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 ésterificados 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 ésterificados del tejido adiposo se efectua por lipolisis 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 cantidad de tejido adiposo, enfermedades malignas y el síndrome metabólico están relacionados con una concentración elevada de los ácidos grasos no ésterificados 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 la co-enzima Azil A sintetasa (ACS) para formar la co-enzima A azilada. Durante la oxidación de la co-enzima A acilada por la Acil co-enzima A oxidasa se libera H_2O_2. En presencia de peroxidasa, el H_2O_2 reacciona con la sustancia Trinder para formar un producto final coloreado.

$$\text{ácidos grasos no-ésterificados} + \text{co-enzima A} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{ACS}} \text{Acyl-Co A} + \text{AMP} + \text{PPi}$$

$$\text{Acyl-Co A} + O_2 \xrightarrow{\text{ACOD}} \text{2,3-trans Enoyl CoA} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{Trinder} \xrightarrow{\text{POD}} \text{colorante} + 4\,H_2O$$

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
	Co-enzima A		0,4 g/L
	ATP		2 mmol/L
	Acyl CoA Syntetasa (ACS)		0,4 kU/L
	$MgCl_2$		2 mmol/L
	Componente de acoplamiento Trinder		
	Detergentes y estabilizadores		
R2:	Amortiguadora de Good	pH 7,0	50 mmol/L
	Acyl CoA oxidasa (ACOD)		30 kU/L
	peroxidasa		45 kU/L
	Componente de acoplamiento Trinder		
	Detergentes y estabilizadores		
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

Tomar las precauciones necesarias para el uso de reactivos de laboratorio.

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Los reactivos ya están listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras [4]

Suero y plasma (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 del sangre ya que la concentración de los ácidos grasos libres subirá rápidamente en el suero a causa de la lipolisis. Si esto no es posible, hay que almacenar las muestras a -20° C hasta que pueda realizarse el análisis. ¡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

	Blanco	Muestra/estándar
Muestra o 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.		

ΔA = (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

Ácidos grasos no esterificados [mg/dL] x 0,0354 =
Ácidos grasos no esterificados [mmol/L]

*Fluid Stable = líquido estable

Controles

Para el control de calidad interno debe analizarse un control DiaSys TruLab L con cada serie de muestras.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruLab L	5 9020 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 y con hemoglobina en cantidades de hasta 200 mg/dL auf.

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 (VM) [mmol/L]	Variación estándar [mmol/L]	Coeficiente 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 (VM) [mmol/L]	Variación estándar [mmol/L]	Coeficiente 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 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 ésterificados está sujeto a variaciones individuales importantes y particularmente está elevada después de la ingestión de alimentos.

Cada laboratorio debería averiguar la idoneidad del rango de referencia indicado para su propio grupo de pacientes y si es necesario, establecer sus propios valores de referencia. Todos los resultados siempre tienen que ser evaluados en relación con la anamnesis, el examen clínico y otros resultados de reconocimiento médico.

Bibliografía

1. Pilz S, Scharnagl H, Tiran B, et al. Free Fatty Acids Are Indenpendently Associated with All-Cause and Cardiovascular Mortality in Subjects with Coronary Artery Disease. J Clin Endicrinol Metab 2006; 91: 2542-7.
2. Smith and Wilson. Free Fatty Acids and Atherosclerosis. J Clin Endicrinol 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

Fabricado por

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania