

#### Formålbestemmelse

Wako NEFA-HR(2) test er en enzymatisk fargetest for kvantitativ *in vitro* bestemmelse av frie fettsyrer (NEFA) i serum.

#### Sammenfatning og forklaring av testen

Albuminbindende frie fettsyrer (NEFA) i serum er en viktig energileverandør i perifert stoff. NEFA-konsentrasjonen i serumet er avhengig av en opptaklikevekt mellom lever og perifert stoff og en frisetting fra fettstoffet. Ved kroppslig anstrengelse faller NEFA innholdet, og det øker ved næringskarens, underkjøling, ved stresspanikk eller ved røyking. Økning og reduksjon observeres også ved diabetes, lever- og endokrine sykdommer.

NEFA ble bestemt med ekstraksjonsmetoden, som var vanskelig å gjennomføre ved bruk av organiske løsningsmidler. Den enzymatiske metoden med acyl-CoA-oksidasen (ACOD) er utbredt pga. den utmerkede spesifisiteten og den presise gjennomføringen. NEFA-HR(2) er et reagenssett for bestemmelse av frie fettsyrer og baserer på en enzymatisk metode med 3-metyl-N-etyl-*N*-(β-hydroksyetyl)-anilin (MEHA) som fiolett fargeagens.

Det oppnås pålitelige resultater uten innblandinger av askorbinsyre og bilirubin.

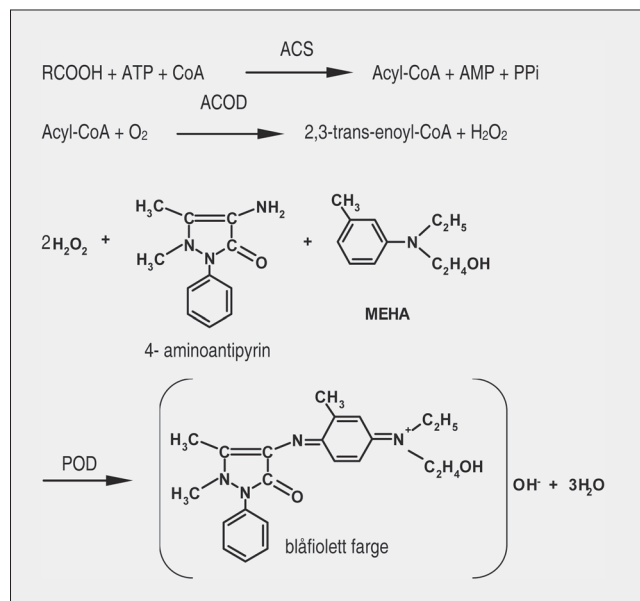
#### Testprinsipp

U-estererte fettsyrer (NEFA) omsettes under prøven gjennom acyl-CoA syntetase (ACS) til acyl-CoA, AMP og fosforsyre (PPI) under medvirkning av koenzym A (CoA) og adenosin-5-trifosfat-dinatriumsalt (ATP).

Det oppstår acyl-CoA noe som omvandles til 2,3-trans-enoyl-CoA og vannstoffperoksid under innvirkning av acyl-CoA-oksidasen (ACOD). Med peroksidase (POD), blir det dannet et blåfiolett fargekompleks under innvirkning av 3-metyl-N-etyl-*N*-(β-hydroksyetyl)-anilin (MEHA) og 4-aminoantipyrin (4-AA) gjennom oksidativ kopling.

Ved å måle absorpsjonen av den blåfiolette fargen kan NEFA-konsentrasjonen bestemmes.

#### Reaksjon



#### Fysikalske og kjemiske tegn på instabilitet

Hvis det finnes utfelling i reagensene eller kontrollverdier er utenfor området som produsenten anbefaler, så er dette et tegn på at reagensene er ustabile.

#### Apparater

Reagensene skal brukes på kommersielle analyseautomater. Når det gjelder beskrivelsen av apparatbetjeningen og spesifikasjonene henviser vi til apparatproduktens håndbok. En praktisk validering av forløpet på bruksstedet av brukeren, ved å bestemme et tilstrekkelig antall adekvate kontroll- og pasientserum er absolutt nødvendig.

#### Reagenser

##### Innhold og lagringsbetingelser

<b>R1 Set:</b>	R1a: Fargereagens A	Lagring ved 2–10 °C
	R1: Løsning A	
<b>R2 Set:</b>	R2a: Fargereagens B	Lagring ved 2–10 °C
	R2: Løsning B	

##### Komponenter

###### R1 Set:

<b>R1a: Fargereagens A</b> (etter rekonstitusjon)	
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
Natriumazid (Fargereagens lyofilisert)	0,062 % (0,8 %)

<b>R1: Løsning A</b>	Fosfat-buffert, pH 7,0	50 mmol/l
	Natriumazid	0,05 %

###### R2 Set:

<b>R2a: Fargereagens B</b> (etter rekonstitusjon)	
ACOD	12 U/ml
POD	14 U/ml

<b>R2: Løsning B</b>	MEHA	2,4 mmol/l
----------------------	------	------------

#### Produksjon av reagensene

R1: Innholdet i en flaske fargereagens A (R1a) blandes godt med løsning A (R1).

Løsningen lagres ved 2–10 °C og må brukes innen 1 måned.

R2: Innholdet i en flaske fargereagens B (R2a) blandes godt med løsning B (R2).

Løsningen lagres ved 2–10 °C og må brukes innen 1 måned.

#### Ta prøver og oppbevaring av disse

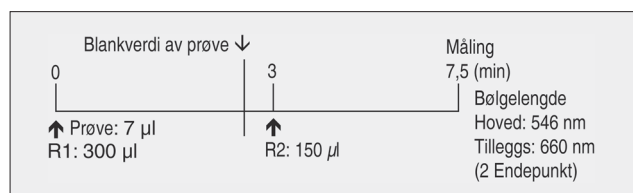
En bør ta serumprøver for bestemmelse.

Det anbefales å bestemme verdiene umiddelbart etter blodprøvene blir tatt, for enzymer som lipoproteinlipase, fosfolipase hydrolyserer fett, og fettsyrer dannes. Serumprøvene må fryses ved lagring. Stabilitet: 2 dager ved 4 °C.<sup>1</sup>

Heparin utgjør en stimulering av lipoprotein lipase, noe som fører til en økning av de frie fettsyrene under heparinterapi. Blodet til disse pasientene kan kun bestemmes med en forbehandling.<sup>2</sup>

#### Standardforløp

Temperatur: 37 °C (Hitachi® 737)



Kalibrator: Wako NEFA standard (leveres separat.)

#### Beregning av NEFA-konsentrasjonen

NEFA-konsentrasjonen bestemmes med hjelp av en kalibreringskurve.

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

$$(\text{beregnet for oleinsyre, MW(mol. vekt.)} = 282)$$

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

#### Bruk av forskjellige analyseautomater

Tast inn parameterne tilsvarende bruksanvisningen til apparatproduktet. Vi sender applikasjoner for analyseautomater ved etterspørsel.

#### Resultater

Slutresultatene beregnes automatisk og skrives ut i konsentrasjonsheter mEq/l. Bruk alltid samme måleenhet for kalibratoren.

#### Referanseområder<sup>3</sup>

Menn: 0,1–0,60 mmol/L (2,8–16,9 mg/dL)

Kvinner: 0,1–0,45 mmol/L (2,8–12,7 mg/dL)

Siden verdiene er avhengig av alder, kjønn, ernæring, land og andre faktorer, bør hvert laboratorium bestemme sine egne verdier for dette forløpet.

**Testens ytelsesdata**

- (1) **Riktighet**  
Hvis en kontrollserumprøve av kjent konsentrasjon brukes i testen, så ligger måleverdien i området fra  $\pm 15\%$  til den kjente konsentrasjonen.
- (2) **Sensitivitet**  
a) Hvis det brukes rent vann til prøven, så er absorpsjonen ikke mer enn 0,140.  
b) Hvis det brukes en standard med kjent konsentrasjon (oljesyre 1 mEq/l), så ligger absorpsjonen i området fra 0,100–0,380.
- (3) **Presisjon**  
Hvis en prøve testet 5 ganger eller oftere på en gang, så ligger ikke VK høyere enn 1,5 %.
- (4) **Måleområde**  
0,01–4,00 mEq/l NEFA (ved bruk av standard forløp)

**Korrelasjon**

Prøvematerial	Serum
Korrelasjonskoeffisient	$r = 0,997$ (n = 50)
Regresjonsligning	$y = 1,013x - 0,043$
y	Wako NEFA-HR(2) (ACS - ACOD-metode, mEq/l)
x	Wako NEFA C (ACS - ACOD-metode, mEq/l)

**Interferenser**

- a) Bilirubin kan føre til en lett reduksjon av verdien.  
b) Askorbinsyre og hemolyse påvirker ikke verdiene vesentlig.  
c) Sitrat, oksalat, EDTA og natriumfluorid i vanlige mengder har ingen vesentlig påvirkning på måleresultatet.

**Advarsler og forholdsregler**

- Kun for *in vitro* bestemmelser.
- Å bruke denne testen er kun tillatt for utdannede fagpersoner. De gyldige nasjonale og regionale forskriftene/lovene gjelder.
- Må ikke brukes *in vivo* på mennesker eller dyr.
- Reagensene må kun brukes til forløpet som beskrives her. Det kan ikke garanteres noe resultat hvis reagensene brukes til andre forløp eller til andre formål.
- Vær obs på produsentens håndbok ved betjening av apparatet.
- Reagensene må lagres under de angitte betingelsene. Reagenser må ikke brukes etter forfallsdatoen som er angitt på pakningen.
- Reagenser som ble fryst ned ved feil må ikke brukes! Slike reagenser kan føre til feile resultater.
- Lengre oppbevaring av de åpne reagensene anbefales ikke. Lukkes godt igjen etter åpning, og lagres ved angitt temperatur.
- Beholderne og andre materialer må kun brukes for det beskrevne testformålet.
- Flaskene er lukket under vakuum. Proppen må fjernes langsomt, slik at det ikke slippes ut noe materiale.
- Hvis NEFA reagens brukes sammen med en kolesterol eller triglyseridbestemmelse, så kan det hende at enzymene kolesterol esterase og lipoprotein lipase i de andre reagensene kleber på kyvetten og påvirker verdiene til NEFA bestemmelsen.
- Bruk NEFA standard for kalibreringen.
- Dette assayet skal ikke bare være grunnlaget for opprettelsen av en klinisk diagnose.
- Reagensene må ikke komme i kontakt med munn, øyner eller huden! Skyll øyeblikkelig med mye vann ved kontakt med huden eller øynene.
- Forsiktig! Ikke skjær deg på aluminiumslukkingen når denne fjernes.
- Vær oppmerksom på regionale og nasjonale forskrifter ved deponering av reagensene. Løsning A inneholder 3 mg/l kaliumjernzyanid. (1 mg/l som zyan).
- Alle materialer som kommer i kontakt med prøven bør betraktes som potensielt infeksjøs. Omgangen med disse materialene bør gjøres i overensstemmelse med retningslinjene til god laboratoriepraksis, som tilsvarer gyldige nasjonale og internasjonale bestemmelser.
- Natriumazid kan danne eksplosive blandinger med kobber eller bly. Selv når reagensene kun inneholder minimale mengder med natriumazid bør avløpene skylles grundig med vann når reagensmidlene deponeres.

**Kvalitetskontroll**

Det anbefales et kvalitetskontrollprogram for alle kliniske 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).

**Bestillingsinformasjon**

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