

# NEFA FS\*

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative des acides gras non estérifiés (NEFA) dans le sérum ou le plasma sur systèmes photométriques

## Présentation

| Références       | Emballage coffret |                          |
|------------------|-------------------|--------------------------|
| 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        |

## Intérêt clinique [1,2]

Dans le métabolisme, les acides non estérifiés servent de source d'énergie pour l'organisme, de substrat pour la structure de la membrane cellulaire ainsi que de précurseur pour plein de molécules intracellulaires messenger de signal, comme par exemple des prostaglandines.

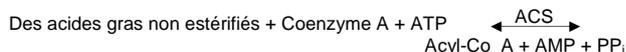
La libération des acides non estérifiés du tissu adipeux s'effectue moyennant la lipolyse et elle est fortement influencée par des habitudes d'alimentation ainsi que des fluctuations du niveau d'insuline. Des conditions pathologiques comme la résistance à l'insuline/diabète type 2, l'adipose, des maladies malignes ou le syndrome métabolique sont liés à une augmentation de la concentration des acides gras non estérifiés dans le sang et favorisent la formation des maladies cardio-vasculaires.

## Méthode

Test enzymatique en point final

## Principe

Des acides gras non estérifiés ainsi que le coenzyme A réagissent en présence de l'acyl-coenzyme A synthétase (ACS) pour composer le coenzyme A acylé. Du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se libère pendant l'oxydation suivante du coenzyme A acylé par l'oxydase l'acyl-coenzyme A. Sous l'effet catalytique de la peroxydase (POD) le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réagit avec la substance Trinder pour former un produit final coloré.



A 546 nm, l'intensité du colorant rouge formé est directement proportionnelle à la concentration des acides gras libres dans l'échantillon.

## Réactifs

### Composants et Concentrations

|                   |                           |        |           |
|-------------------|---------------------------|--------|-----------|
| <b>R1 :</b>       | Tampon Good               | pH 7,0 | 50 mmol/L |
|                   | Coenzyme A                |        | 0,4 g/L   |
|                   | ATP                       |        | 2 mmol/L  |
|                   | Acyl CoA Synthétase (ACS) |        | 0,4 kU/L  |
| <b>R2 :</b>       | MgCl <sub>2</sub>         |        | 2 mmol/L  |
|                   | Tampon Good               | pH 7,0 | 50 mmol/L |
| <b>R2 :</b>       | Acyl CoA Oxydase (ACOD)   |        | 30 kU/L   |
|                   | Peroxydase (POD)          |        | 45 kU/L   |
| <b>Standard :</b> |                           |        | 1 mmol/L  |

### Préparation et conservation des réactifs

Les réactifs et le standard sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs et les protéger de la lumière !

## Avertissements et précautions d'emploi

- Réactif 1 et réactif 2 : Attention. H319 Provoque une sévère irritation des yeux. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P305+P351+P338 En contact avec les yeux : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P337+P313 Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.
- Standard : Attention. H319 Provoque une sévère irritation des yeux. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P305+P351+P338 En cas de contact avec les yeux: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P337+P313 Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [6].
- La N-acétylcystéine (NAC), l'acétaminophène et les médicaments métamizole conduisent aux résultats faussement bas dans les spécimens de patients.
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel !

## Elimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

## Préparation des réactifs

Le réactif et le standard sont prêts à l'emploi.

## Matériels requis mais non fournis

Solution NaCl 9 g/L

Equipement général de laboratoire

## Spécimen [4,7]

Sérum, plasma recueilli sur héparine ou EDTA (du sang à jeun > 12h)

Des échantillons tirés des patients sous thérapie d'héparine ne sont pas aptes pour la mesure.

La mesure doit être effectuée immédiatement après prélèvement de sang comme la concentration des acides gras non estérifiés augmente vite par une lipolyse dans le sang. Si la mesure n'est pas immédiatement réalisable, les échantillons doivent être conservés au réfrigérateur à -20 °C.

Congélation unique ! Eliminer les échantillons contaminés !

## Mode opératoire

**Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.**

|                 |                                |
|-----------------|--------------------------------|
| Longueur d'onde | 546 nm/600 nm (bi chromatique) |
| Trajet optique  | 1 cm                           |
| Température     | +37 °C                         |
| Mesure          | Contre le blanc réactif        |

|   | Blanc   | Echantillon/<br>Standard |
|---|---------|--------------------------|
| <b>Echantillon/Standard</b>   | -       | 20 µL                    |
| <b>Eau distillée</b>  | 20 µL   | -                        |
| <b>Réactif 1</b>  | 1000 µL | 1000 µL                  |
| Mélanger et incuber pendant 5 minutes. Lire l'absorbance A1, puis ajouter :   |         |                          |
| <b>Réactif 2</b>  | 250 µL  | 250 µL                   |
| Mélanger et incuber 10 minutes. Lire l'absorbance A2 dans un délai de 20 min. |         |                          |

$$\Delta A = (A2 - A1) \text{ Echantillon/Standard}$$

## Calcul

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

## Facteur de conversion

$$\text{Acides gras non estérifiés [mg/dL]} \times 0,0354 = \text{Acides gras non estérifiés [mmol/L]}$$

## Calibrant et Contrôles

Pour la calibration, TruCal Lipid ou NEFA Standard FS de DiaSys est recommandé. Les valeurs de ce calibrant ou standard sont établies par rapport à un matériel de standard primaire. Utiliser DiaSys TruLab L pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

|                   | Référence        | Taille coffret |
|-------------------|------------------|----------------|
| TruCal Lipid      | 1 3570 99 10 045 | 3 x 2 mL       |
| TruLab L Niveau 1 | 5 9020 99 10 065 | 3 x 3 mL       |
| TruLab L Niveau 2 | 5 9030 99 10 065 | 3 x 3 mL       |

## Performances

### Domaine de mesure

Le test a été développé pour la détermination des concentrations de NEFA jusqu'à 3 mmol/L. Au delà de cet intervalle, diluer le spécimen 1 + 3 avec de la solution NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 4.

### Spécificité/Interférences

Aucune perturbation n'a été observée par la présence d'acide ascorbique jusqu'à 30 mg/dL, de bilirubine jusqu'à 60 mg/dL, de la lipémie jusqu'à 1000 mg/dL de triglycérides et d'hémoglobine jusqu'à 200 mg/dL. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [5].

### Sensibilité/Limite de détection

La limite inférieure de détection est de 0,01 mmol/L.

### Etude de précision

| Intra série<br>n = 20 | Moyenne<br>[mmol/L] | DS<br>[mmol/L] | CV<br>[%] |
|-----------------------|---------------------|----------------|-----------|
| Échantillon 1         | 0,29                | 0,00           | 1,07      |
| Échantillon 2         | 0,49                | 0,01           | 1,05      |
| Échantillon 3         | 0,88                | 0,01           | 0,98      |

| Inter série<br>n = 20 | Moyenne<br>[mmol/L] | DS<br>[mmol/L] | CV<br>[%] |
|-----------------------|---------------------|----------------|-----------|
| Échantillon 1         | 0,61                | 0,01           | 1,15      |
| Échantillon 2         | 1,02                | 0,01           | 1,07      |
| Échantillon 3         | 1,38                | 0,02           | 1,10      |

## Comparaison de méthodes

Une comparaison du NEFA FS de DiaSys (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 114 échantillons, a donné les résultats suivants:  $y = 0,984 x + 0,045 \text{ mmol/L}$ ; Coefficient de corrélation = 0,996.

## Valeurs usuelles [3]

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

La concentration du plasma des acides non estérifiés est soumise à des oscillations individuelles énormes et s'augmente surtout après l'ingestion des aliments.

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

## Références bibliographiques

- 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.
- Smith and Wilson. Free Fatty Acids and Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: p. 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. 1<sup>st</sup> 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  $\beta$ -Hydroxybutyrate Concentrations in Blood. *American Dairy Science Association* 2005. *J. Dairy Sci.* 88: p. 3139-44.

## Fabricant



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Alte Strasse 9 65558 Holzheim (Allemagne)