

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 messager de signal, comme par exemple des prostaglandines.

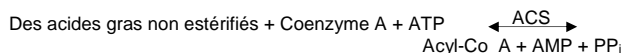
La libération des acides non estérifiés du tissu adipeux s'effectue moyennant la lipolyse et elle est fortement influencée par des habitudes d'alimentation ainsi que des fluctuations du niveau d'insuline. Des conditions pathologiques comme la résistance à l'insuline/diabète type 2, l'adipose, des maladies 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_2O_2 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_2O_2 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

R1 :	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
	MgCl ₂		2 mmol/L
R2 :	Tampon Good	pH 7,0	50 mmol/L
	Acyl CoA Oxydase (ACOD)		30 kU/L
	Peroxydase (POD)		45 kU/L
Standard :			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 : Danger. H318 Provoque de graves lésions des yeux. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux. 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. P310 Appeler immédiatement un centre antipoison/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. 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 gammapathie 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

Equipeement 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/ Standard
Echantillon/Standard	-	20 µL
Eau distillée	20 µL	-
Réactif 1	1000 µL	1000 µL
Mélanger et incubé pendant 5 minutes. Lire l'absorbance A1, puis ajouter :		
Réactif 2	250 µL	250 µL
Mélanger et incubé 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

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

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 n = 20	Moyenne [mmol/L]	DS [mmol/L]	CV [%]
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 n = 20	Moyenne [mmol/L]	DS [mmol/L]	CV [%]
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

1. Pilz S, Schrnagl 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: p. 2506-8.
3. Auenanger 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.

Fabricant



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

NEFA FS*

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative des acides gras non estérifiés (NEFA) dans le sérum, le plasma ou l'urine sur système BioMajesty JCA-BM6010/C

Présentation

Référence 1 5781 99 10 964

R1 : 6 x 90 déterminations

R2 : 6 x 90 déterminations

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 H₂O₂ 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 H₂O₂ réagit avec la substance Trinder pour former un produit final coloré.

Des acides gras non estérifiés + Coenzyme A + ATP $\xrightarrow{\text{ACS}}$ Acyl-Co A + AMP + PP_i

Acyl-Co A + O₂ $\xrightarrow{\text{ACOD}}$ 2,3-trans Enoyl CoA + H₂O₂

2 H₂O₂ + Trinder $\xrightarrow{\text{POD}}$ Colorant + 4 H₂O

A 545 nm, l'intensité du colorant rouge formé est directement proportionnelle à la concentration des acides gras libres dans le dosage.

Réactifs

Composants et concentrations

R1 :	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
	MgCl ₂		2 mmol/L
R2 :	Tampon Good	pH 7,0	50 mmol/L
	Acyl CoA Oxydase (ACOD)		30 kU/L
	Peroxydase (POD)		45 kU/L

Préparation et conservation des réactifs

Les réactifs 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 : Danger. H318 Provoque de graves lésions des yeux. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux. P305+P351+P338 En cas 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. P310 Appeler immédiatement un centre antipoison/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 méfamizole 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 !

Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Les flacons sont placés directement dans les compartiments réactifs.

Spécimen [1,7]

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 ! Éliminer les échantillons contaminés !

Calibrants et contrôles

Pour la calibration, TruCal Lipid ou NEFA Standard FS de DiaSys sont recommandés pour la calibration. Les valeurs de ce calibrant ou standard sont établies par rapport au matériel de standard primaire. Pour le contrôle de qualité interne, le contrôle TruLab L devrait être utilisé. 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
NEFA Standard FS	1 5780 99 10 065	3 x 3 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 jusqu'à 3 mmol/L (847 mg/L) de NEFA (en cas de concentrations plus élevées, mesurer les spécimens une seconde fois après une dilution manuelle avec de la solution de NaCl (9 g/L) ou par la fonction rerun).	
Limite de détection**	0,01 mmol/L (2,82 mg/L) de NEFA
Stabilité à bord de l'analyseur	12 semaines
Stabilité de calibration	6 semaines

Interférences < 10% par
Acide ascorbique jusqu'à 300 mg/L
Bilirubine (conjuguée et non conjuguée) jusqu'à 600 mg/L
Hémolyse jusqu'à 1 g/L
Lipémie (triglycérides) jusqu'à 11 g/L
Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [5].

Étude de précision			
Intra série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mmol/L]	0,52	0,81	1,17
Moyenne [mg/L]	148	228	330
Coefficient de variation [%]	1,14	1,42	1,17
Inter série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mmol/L]	0,53	0,80	1,23
Moyenne [mg/L]	150	225	346
Coefficient de variation [%]	1,72	1,60	0,91

Comparaison de méthodes (n=80)	
Méthode x	DiaSys NEFA FS (Hitachi 917)
Méthode y	DiaSys NEFA FS (BioMajesty JCA-BM6010/C)
Pente	1,04
Ordonnée à l'origine	0,006 mmol/L (1,69 mg/L)
Coefficient de corrélation	r = 0,999

** Concentration mesurable la plus basse qui peut être distinguée de zéro ; Moyenne + 3 SD (n = 20) d'un spécimen exempt d'analyte

Facteur de conversion

Acides gras non estérifiés [mg/L] x 0,00354 =
Acides gras non estérifiés [mmol/L]

Valeurs de référence [2]

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.

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

1. Guder WG, Zatwa B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: Git Verlag, 2001: 28-9.
2. 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.
3. 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.
4. Smith and Wilson. Free Fatty Acids and Atherosclerosis. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: p.2506-8.
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.

Fabricant



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Allemagne

NEFA FS

Chemistry code 10 578

Application for serum and plasma samples

This application was set up and evaluated by DiaSys. It is based on the standard equipment at that time and does not apply to any equipment modifications undertaken by unqualified personnel.

Analytical Conditions	
R1 volume	80
R2e volume	0
R2 volume	20
R1 diluent vol	0
R2e diluent vol	0
R2 diluent vol	0
Sample vol (S)	1.3
Sample vol (U)	1.3
Reagent 1 mix	weak
Reagent 2e mix	weak
Reagent 2 mix	weak
Reaction time	10

Sub-analy. Conditions	
Name	NEFA
Digits	2
M-wave L.	545
S-wave.L	596
Analy.mthd.	EPA
Calc.mthd.	STD
Qualit. judge	No

Analysis Test Condition Setting (M)		
Sample Type	Serum	Urine
Reac. sample vol.	1.3	1.3
Diluent method	No dil	No dil
Undil. sample vol.	0	0
Diluent volume	0	0
Diluent position	0	0

entered by user

Endpoint method	
Re.absorb (u)	9.999
Re. Absorb (d)	-9.999

Calculation Method Setting	
M-DET.P.I	0
M-DET.P.m	41
M-DET.P.n	42
S-DET.P.p	17
S-DET.P.r	18
Check D.P.I.	0
Limit value	0.003
Variance	10
Reac.type	Inc

Reaction Rate Method	
Cycle	2
Factor	2
E2 corre	Not do
Blank (u)	9.999
Blank (d)	-9.999
Sample (u)	9.999
Sample (d)	-9.999

Standards Setting	
FV	#
BLK H	9.999
BLK L	-9.999
STD H	9.999
STD L	-9.999