

NEFA FS*

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* de ácidos grasos no esterificados (NEFA = Non esterified fatty acids) en suero y plasma en equipos fotométricos

Información de pedido

| Nº de pedido | Tamaño del envase |
|------------------|-----------------------------|
| 1 5781 99 10 935 | R1 2 x 20 mL + R2 1 x 10 mL |
| 1 5780 99 10 065 | 3 x 3 mL Estándar |

Resumen [1,2]

En el organismo, los ácidos grasos no esterificados sirven de fuente de energía, como sustrato para la construcción de las membranas celulares así como precursores para muchas moléculas de señal intra-celulares (por ejemplo las prostaglandinas).

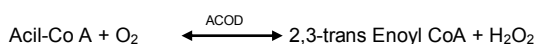
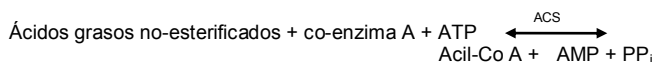
La liberación de los ácidos grasos no esterificados del tejido adiposo se efectúa por lipólisis y está influenciada por los hábitos alimentarios así como por fluctuaciones de los niveles de insulina. Los estados patológicos como la resistencia a la insulina/la Diabetes tipo 2, la adiposidad, enfermedades malignas y el síndrome metabólico están relacionados con una concentración elevada de los ácidos grasos no esterificados en la sangre y favorecen la formación de enfermedades cardiovasculares.

Método

Test enzimático con determinación de punto final

Principio

Ácidos grasos no esterificados y la co-enzima A reaccionan en presencia de los acil co-enzima A sintetasa (ACS) para formar la co-enzima A acilada. Durante la oxidación de la co-enzima A acilada por los acil co-enzima A oxidasa se libera H₂O₂. En presencia de peroxidasa, el H₂O₂ reacciona con la sustancia Trinder para formar un producto final coloreado.



A 546 nm, la intensidad de la coloración creada es directamente proporcional a la concentración de los ácidos grasos libres presentes en la muestra.

Reactivos

Componentes y concentraciones

| | | | |
|------------------|--------------------------|--------|-----------|
| R1: | Amortiguadora de Good | pH 7,0 | 50 mmol/L |
| | Coenzima A | | 0,4 g/L |
| | ATP | | 2 mmol/L |
| | Acil-CoA sintetasa (ACS) | | 0,4 kU/L |
| | MgCl ₂ | | 2 mmol/L |
| R2: | Amortiguadora de Good | pH 7,0 | 50 mmol/L |
| | Acil-CoA oxidasa (ACOD) | | 30 kU/L |
| | peroxidasa | | 45 kU/L |
| Estándar: | | | 1 mmol/L |

Conservación y estabilidad de los reactivos

Conservados a una temperatura de 2 a 8 °C, el reactivo y el estándar se pueden utilizar hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. ¡No se deben congelar los reactivos!
¡Mantener los reactivos protegidos de la luz!

Advertencias y medidas de precaución

1. Reactivo 1 y reactivo 2: Atención. H319 Provoca irritación ocular grave. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P305+P351+P338 En caso de contacto con los ojos: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
2. Estándar: Atención. H319 Provoca irritación ocular grave. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P305+P351+P338 En caso de contacto con los ojos: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
3. Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [6].
4. La N-acetilcisteína (NAC), el acetaminofén y la medicación metamizol conducen a resultados falsamente bajos en muestras de pacientes.
5. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
6. ¡Únicamente para el empleo profesional!

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Los reactivos son listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras [4,7]

Suero, plasma heparinizado o con EDTA (de sangre de ayuno > 12 horas)

Muestras de pacientes en terapia de heparina no son apropiadas para la medición.

Hay que efectuar la medición inmediatamente después de la extracción de la sangre ya que la concentración de los ácidos grasos libres subirá rápidamente en el suero a causa de la lipólisis. Si esto no es posible, hay que almacenar las muestras a -20 °C hasta que pueda realizarse el análisis.

¡Congelar sólo una vez!

¡Desechar las muestras contaminadas!

Esquema de la prueba

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

| | |
|------------------|-----------------------------|
| Longitud de onda | 546 nm/600 mm (bicromática) |
| Paso óptico | 1 cm |
| Temperatura | 37 °C |
| Método de medida | Respecto blanco de reactivo |

| Muestra o estándar | Blanco | Muestra/estándar |
|--|---------|------------------|
| | - | 20 µL |
| Agua destilada | 20 µL | - |
| Reactivo 1 | 1000 µL | 1000 µL |
| Mezclar e incubar durante 5 minutos. Leer la absorbancia (A1), a continuación añadir: | | |
| Reactivo 2 | 250 µL | 250 µL |
| Mezclar e incubar exactamente durante 10 minutos. Leer la absorbancia (A2) dentro de 20 minutos. | | |

$\Delta A = (A2 - A1)$ Muestra/estándar

Cálculo

$$\text{NEFA [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Est.}} \times \text{Conc. Est. [mg/dL]}$$

Factor de conversión

$$\text{Ácidos grasos no esterificados [mg/dL]} \times 0,0354 = \text{Ácidos grasos no esterificados [mmol/L]}$$

Calibradores y Controles

Para la calibración se recomienda el calibrador TruCal Lípido o el estándar NEFA Standard FS. Los valores de calibrador o estándar son trazables a un material de estándar primario. Utilizar DiaSys TruLab L para el control de calidad interno. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

| | Nº de pedido | Tamaño del envase |
|------------------|------------------|-------------------|
| TruCal Lípido | 1 3570 99 10 045 | 3 x 2 mL |
| TruLab L Nivel 1 | 5 9020 99 10 065 | 3 x 3 mL |
| TruLab L Nivel 2 | 5 9030 99 10 065 | 3 x 3 mL |

Características

Rango de medida

El test es adecuado para medir concentraciones de NEFA de hasta 3 mmol/L. Si se sobrepasan estos valores, se recomienda diluir las muestras con solución NaCl (9 g/L) en una proporción 1+3 y multiplicar por 4 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascórbico en cantidades de hasta 30 mg/dL, con bilirrubina en cantidades de hasta 60 mg/dL, con lipidemia en cantidades de hasta 1000 mg/dL triglicéridos con hemoglobina en cantidades de hasta 200 mg/dL. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [5].

Sensibilidad del test/Límite de prueba

El límite inferior de prueba es de 0,01 mmol/L.

Precisión

| En la serie n = 20 | Valor medio [mmol/L] | Desviación estándar [mmol/L] | Coefficiente de variación (CV) [%] |
|-----------------------|-------------------------|------------------------------------|--|
| Muestra 1 | 0,29 | 0,00 | 1,07 |
| Muestra 2 | 0,49 | 0,01 | 1,05 |
| Muestra 3 | 0,88 | 0,01 | 0,98 |

| De un día a otro n = 20 | Valor medio [mmol/L] | Desviación estándar [mmol/L] | Coefficiente de variación (CV) [%] |
|----------------------------|-------------------------|------------------------------------|--|
| Muestra 1 | 0,61 | 0,01 | 1,15 |
| Muestra 2 | 1,02 | 0,01 | 1,07 |
| Muestra 3 | 1,38 | 0,02 | 1,10 |

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys NEFA FS (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados para 114 muestras de suero y plasma:

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

Valores de referencia [3]

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

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

La concentración del plasma de los ácidos grasos no esterificados está sujeto a variaciones individuales importantes y particularmente está elevada después de la ingestión de alimentos.

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- 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: 2542-7.
- Smith and Wilson. Free Fatty Acids and Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2506-8.
- 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.
- Guder WG, Zatwa B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: Git Verlag, 2001: 28-9.
- 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.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(9): 1240-1243.
- 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.

Fabricado por



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania