bouché sous pression réduite. Enlever le bouchon délicatement afin de ne pas perdre de poudre.
- Lorsque le réactif pour les acides gras non estérifiés est utilisé en même temps que le réactif pour le cholestérol et les triglycérides, la cholestérol estérase et la lipoprotéine lipase du réactif sont adsorbées sur les parois des cuvettes et peuvent interférer sur la mesure des NEFA.
- Utiliser le standard NEFA pour la calibration.
- Ce dosage ne doit pas être utilisé comme facteur déterminant unique d'un diagnostic clinique.
- En cas de contact avec la bouche, les yeux ou la peau, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau.
- Veiller à ne pas vous couper avec l'opercule en aluminium lors de l'ouverture du flacon.
- L'élimination des réactifs doit se faire selon les exigences réglementaires nationales ou régionales en vigueur. Le solvant A contient 3 mg/l de ferrocyanure de potassium (1 mg/l de cyanure).
- Tous les dispositifs, y compris les réactifs et les flacons de réactifs en contact avec les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux.
- L'azide de sodium peut réagir avec les conduites en plomb ou en cuivre et former des composés explosifs. Bien que le réactif contienne d'infimes quantités d'azide de sodium, les canalisations doivent être nettoyées à grande eau, lors de l'élimination des réactifs.

#### Contrôle de qualité

Un programme de contrôle de qualité est recommandé pour tout laboratoire de biologie clinique.

#### Références

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).

#### Présentation

Référence	Produit	Conditionnement
434-91795	NEFA-HR(2) R1 Set	R1a: 4 x pour 50 ml R1: 4 x 50 ml
436-91995	NEFA-HR(2) R2 Set	R2a: 4 x pour 25 ml R2: 4 x 25 ml
270-77000	NEFA Standard	CAL: 2 x 10 ml