

NEFA FS*

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von unveresterten Fettsäuren (NEFA = Non esterified fatty acids) in Serum oder Plasma an photometrischen Systemen

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße
1 5781 99 10 935	R1 2 x 20 mL + R2 1 x 10 mL
1 5780 99 10 065	3 x 3 mL Standard

Zusammenfassung [1,2]

Unveresterte Fettsäuren dienen im Organismus als Quelle für Stoffwechselenergie, als Substrate für den Zellmembran-Aufbau und als Vorstufe für viele intrazelluläre Signalmoleküle wie z.B. Prostaglandine.

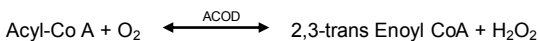
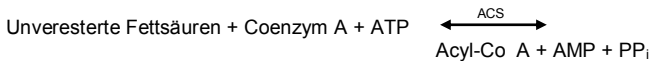
Die Freisetzung der unveresterten Fettsäuren aus dem Fettgewebe erfolgt durch Lipolyse. Sie wird beeinflusst durch Ernährungsgewohnheiten und Schwankungen im Insulin-Spiegel. Pathologische Zustände wie Insulinresistenz/Diabetes Typ 2, Adipositas, maligne Erkrankungen und das metabolische Syndrom sind mit einer Erhöhung der Konzentration an unveresterten Fettsäuren im Blut verbunden und begünstigen die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen.

Methode

Enzymatische Endpunktbestimmung

Prinzip

Unveresterte Fettsäuren und Coenzym A reagieren in Anwesenheit von Acyl-CoA-Synthetase (ACS) zu acyliertem Coenzym A. Bei der anschließenden Oxidation des acylierten Coenzym A durch die Acyl-CoA-Oxidase wird H₂O₂ freigesetzt. Unter der katalytischen Wirkung der Peroxidase (POD) reagiert das H₂O₂ mit der Trinder-substanz zu einem farbigen Endprodukt.



Bei 546 nm ist die Intensität des gebildeten roten Farbstoffs direkt proportional zur Konzentration der freien Fettsäuren in der Probe.

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1:	Goods Puffer	pH 7,0	50 mmol/L
	Coenzym A		0,4 g/L
	ATP		2 mmol/L
	Acyl CoA Synthetase (ACS)		0,4 kU/L
	MgCl ₂		2 mmol/L
R2:	Goods Puffer	pH 7,0	50 mmol/L
	Acyl CoA Oxidase (ACOD)		30 kU/L
	Peroxidase (POD)		45 kU/L
Standard:			1 mmol/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Das Reagenz und der Standard sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen vermieden werden. Reagenzien nicht einfrieren! Reagenzien lichtgeschützt aufbewahren!

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Reagenz 1 und Reagenz 2: Achtung. H319 Verursacht schwere Augenreizung. P280 Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P305+P351+P338 Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
2. Standard: Achtung. H319 Verursacht schwere Augenreizung. P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P305+P351+P338 Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
3. In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [6].
4. N-Acetylcystein (NAC), Acetaminophen- und Metamizol-Medikation führt zu falsch niedrigen Ergebnissen in Patientenproben.
5. Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
6. Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

Reagenz und Standard sind gebrauchsfertig.

Zusätzlich benötigte Materialien

NaCl-Lösung 9 g/L
Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial [4,7]

Serum, Heparin-Plasma oder EDTA-Plasma (aus Nüchternblut > 12h)

Proben von Patienten unter Heparintherapie sind für die Messung nicht geeignet.

Die Messung sollte unmittelbar nach der Blutentnahme erfolgen, da die Konzentration an freien Fettsäuren durch Lipolyse im Serum schnell ansteigt. Ist dies nicht möglich, müssen die Proben bis zur weiteren Verwendung bei –20 °C gelagert werden.

Nur einmal einfrieren!
Kontaminierte Proben verwerfen!

Testschema

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	546 nm/600 nm (bichromatisch)
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37 °C
Messung	Gegen Reagenzienleerwert (RLW)

	RLW	Probe/Standard
Probe/Standard	-	20 µL
Aqua dest.	20 µL	-
Reagenz 1	1000 µL	1000 µL
Mischen und 5 Minuten inkubieren. Extinktion E1 ablesen, dann zufügen:		
Reagenz 2	250 µL	250 µL
Mischen, 10 Min. inkubieren. Extinktion E2 innerhalb von 20 Minuten messen		

$$\Delta E = (E2 - E1) \text{ Probe/Standard}$$

Berechnung

$$\text{NEFA [mg/dL]} = \frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Std}} \times \text{Konz. Std [mg/dL]}$$

Umrechnungsfaktor

$$\text{unveresterte Fettsäuren [mg/dL]} \times 0,0354 = \text{unveresterte Fettsäuren [mmol/L]}$$

Kalibratoren und Kontrollen

Für die Kalibrierung wird DiaSys TruCal Lipid oder NEFA Standard FS empfohlen. Die Kalibrator- oder Standardwerte sind rückverfolgbar auf ein primäres Standardmaterial. Für die interne Qualitätskontrolle sollte die DiaSys TruLab L Kontrolle gemessen werden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal Lipid	1 3570 99 10 045	3 x 2 mL
TruLab L Level 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Level 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Leistungsmerkmale**Messbereich**

Der Test ist zur Messung von NEFA Konzentrationen bis 3 mmol/L geeignet. Wird dieser Bereich überschritten, sollen die Proben 1+3 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnt und das Ergebnis mit 4 multipliziert werden.

Spezifität/Interferenzen

Es treten keine Interferenzen mit Ascorbinsäure bis 30 mg/dL, Bilirubin bis 60 mg/dL, Lipämie bis 1000 mg/dL Triglyceride und Hämoglobin bis 200 mg/dL auf. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [5].

Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze ist 0,01 mmol/L.

Präzision

In der Serie n = 20	Mittelwert [mmol/L]	Standard- abweichung [mmol/L]	VK [%]
Probe 1	0,29	0,00	1,07
Probe 2	0,49	0,01	1,05
Probe 3	0,88	0,01	0,98

Von Tag zu Tag n = 20	Mittelwert [mmol/L]	Standard- abweichung [mmol/L]	VK [%]
Probe 1	0,61	0,01	1,15
Probe 2	1,02	0,01	1,07
Probe 3	1,38	0,02	1,10

Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys NEFA FS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 114 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 0,984 x + 0,045 \text{ mmol/L}; r = 0,996.$$

Referenzbereiche [3]

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

Die Plasmakonzentration der unveresterten Fettsäuren unterliegt großen individuellen Schwankungen und ist insbesondere nach der Nahrungsaufnahme erhöht.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Pilz S, Scharnagl H, Tiran B, et al. Free Fatty Acids Are Independently Associated with All-Cause and Cardiovascular Mortality in Subjects with Coronary Artery Disease. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: p. 2542-7.
2. Smith and Wilson. Free Fatty Acids and Atherosclerosis. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: 2506-8.
3. Aufenanger J und Kattermann R. Klinisch-chemische Meßgröße: Freie Fettsäuren (FFS). In: Greiling H, Gressner AM: Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie: Schattauer, 1995. p. 319-20.
4. Guder WG, Zatwa B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: Git Verlag, 2001: 28-9.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.
7. Stokol T and Nydam DV. Effect of Anticoagulant and Storage Conditions on Bovine Nonesterified Fatty Acid and β -Hydroxybutyrate Concentrations in Blood. American Dairy Science Association 2005. J. Dairy Sci. 88: p. 3139-44.

Hersteller

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland