

Bedoeld gebruik

Het Wako NEFA-HR(2) reagens is een in-vitro enzymatische, colorimetrische testmethode voor de kwantitatieve bepaling van vrije vetzuren (NEFA) in serum.

Overzicht en uitleg van de test

Vrije vetzuren (NEFA) in serum die albumine binden, worden gebruikt als een belangrijke energiebron voor perifere weefsels. De hoeveelheid NEFA in serum is afhankelijk van een balans tussen opname in de lever en perifere weefsels, en de vrijgave uit vetweefsels. De hoeveelheid NEFA neemt af door fysieke inspanning en neemt toe door uithongering, kou, angst of roken. En de toename of afname van NEFA wordt waargenomen bij diabetes, leverziekten en endocriene ziekten.

NEFA werd getest via de methode van organische oplosmiddelextractie die moeilijk uit te voeren was. De enzymatische methode met gebruik van Acyl-CoA oxidase (ACOD) is wijdverbreid geraakt vanwege de uitstekende specificiteit en beknopte procedure. NEFA-HR(2) is de reagenskit voor NEFA-test gebaseerd op de enzymatische methode met gebruik van 3-methyl-N-ethyl-N-(β-hydroxyethyl)-aniline (MEHA) als een paarse kleurstof.

De methode geeft betrouwbare resultaten zonder verstoring door ascorbinezuur en bilirubine.

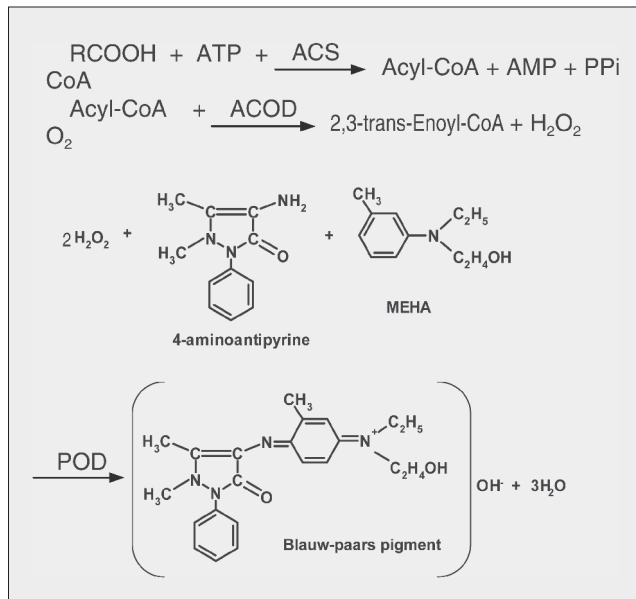
Principe van de methode

Vrij vetzuur (NEFA) in een monster wordt omgezet in Acyl-CoA, AMP en pyrofosforzuur (PPI) door de werking van Acyl-CoA-synthetase (ACS), in co-existentie met co-enzym A (CoA) en adenosine 5-trifosfaat dinatriumzout (ATP).

De verkregen Acyl-CoA wordt geoxideerd en levert 2,3-trans-enoyl-CoA en waterstofperoxide door de werking van Acyl-CoA oxidase (ACOD). In de aanwezigheid van peroxidase (POD) levert het gevormde waterstofperoxide een blauw-paars pigment door kwantitatieve oxidatiecondensatie met 3-methyl-N-ethyl-N-(β-hydroxyethyl)-aniline (MEHA) en 4-aminoantipyrine (4-AA).

De concentratie van vrije vetzuren (NEFA) wordt bepaald door het meten van de absorptie van de blauw-paarse kleur.

Reacties



Fysieke of chemische indicaties van instabiliteit

De aanwezigheid van precipitaten in het reagens of waarden van controlesera buiten het acceptabele bereik van de fabrikant, kunnen een indicatie zijn van instabiliteit van het reagens.

Instrumenten

Het reagens is ontwikkeld voor gebruik in commercieel beschikbare geautomatiseerde analysatoren. Raadpleeg de bedieningshandleiding voor een beschrijving van de werking van het instrument en de specificaties. Een validatie in de praktijk door de gebruiker op de locatie van de klant in de vorm van metingen van voldoende controle- of patiëntsera in voldoende hoeveelheid is essentieel.

Reagentia

Inhoud en opslagomstandigheden

R1-set:	R1a:	Kleur A	Opslaan bij 2–10 °C
	R1:	Solvent A	
R2-set:	R2a:	Kleur B	Opslaan bij 2–10 °C
	R2:	Solvent B	

Ingrediënten

R1-set:

R1a: Kleur A (indien gereconstitueerd)			
ACS			0,53 E/ml
CoA			0,31 mmol/l
ATP			4,3 mmol/l
4-AA			1,5 mmol/l
ADD			2,6 E/ml
Natriumazide (Kleur A gelyofiliseerd)			0,062 % (0,8 %)
R1: Solvent A			
fosfaatbuffer, pH 7,0			50 mmol/l
Natriumazide			0,05 %

R2-set:

R2a: Kleur B (indien gereconstitueerd)			
ACOD			12 E/ml
POD			14 E/ml
R2: Solvent B			
MEHA			2,4 mmol/l

Bereiding van het reagens

R1: Bereid R1 door een fles Kleur A en Solvent A te mengen. Sla de R1 na bereiding op bij 2–10 °C en gebruik binnen 1 maand.

R2: Bereid R2 door een fles Kleur B en Solvent B te mengen. Sla de R2 na bereiding op bij 2–10 °C en gebruik binnen 1 maand.

Verzameling en voorbereiding van het monster

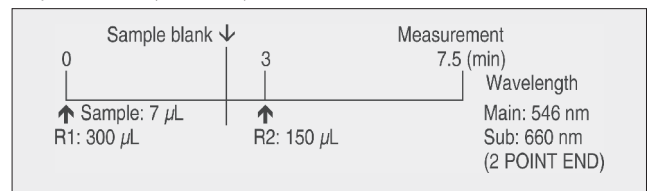
Serum kan worden gebruikt als monster.

Test monsters direct na verzameling, omdat de enzymen zoals lipoproteïne lipase, fosfolipase enz. lipiden hydrolyseren en vetzuren vormen. Vries het monster in als een serum wordt opgeslagen. Stabiliteit: 2 dagen bij 4 °C.¹

In-vivo heparinetoevoeging veroorzaakt ten onrechte gestegen waarden. Vanwege de stimulatie van lipoproteïne lipase door heparine, kunnen bloedmonsters van patiënten die een heparinebehandeling ondergaan, alleen voor deze bepaling worden gebruikt na een geschikte voorbehandeling.²

Standaardprocedure

Temperatuur: 37 °C (Hitachi® 737)



Kalibrator: Wako NEFA Standard (apart verkrijgbaar)

Berekening van NEFA-concentratie

Bereken de NEFA-concentratie vanuit de kalibratiecurve die is gecreëerd door absorptie van de kalibrator.

$$\begin{aligned} \text{Omrekeningsfactoren: } & \text{mg/dl} = \text{mmol/l} \times 28,2 \\ & \text{(berekend voor oliezuur, MW = 282)} \\ & \text{mmol/l (mval/l} = \text{mEq/l)} = \text{mg/dl} \times 0,035 \end{aligned}$$

Applicatie in de verschillende automatische analysatoren

Voer de parameters in volgens de instructies van het instrument om de meting uit te voeren. Instrumentapplicaties zijn beschikbaar op aanvraag.

Resultaten

De eindresultaten worden automatisch berekend en afgedrukt in concentratie. De resultaten worden weergegeven in mEq/L. Gebruik altijd dezelfde eenheid voor de kalibrator.

Verwachte waarden³

Mannen:	0,1–0,60 mmol/l (2,8–16,9 mg/dl)
Vrouwen:	0,1–0,45 mmol/l (2,8–12,7 mg/dl)

Aangezien de verwachte waarden worden beïnvloed door leeftijd, geslacht, dieet, geografische locatie en andere factoren, moet elk laboratorium zijn eigen verwachte waarden vaststellen voor deze procedure.

Prestatiekenmerken

- (1) **Nauwkeurigheid**
Wanneer een controleserum met een bekende concentratie wordt getest, valt de testwaarde binnen het bereik van $\pm 15\%$ van de bekende concentratie.
- (2) **Gevoeligheid**
 - a) Als gezuiverd water wordt getest, is de absorptie niet meer dan 0,140.
 - b) Als een standaard met een bekende concentratie (oliezuur 1 mEq/l) wordt getest, is de absorptie 0,100–0,380.
- (3) **Precisie**
Als een monster niet minder dan 5 keer wordt getest in een run, is de CV van absorptie niet meer dan 1,5%.
- (4) **Meetbereik**
0,01–4,00 mEq/l NEFA (bij het gebruik van de standaardprocedure)

Correlatie

Specimen	Serum
Correlatiecoëfficiënt	$r = 0,997$ (n = 50)
Regressievergelijking	$y = 1,013x - 0,043$
y	Wako NEFA-HR(2) (ACS – ACOD-methode, mEq/l)
x	Wako NEFA C (ACS – ACOD-methode, mEq/l)

Verstorende stoffen

- a) Bilirubine heeft een licht negatief effect op de test.
- b) Ascorbinezuur en hemolyse hebben geen significante invloed op de test.
- c) Citraat, oxalaat, EDTA en natriumfluoride hebben geen significante invloed op de test als ze worden gebruikt in hun gebruikelijke hoeveelheden.

Warnings and precautions

- Uitsluitend voor gebruik in in-vitrodiagnostiek.
- Het gebruik en de toepassing van deze test is voorbehouden aan professioneel gebruik. Raadpleeg de respectieve nationale en lokale wet- en regelgeving.
- Niet voor intern gebruik bij mensen of dieren.
- Gebruik de hierboven beschreven reagentia niet voor andere doeleinden dan hierin beschreven. De prestaties kunnen niet worden gegarandeerd als de reagentia worden gebruikt in andere procedures of voor andere doeleinden.
- Gebruik de instrumenten volgens de bedieningshandleidingen en onder de juiste omstandigheden.
- Sla de reagentia op onder de opgegeven omstandigheden. Gebruik reagentia niet na de vervaldatum die is aangegeven op het etiket van elke reagensfles.
- Gebruik geen reagentia die onbedoeld bevroren zijn. Dergelijke reagentia kunnen foutieve resultaten geven.
- Het wordt aangeraden de reagentia na opening direct te gebruiken. Als de geopende reagentia worden opgeslagen, sluit u de flessen af en bewaart u deze onder de opgegeven omstandigheden.
- Gebruik de containers en andere materialen in de verpakking niet voor andere doeleinden dan hier beschreven.
- De flacon is afgesloten bij een verlaagde druk. Verwijder de stop langzaam om ervoor te zorgen dat het poeder in de flacon niet vrijkomt.
- Als het reagens voor NEFA tegelijkertijd wordt gebruikt met een reagens voor cholesterol en triglyceride, worden de cholesterol-esterase en lipoproteïne-lipase in het reagens geabsorbeerd in cuvetten en kunnen de gemeten waarde van NEFA verstoren.
- Gebruik NEFA Standard voor kalibratie.
- Deze test mag niet worden gebruikt als enige bepalende factor voor klinische diagnose.
- Als de reagentia in contact komen met de mond, ogen of huid, deze direct afwassen met een grote hoeveelheid water.
- Wees voorzichtig zodat u zichzelf niet snijdt met de aluminium dop als u deze van de flacon verwijdert.
- Voer reagentia af in overeenstemming met de lokale of nationale regelgeving. Solvent A bevat 3 mg/l kaliumferrocyanide (1 mg/l als cyaan).
- Alle apparatuur inclusief reagentia en reagensflessen die in contact komen met het specimen, moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk.
- Natriumazide kan reageren met loden of koperen leidingen en explosieve verbindingen vormen. Hoewel het reagens minuscule hoeveelheden natriumazide bevat, moeten afvoeren goed worden gespoeld met een grote hoeveelheid water bij het afvoeren van het reagens.

Etikettering in overeenstemming met verordening (EG) nr. 1272/2008

- Het product is geclassificeerd en geëtiketteerd in overeenstemming met de CLP-verordening.
- Het product bevat geen SVHC in overeenstemming met REACH, artikel 57 >0,1%.

Gevaaraanduidende componenten voor de etikettering

- Acyl co-enzym A oxidase
- Peroxidase

Gevarenpictogrammen

Gevaar

Gevenaanduidingen

- Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken.
- Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

Veiligheidsaanbevelingen

- Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden.
- (Bij ontoereikende ventilatie) adembescherming dragen.
- NA INADEMING: De persoon in de frisse lucht brengen en ervoor zorgen dat deze gemakkelijk kan ademen.
- Bij ademhalings symptomen: een ANTIGIFCENTRUM/arts raadplegen.
- Voorkom lozing in het milieu.
- Bevat ascorbaat oxidase. Kan een allergische reactie veroorzaken.
- Bevat een mengsel van 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one en 2-methyl-2H-isothiazol-3-one, maleimide. Kan een allergische reactie veroorzaken.

Kwaliteitscontrole

Een kwaliteitscontroleprogramma wordt aangeraden voor alle klinische laboratoria.

Referenties

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 Maßgröße: Freie Fettsäuren (FFS), S. 319–320 in Greiling / Greßner: Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. edition, Schattauer (1995).

Bestelinformatie

Codennr.	Product	Verpakking
434-91795	NEFA-HR(2) R1-set	R1a: 4 x voor 50 ml R1: 4 x 50 ml
436-91995	NEFA-HR(2) R2-set	R2a: 4 x voor 25 ml R2: 4 x 25 ml
270-77000	NEFA Standard	CAL: 2 x 10 ml