

Formål

NEFA-HR(2) reagens fra Wako er en *in vitro* enzymatisk kolorimetrisk metodeanalyse til kvantitativ bestemmelse af ikke-esterificerede fedtsyrer (NEFA) i serum.

Sammenfatning og forklaring af testen

Ikke-esterificeret fedtsyre (NEFA) i serum bindes til albumin og anvendes som en vigtig energikilde til perifert væv. Mængden af NEFA i serum afhænger af en balance mellem indtagelse i lever og perifert væv og frigivelsen fra fedtvæv. Mængden af NEFA falder ved fysisk træning, øges ved sult, kulde, frygt eller rygning. Og derefter observeres stigning af eller fald i NEFA i diabetes, leversygdomme eller endokrine sygdomme.

NEFA var blevet analyseret ved organisk opløsningsmiddelestraktion, som var en kompliceret proces. Enzymatisk metode ved hjælp af Acyl-CoA-oxidase (ACOD) er blevet udbredt på grund af fremragende specificitet og koncis procedure. NEFA-HR(2) er reagenssættet til NEFA-analyse baseret på enzymatisk metode ved anvendelse af 3-methyl-N-ethyl-N-(β-hydroxyethyl)-anilin (MEHA) som et violet farvestof.

Det giver pålidelige resultater uden interferens fra ascorbinsyre og bilirubin.

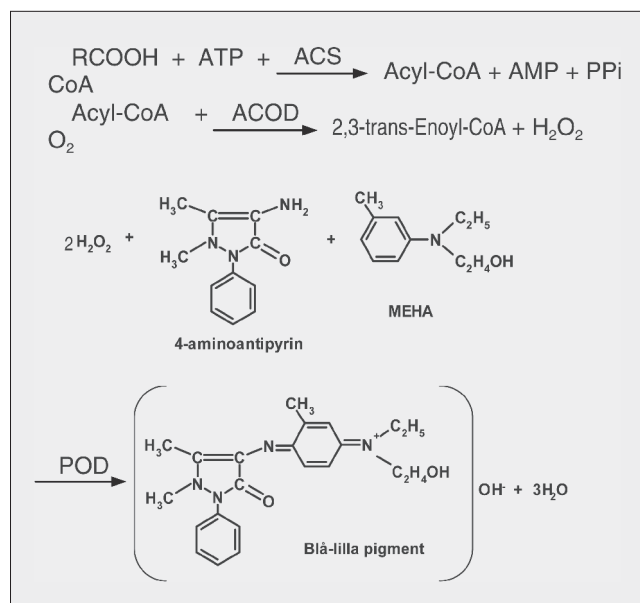
Metodens princip

Ikke-esterificeret fedtsyre (NEFA) i prøven omdannes til Acyl-CoA, amp og pyrofosforsyre (PPi) ved hjælp af Acyl-CoA-syntetase (ACS) under sameksistens med coenzym A (CoA) og adenosin 5-trifosfat dinatriumsalt (ATP).

Opnået Acyl-CoA oxideres og giver 2,3-trans-Enoyl-CoA og hydrogenperoxid ved virkningen af Acyl-CoA-oxidase (ACOD). I nærværelse af peroxidase (Pod) giver den dannede hydrogenperoxid et blå lilla pigment ved kvantitativ oxidationskondensation med 3-methyl-n-ethyl-n-(β-Hydroxyethyl)-anilin (MEHA) og 4-aminoantipyrin (4-AA).

Koncentrationen af ikke-esterificerede fedtsyrer (NEFA) opnås ved at måle absorbansen af den blå-lilla farve.

Reaktioner



Fysiske eller kemiske indikationer på ustabilitet

Tilstedeværelsen af udfældninger i reagenserne eller værdier af kontrolsera uden for producentens acceptable område kan være en indikation af reagensstabilitet.

Instrumenter

Reagenset er beregnet til brug på kommercielt tilgængelige automatiserede analysatorer. Se beskrivelsen af instrumentets drift og specifikationer i betjeningsvejledningen. Validering af brugeren i praksis hos kunden i form af målinger af tilstrækkelig kontrol eller patientsera i tilstrækkeligt antal er uundværlig.

Reagenser

Indhold og opbevaringsbetingelser

R1 sæt:	R1a: Farve A R1: Opløsningsmiddel A	Opbevares ved 2-10 °C
R2 sæt:	R2a: Farve B R2: Opløsningsmiddel B	Opbevares ved 2-10 °C

Ingredienser

R1 sæt:		
R1a: Farve A	(ved rekonstituering)	
ACS		0,53 E/mL
CoA		0,31 mmol/L
ATP		4,3 mmol/L
4-AA		1,5 mmol/L
AOD		2,6 E/mL
Natriumazid (Farve A frysetørret)		0,062 % (0,8 %)
R1: Opløsningsmiddel A	fosfatbuffer, pH 7,0 Natriumazid	50 mmol/L 0,05 %
R2 sæt:		
R2a: Farve B	(ved rekonstituering)	
ACOD		12 E/mL
POD		14 E/mL
R2: Opløsningsmiddel B	MEHA	2,4 mmol/L

Reagensforberedelse

R1: Forbered R1 ved at blande en flaske med farve A og opløsningsmiddel A. Efter klargøring af R1 skal den opbevares ved 2-10 °C og anvendes inden for 1 måned.

R2: Forbered R2 ved at blande en flaske med farve B og opløsningsmiddel B. Efter klargøring af R2 skal den opbevares ved 2-10 °C og anvendes inden for 1 måned.

Prøvetagning og forberedelse

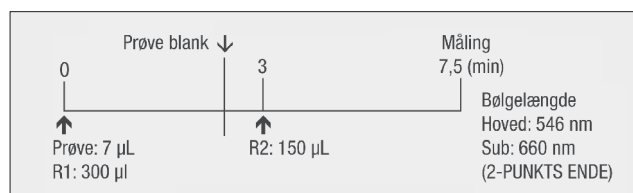
Serum kan anvendes som prøve.

Analysér prøver umiddelbart efter indsamling, fordi enzymer som lipoproteinlipase, fosfolipase osv. hydrolyserer lipider og danner fedtsyrer. Frys prøve ned, når et serum opbevares. Stabilitet: 2 dage ved 4 °C.¹

In vivo heparintilsætning forårsager fejlagtigt forhøjede værdier. På grund af stimulering af lipoproteinlipase af heparinprøver fra patienter under heparinbehandling kan blod kun bruges til denne bestemmelse efter passende forbehandling.²

Standardprocedure

Temperatur: 37 °C (Hitachi® 737)



Kalibrator: Wako NEFA Standard (sælges separat)

Beregning af NEFA-koncentration

Beregn NEFA-koncentrationen ud fra kalibreringskurven, der blev oprettet ud fra kalibratorens absorbans.

$$\text{Omregningsfaktorer: } \text{mg/dL} = \text{mmol/L} \times 28,2$$

$$\text{(beregnet for oliesyre, MW = 282)}$$

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

Anvendelse på de forskellige automatiske analysatorer

Indtast parametrene i henhold til instrumentinstruktionerne, for at udføre målingen. Instrumentapplikationer er tilgængelige efter anmodning.

Resultat

De endelige resultater beregnes automatisk og udskrives i koncentration. Resultaterne er angivet i mEq/L. Brug altid den samme enhed for kalibratoren.

Forventede værdier³

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

Da forventede værdier påvirkes af alder, køn, kost, geografisk placering og andre faktorer, bør hvert laboratorium fastsætte sine egne forventede værdier for denne procedure.

Ydeevnekarakteristika

- (1) **Nøjagtighed**
Når et kontrolserum med kendt koncentration analyseres, falder analyseværdien inden for området $\pm 15\%$ af den kendte koncentration.
- (2) **Følsomhed**
a) Når demineraliseret vand analyseres, er absorptionsen ikke mere end 0,140.
b) Når en standard for en given koncentration (oliesyre 1 mEq/L) analyseres, er absorptionsen 0,100-0,380.
- (3) **Præcision**
Når en prøve analyseres mindst 5 gange i et forsøg, er CV for absorptionsen ikke mere end 1,5 %.
- (4) **Måleområde**
0,01-4,00 mEq/L NEFA (ved brug af standardproceduren)

Korrelation

Prøve	serum
Korrelationskoefficient	$r = 0,997$ (n = 50)
Regressionsligning	$y = 1,013x - 0,043$
y	Wako NEFA-HR(2) (ACS – ACOD metode, mEq/L)
x	Wako NEFA C (ACS – ACOD metode, mEq/L)

Interfererende stoffer

- a) Bilirubin trækker analysen lidt i negativ retning.
b) Askorbinsyre og hæmolyse har ingen signifikant effekt på analysen.
c) Citrat, oxalat, EDTA og natriumfluorid har ikke signifikant indflydelse på analysen, når de anvendes i deres sædvanlige mængder.

Advarsler og forholdsregler

- Kun til in vitro-diagnostisk brug.
- Brug og anvendelse af denne test er kun forbeholdt professionel brug. Der henvises til de respektive nationale og lokale bestemmelser og lovgivning.
- Ikke til indvortes brug i mennesker eller dyr.
- Brug ikke reagenserne beskrevet ovenfor til andre formål end dem, der her er beskrevet. Ydeevne kan ikke garanteres, hvis reagenserne anvendes i andre procedurer eller til andre formål.
- Betjen instrumenterne i henhold til brugervejledninger under passende forhold.
- Opbevar reagenserne under de specificerede betingelser.
- Reagenser må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på flaskens etiket.
- Brug ikke reagenser, der ved en fejl har været frosset. Sådanne reagenser kan give falske resultater.
- Efter åbning af reagenserne anbefales det at bruge dem straks. Når de åbnede reagenser opbevares, skal du sætte låg på flaskerne og opbevare dem under de angivne forhold.
- Brug ikke beholdere eller andre materialer i pakken til andre formål end de her beskrevne.
- Hætteglasset er proppet ved undertryk. Fjern langsomt proppen for ikke at frigive pulveret i hætteglasset.
- Når reagenset til NEFA anvendes samtidig med reagenset til kolesterol og triglycerid, adsorberes kolesterolsterasen og lipoproteinlipasen i reagenset til kuvetter og kan interferere med den målte værdi af NEFA.
- Brug NEFA standard til kalibrering.
- Denne analyse bør ikke bruges som den eneste determinant for klinisk diagnose.
- Hvis reagenserne kommer i kontakt med mund, øje eller hud, skal de straks vaskes af med masser af vand.
- Pas på, at du ikke skærer dig selv aluminiumshætten, når du fjerner denne fra hætteglasset.
- Reagenserne skal bortskaffes i henhold til lokale eller nationale bestemmelser. Solvens A indeholder 3 mg/L kaliumferrocyanid (1 mg/L som cyan).
- Alle enheder, herunder reagenser og reagensflasker, der er i kontakt med prøven, bør betragtes som potentielt smitsomme.
- Natriumazid kan reagere med både bly- og kobber og således danne eksplosive forbindelser. Selvom reagenset indeholder små mængder natriumazid, skal afløb skylles godt med rigelige mængder vand, når reagenserne bortskaffes.

Mærkning i henhold til forordning (EF) nr. 1272/2008

- Produktet er klassificeret og mærket i henhold til CLP-forordningen.
- Produktet indeholder ingen SVHC i henhold til REACH, artikel 57 >0,1%.

Farebestemmende komponenter på mærkningen

- Acylcoenzym A oxidase
- Peroxidase

Farepiktogrammer

Fare

Faresætninger

- Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.
- Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger.

Sikkerhedssætninger

- Undgå at indånde støv/røg/gas/tåge/dampe/spray.
- Brug åndedrætsværn (i tilfælde af utilstrækkelig ventilation).
- VED INDÅNDING: Flyt personen til frisk luft, og sørg for, at vejtrækningen lettes.
- Ved symptomer i luftvejene: Ring til GIFTLINJEN/læge.
- Undgå udslip til miljøet.
- Indeholder ascorbatoxidase. Kan fremkalde en allergisk reaktion.
- Indeholder en blanding af 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-one og 2-methyl-2H-isothiazol-3-one, maleimid. Kan fremkalde en allergisk reaktion.

Kvalitetskontrol

Der anbefales et kvalitetskontrolprogram til alle kliniske laboratorier.

Referencer

- 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).
- Krebs, M. et al., Prevention of in Vitro Lipolysis by Tetrahydrolipstatin. Clin. Chem. 46 (7), 950–954 (2000).
- 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).

Bestillingsoplysninger

Kodenr.	produkt	pakke
434-91795	NEFA-HR(2) R1 sæt	R1a: 4 x ved 50 mL R1: 4 x 50 mL
436-91995	NEFA-HR(2) R2 sæt	R2a: 4 x ved 25 mL R2: 4 x 25 mL
270-77000	NEFA Standard	CAL: 2 x 10 mL