



BÜHLMANN ACE kinetic

Enzima convertidora de la angiotensina

Para uso diagnóstico *in vitro*

KK-ACK	26 mL sustrato
KK-ACK2	2 x 13 mL sustrato
KK-ACK4	4 x 26 mL sustrato
KK-ACKX	3 x 100 mL sustrato

Fecha de publicación: 2022-10-21
Version A1

 Fabricante

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Suiza
Tel.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

USO PREVISTO

BÜHLMANN ACE kinetic es un ensayo bioquímico de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) en muestras de suero. Usado conjuntamente con otros datos analíticos y manifestaciones clínicas, el ensayo ayuda a evaluar la actividad de la enfermedad en pacientes con sarcoidosis.

Solo para uso en laboratorio.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo es una prueba enzimática cuantitativa que puede adaptarse fácilmente en analizadores de química clínica o ejecutarse con un método manual. La ECA cataliza la conversión de la angiotensina I en angiotensina II. La enzima también interviene en la escisión del sustrato sintético furilacriloilfenilalanilglicilglicina (FAPGG) en el derivado aminoácido furilacriloilfenilalanina (FAP) y el dipéptido glicilglicina (GG). La cinética lineal de esta reacción de escisión se mide registrando la disminución de la absorbancia a 340 nm (ref. 1, 2). La actividad final de la ECA en U/L en la muestra del paciente se determina utilizando una curva de calibración generada a partir del valor del calibrador medido.

REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	Cantidad			Código	Preparación
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Substrato	1 vial/ 4 viales 26 mL	2 viales 13 mL	3 viales 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ²	Listo para usar
Calibrador ³	1 vial/ 2 viales	2 viales	3 viales	B-ACK-CA	Añadir 2 mL de agua desionizada
Controles ⁴ Normal y Alto	1x2 viales/ 2x2 viales	2x2 viales	3x2 viales	B-ACK-CONSET	Añadir 2 mL de agua desionizada

Tabla 1

¹ Códigos de pedido para KK-ACK2.

² Códigos de pedido para KK-ACKX.

³ Calibrador de la ECA liofilizado en una matriz de suero proteico con actividad específica del lote. Después de la reconstitución, dejar a 18-28 °C durante 15 minutos y mezclar bien antes de usar.

⁴ Controles normal y alto de la ECA liofilizados en una matriz de suero proteico con actividad específica del lote. Reconstituir durante 15 minutos a 18-28 °C y mezclar bien antes de usar.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS Y SOLUCIONES DE TRABAJO

Reactivos sin abrir	
Conservar a 2-8 °C. No utilizar el kit después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.	
Reactivos abiertos / reconstituidos	
Substrato	Conservar durante un máximo de 6 meses a entre 2 y 8 °C.
Calibrador	
Controles	
Estabilidad a bordo en analizadores de química clínica	
Conservar hasta 73 días a temperaturas ≤ 15 °C.	

Tabla 2

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Analizador de química clínica con filtro de 340 nm.
- Solo para el método manual:
 - Baño de agua para series de incubación a 37 °C
 - Pipetas de precisión: 25 µL, 100 µL and 1 mL
 - Espectrofotómetro con incubación a 37 °C

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este ensayo es solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Se recomienda que el ensayo sea manipulado solo por personal cualificado, de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Precauciones de seguridad

- En cuanto a las precauciones adecuadas para la eliminación de los reactivos del kit, recomendamos encarecidamente consultar con anterioridad la normativa local específica de su país.

Precauciones técnicas

- Leer atentamente las instrucciones antes de realizar la prueba. El funcionamiento de la prueba se verá afectado si los reactivos se diluyen o manipulan incorrectamente o se conservan en condiciones distintas a las descritas en estas instrucciones de uso.
- Los componentes no deben utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
- No se deben mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Asegurarse de que las muestras no tengan burbujas antes de realizar el ensayo.
- Equilibrar los controles, calibradores y muestras a la temperatura de conservación del analizador o, para el uso manual, a temperatura ambiente. Reconstituir los reactivos liofilizados como se indica. Mezclar bien los reactivos reconstituidos antes de utilizarlos.
- Evitar la evaporación de los controles.

OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Recoger la sangre en tubos de recogida de suero estándar y evitar la hemólisis. Para que el suero no sea lipémico, la sangre de los pacientes debe extraerse en ayunas. Preparar el suero siguiendo el procedimiento habitual del laboratorio. La preparación del suero también puede realizarse con tubos con gel separador (SST).

Se recomienda un mínimo de 200 µL de muestra de suero para la prueba. Consultar la nota de aplicación del instrumento para conocer el volumen exacto.

Conservación: Las muestras de suero pueden conservarse sin refrigeración (a temperaturas de hasta 28 °C) o a 2-8 °C durante 10 días. Para períodos de conservación más prolongados, mantenga las muestras a ≤-20 °C. Las muestras son estables durante al menos 7 meses a ≤-20 °C. No someter a más de cuatro (4) ciclos de congelación/descongelación.

PROCEDIMIENTO

Notas de aplicación / Instalación del ensayo

Los procedimientos de ensayo para BÜHLMANN ACE kinetic se han establecido en varios analizadores de química clínica. A petición del usuario, BÜHLMANN proporciona notas de aplicación validadas que describen la instalación y el análisis en instrumentos específicos. Para la configuración, mantenimiento y funcionamiento del instrumento y las precauciones a tomar, se debe tener en cuenta lo indicado en los manuales del instrumento correspondiente.

BÜHLMANN ACE kinetic también puede utilizarse con un método manual. BÜHLMANN proporcionará la descripción del procedimiento a petición del usuario.

Preparación de los reactivos

El sustrato está listo para ser utilizado. Transferir el volumen necesario a los frascos o cartuchos específicos del analizador.

Determinación de la curva de calibración

El calibrador incluido en el kit se utiliza para determinar una curva de calibración de dos puntos, conforme al manual del instrumento. Los valores del calibrador son específicos de cada lote. Se debe realizar una nueva calibración para cada nuevo lote. En caso contrario, deben realizarse calibraciones periódicas de acuerdo con las notas de aplicación específicas del instrumento. Consultar la hoja de datos de control de calidad incluida en el kit BÜHLMANN ACE kinetic para conocer los valores del calibrador asignados. Contactar con el servicio técnico de BÜHLMANN si la calibración no puede realizarse correctamente.

Controles de calidad

Los controles incluidos deben valorarse cada día antes de analizar las muestras de los pacientes para validar la curva de calibración. Los resultados de las muestras de los pacientes solo son válidos si los valores de control están dentro de los intervalos de valores indicados en la hoja de datos de control de calidad. Si los valores de los controles no son válidos, repetir la medición con nuevos controles. Si los valores de los controles permanecen inválidos, recalibrar el ensayo. Si no se pueden reproducir valores válidos de los controles después de realizar los pasos descritos anteriormente, contactar con el servicio de asistencia de BÜHLMANN.

Resultados

Los resultados se calculan automáticamente en el analizador de química clínica y se presentan en in U/L.

ESTANDARIZACIÓN

- El calibrador BÜHLMANN ACE kinetic se utiliza para generar una curva de calibración de dos puntos. Los valores del calibrador se asignan utilizando un método espectrofotométrico UV/VIS y un $\Delta\epsilon$ definido del sustrato de FAPGG. Los valores se indican en la hoja de datos de control de calidad. El material del calibrador comprende ECA de suero de roedor en una matriz tampón. El intervalo de confianza del 95% de la incertidumbre combinada del calibrador del producto es inferior al 5,0%.
- El intervalo analítico de medición del ensayo ACE kinetic, determinado en el instrumento Roche cobas® 6000 c 501, es de 11,3-200 U/L y puede ampliarse hasta 500 U/L, utilizando los programas de repetición automática disponibles en los analizadores de química clínica.

LIMITACIONES

- Los resultados del ensayo deben ser interpretados en combinación con la información derivada de la evaluación clínica del paciente y los otros procedimientos diagnósticos.
- La actividad sérica de la ECA depende en gran medida del genotipo del paciente estudiado (ref. 3). Los resultados deben evaluarse en el contexto de los resultados previos obtenidos con BÜHLMANN ACE kinetic para el mismo paciente.
- El ensayo de actividad de la ECA no debe realizarse en pacientes tratados por hipertensión con inhibidores de la ECA como el benazepril (Lotensin), el captopril o el enalapril (Vasotec). No se ha detectado ninguna interferencia con los fármacos antihipertensivos que contienen bloqueadores de los receptores de la angiotensina II (antagonistas de la AT1): losartán y eprosartán.
- La hemólisis, la ictericia y la lipemia interfieren con el ensayo. Consulte la sección «Sustancias interferentes» para conocer los índices séricos.
- BÜHLMANN ACE kinetic está validado solo para muestras de suero. En caso de que las muestras se recojan incorrectamente en tubos con heparina de litio o citrato, el laboratorio decidirá si procesarlas (para más información, véase el apartado sobre muestras de plasma).
- El EDTA es un inhibidor de la actividad de la ECA. El plasma con EDTA no puede analizarse con el ensayo BÜHLMANN ACE kinetic.

INTERVALOS DE REFERENCIA

Adultos: Se estableció el siguiente intervalo de referencia para BÜHLMANN ACE kinetic sobre la base de los valores de los percentiles 2,5-97,5 obtenidos en participantes sanos inscritos en tres estudios independientes en Suiza ($n = 80$, edad: 20-70), Alemania ($n = 159$, edad: 18-64; ref. 3) y Estados Unidos ($n = 327$, edad: 16-77; ref. 4):

20-70 U/L

Niños: Se estableció el siguiente intervalo de referencia para BÜHLMANN ACE kinetic sobre la base de los valores de los percentiles 2,5-97,5 obtenidos en niños sanos inscritos en un único estudio en Alemania ($n = 84$, edad: 0,5-18):

33-112 U/L

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Salvo indicación contraria, la eficacia diagnóstica presentada se ha determinado en un instrumento Roche cobas® 6000 c 501. Consultar las notas de aplicación específicas del analizador de química clínica para conocer la eficacia diagnóstica en otros analizadores de química clínica.

Reproducibilidad: 6.3 - 9.1% CV

La reproducibilidad se determinó de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio de 3 instrumentos/lotes \times 5 días \times 5 réplicas. Se aplicó un criterio de aceptación del 15% CV y del 20% CV, para muestras superiores e inferiores a

40 U/L, respectivamente. Las pruebas se realizaron en 2 laboratorios, utilizando los instrumentos Roche c 501, Roche c 702 y Beckmann Coulter AU. Se analizaron seis (6) muestras de suero. Los resultados se presentan en la tabla 3.

Repetibilidad: 0,8 – 3,0% CV

Precisión dentro de un mismo laboratorio: 1,7 – 3,7% CV

La repetibilidad y la precisión dentro del laboratorio se determinaron de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio estandarizado de 20 días × 2 series × 2 repeticiones. Se aplicó un criterio de aceptación del 10% CV y del 15% CV para la repetibilidad y la precisión dentro del laboratorio, respectivamente, para las muestras superiores a 40 U/L. Para las muestras inferiores a 40 U/L, el criterio de aceptación fue del 20% CV. Se analizaron seis (6) muestras de suero. Los valores se presentan en la tabla 4.

Exactitud/recuperación: 92,0 – 112,8%

A seis (6) muestras de suero con valores de actividad de la ECA que abarcan el intervalo de medición de BÜHLMANN ACE kinetic se añadieron 20,5 U/L de ECA del calibrador. La adición se realizó al 10% del volumen de la muestra. A las «muestras de referencia» se añadió el volumen correspondiente de NaCl al 0,9%. Las «muestras de referencia» y las «muestras de referencia enriquecidas» se midieron por cuadruplicado (4). Los resultados se resumen en la tabla 5.

Arrastre de la muestra

El arrastre de la muestra se determinó de acuerdo con la norma EP10-A2 del CLSI. No se detectó ningún arrastre estadísticamente significativo con el ensayo ACE kinetic en el instrumento Roche cobas® 6000 c 501.

Límite de detección (LoD): 6,8 U/L

El LoD se determinó de acuerdo con la norma EP17-A2 del CLSI con el método clásico, el análisis paramétrico y un LoB de 4,3 U/L, determinado mediante un análisis no paramétrico.

Límite de cuantificación (LoQ): 11,3 U/L

El LoQ se determinó de acuerdo con la norma EP17-A2 del CLSI sobre la base de 60 determinaciones y un objetivo de precisión del 20% CV.

Intervalo de linealidad: 4,3 – 534,9 U/L

El intervalo de linealidad de BÜHLMANN ACE kinetic se determinó de acuerdo con la norma EP06-A del CLSI. Las muestras con una actividad superior a 150 U/L se volvieron a analizar automáticamente con un volumen de muestra inferior. La desviación máxima de la linealidad permitida fue de ±4 U/L o ±10%.

Zona de seguridad

Pueden medirse muestras con una actividad ECA teórica de hasta 541,2 U/L sin limitar el intervalo de medición del ensayo.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

La susceptibilidad del ensayo BÜHLMANN ACE kinetic a las sustancias interferentes se evaluó de acuerdo con la norma EP07-A2 del CLSI. Un sesgo mayor del 20% en los resultados se consideró una interferencia.

Medicamentos orales

No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias: aspirina (0,65 mg/mL), azatioprina (3,0 µg/mL), clorambucilo (7,2 µg/mL), ciclofosfamida (0,375 mg/mL), eprosartán (0,36 mg/mL), hidroxycloquina (hasta 0,06 mg/mL), ibuprofeno (0,5 mg/mL), losartán (0,09 mg/mL), metotrexato (2,0 µg/mL), prednisona (0,3 µg/mL).

Índices séricos

Se detectaron interferencias con las siguientes sustancias en las concentraciones indicadas: triglicéridos (2,24 mg/mL), bilirrubina conjugada (0,06 mg/mL), bilirrubina no conjugada (0,047 mg/mL) y hemoglobina (1,19 mg/mL). No se observó ninguna interferencia por parte de los triglicéridos cuando las muestras con turbidez se sometieron a una centrifugación corta (10 min / 12 000 x g) y a la separación del sobrenadante que contenía lípidos.

Muestras de plasma

Los resultados de las muestras de donantes de sangre sanos recogidas en tubos con heparina de litio y citrato se compararon con los resultados obtenidos con muestras de suero de los mismos donantes, recogidas según las instrucciones de uso. El sesgo se determinó mediante regresión lineal de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman. Los resultados se resumen en la tabla 6.

TABLAS Y FIGURAS

Reproducibilidad

ID	Actividad ECA Media [U/L]	n	Intraserial		Precisión entre días		Precisión entre lotes/instrumentos / operadores		Total	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12400	29,6	75	1,9	6,3%	0,0	0,0%	2,0	6,6%	2,7	9,1%
12401	46,9	75	1,5	3,3%	0,0	0,0%	3,3	7,1%	3,7	7,8%
12402	73,5	75	2,2	3,0%	0,0	0,0%	4,5	6,1%	5,0	6,8%
12403	121,5	75	4,0	3,3%	2,5	2,0%	6,1	5,0%	7,7	6,3%
12404	217,2	75	6,7	3,1%	5,6	2,6%	13,0	6,0%	15,7	7,2%
12405	310,3	75	13,6	4,4%	11,9	3,8%	11,4	3,7%	21,3	6,9%

Tabla 3

Precisión dentro de un mismo laboratorio:

ID	Actividad ECA Media [U/L]	n	Intraserial		Precisión interserial		Precisión entre días		Total	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
12850	28,2	80	0,9	3,0%	0,5	1,6%	0,4	1,3%	1,0	3,7%
12851	44,2	80	1,0	2,3%	0,3	0,8%	0,3	0,7%	1,1	2,5%
12852	68,5	80	1,0	1,5%	0,8	1,2%	0,7	1,0%	1,5	2,1%
12853	119,4	80	1,0	0,8%	1,4	1,1%	1,2	1,0%	2,0	1,7%
12854	213,9	80	3,0	1,4%	3,4	1,6%	2,3	1,1%	5,1	2,4%
12855	364,8	80	3,7	1,0%	5,2	1,4%	3,8	1,1%	7,4	2,0%

Tabla 4

Recuperación

Identificación de la muestra	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Valores de referencia [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Valor añadido [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Valor esperado [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Valor observado [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Recuperación total [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabla 5

Muestras de plasma

Matriz	N	Análisis de Bland-Altman			Análisis de regresión de Passing-Bablok		
		Sesgo medios (95% IC)	LoA superior (95% IC)	LoA inferior (95% IC)	Pen-diente (95% IC)	Ordenada en el origen (95% IC)	r
Plasma con heparina de litio	38	-1,1% (-4,5 a 2,3)	20,7% (14,9 a 26,6)	-23,0% (-28,8 a -17,1)	0,9 (0,8 a 1,0)	2,5 (0,2 a 5,4)	0,975
Plasma con citrato	44	-10,8% (-13,9 a -7,6)	8,1% (2,6 a 13,5)	-29,6% (-35,0 a -24,2)	0,8 (0,8 a 0,9)	1,7 (-0,7 a 4,4)	0,990

Tabla 6

REFERENCIAS

1. Ronca-Testoni S.: Direct spectrophotometric assay for angiotensin-converting enzyme in serum. *Clin Chem* 29, 1093-1096 (1983).
2. Bénétteau B. and Baudin B. et al.: Automated kinetic assay of angiotensin-converting enzyme in serum. *Clin Chem* 32, 884-886 (1986).
3. Biller H, Zissel G, Müller-Quernheim J et al.: Genotype-corrected reference values for serum angiotensin-converting enzyme. *Eur Respir J* 28, 1085-90 (2006).
4. Chen, S. X., Hermelin, D. & Weintraub, S. J. Possible donor-dependent differences in efficacy of fresh frozen plasma for treatment of ACE inhibitor–induced angioedema. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **7**, 2087–2088 (2019).

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

DAÑOS DURANTE EL TRANSPORTE

Notificar al distribuidor si este producto se ha recibido dañado.

SÍMBOLOS

BÜHLMANN utiliza los símbolos y signos enumerados y descritos en la norma ISO 15223-1. Además, se utilizan los siguientes símbolos y signos:

Símbolo	Explicación
Control N	Control Normal
Control H	Control Alto
CAL	Calibrador
SUBS	Substrato

