



BÜHLMANN ACE kinetic

Angiotensin konvertující enzym

Pro In Vitro diagnostiku

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

Poslední revize: 2022-10-21
Verze A1



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

URČENÉ POUŽITÍ

BÜHLMANN ACE kinetic je *in vitro* diagnostický biochemický test pro kvantitativní stanovení aktivity angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE) ve vzorcích séra. Test pomáhá při hodnocení aktivity onemocnění u pacientů se sarkoidózou ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy.

Pouze pro laboratorní použití.

PRINCIP ANALÝZY

Jedná se o kvantitativní enzymatický test, který lze snadno použít na analyzátoch klinické chemie nebo provést manuální metodou. ACE katalyzuje přeměnu angiotenzinu I na angiotenzin II. Enzym také zprostředkovává štěpení syntetického substrátu furylakryloylfenylalanylglycylglycinu (FAPGG) na derivát aminokyseliny fylakryloylfenylalaninové (FAP) a dipeptid glycylglycinu (GG). Lineární kinetika této štěpné reakce se měří zaznamenáváním poklesu absorbance při 340 nm (viz 1, 2). Konečná aktivita ACE v U/L ve vzorku pacienta se stanoví pomocí kalibrační křivky vytvořené z naměřené hodnoty kalibrátoru.

DODÁVANÉ REAGENCIE

Reagencie	Množství			Kat.č.	Komentáře
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Substrát	1 vialka/ 4 vialky 26 mL	2 vialky 13 mL	3 vialky 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ²	Připraveno k použití
Kalibrátor³	1 vialka/ 2 vialky	2 vialky	3 vialky	B-ACK-CA	Přidat 2 mL deionizovanou vody
Kontroly⁴ normální a vysoké	1x2 vialky/ 2x2 vialky	2x2 vialky	3x2 vialky	B-ACK- CONSET	Přidat 2 mL deionizovanou vody

Tabulka 1

¹ Kat.č. pro KK-ACK2.

² Kat.č. pro KK-ACKX.

³ Lyofilizovaný kalibrátor ACE v matrici proteinového séra s aktivitou specifickou pro danou šarži. Po rekonstituci nechte 15 minut při teplotě 18-28 °C a před použitím dobře promíchejte.

⁴ Lyofilizované ACE normální a vysoké kontroly v matrici proteinového séra s aktivitou specifickou pro danou šarži. Rekonstituujte 15 minut při teplotě 18-28 °C a před použitím dobře promíchejte.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ A PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Neotevřené reagencie	
Skladujte při 2-8 °C. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.	
Otevřené/ rekonstituované reagencie	
Substrát	Skladujte až 6 měsíců při 2-8 °C.
Kalibrátor	
Kontroly	
Stabilita na palubě analyzátorů klinické chemie	
Skladujte až 73 dní při teplotě ≤ 15 °C.	

Tabulka 2

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ

- Analyzátor klinické chemie s filtrem 340 nm.
- Pouze manuální metoda:
 - Vodní lázeň nastavená na 37 °C
 - Přesné pipety 25 µL, 100 µL a 1 mL
 - Spektrofotometr s inkubací při teplotě 37 °C

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Tento test je určen pouze pro *in vitro* diagnostiku.
- Doporučuje se, aby test prováděl kvalifikovaný personál v souladu se správnou laboratorní praxí (SLP).

Bezpečnostní opatření

- Nepoužitý roztok by měl být zlikvidován v souladu s místními předpisy.

Technická opatření

- Před provedením testu si pečlivě přečtěte pokyny. Pokud jsou reagenty nesprávně naředěny, je s nimi nesprávně manipulováno nebo jsou skladovány za jiných podmínek, než je uvedeno v tomto návodu k použití, bude to mít nepříznivý vliv na výsledky testu.
- Komponenty se nesmí používat po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.
- Nemíchejte různé šarže reagentů.
- Před provedením testu se ujistěte, že vzorky neobsahují bublinky.
- Reagenty, kontrolní látky, kalibrátory a vzorky je třeba ekvilibrovat při skladovací teplotě analyzátoru nebo při ručním použití při pokojové teplotě. Lyofilizované reagenty rekonstituujte podle pokynů. Před použitím rekonstituované reagenty dobře promíchejte.
- Zabraňte odpařování kontrol.

ODBĚR VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Krev odebírejte do standardních zkumavek pro odběr séra a zabraňte hemolýze. Abyste se vyhnuli lipemickému séru, odebírejte krev pacientům nalačno. Sérum připravte podle standardního postupu vaší laboratoře. Přípravu séra lze také provádět pomocí gelových separačních zkumavek (SST).

Pro test se doporučuje minimálně 200 µL vzorku séra. Přesný objem je uveden v aplikační poznámce k přístroji.

Skladování: Vzorky séra lze skladovat v nechlazeném stavu (při teplotě do 28 °C) nebo při teplotě 2-8 °C po dobu 10 dnů. Pro delší skladování uchovávejte vzorky při teplotě ≤ -20 °C. Vzorky jsou stabilní nejméně 7 měsíců při teplotě ≤ -20 °C. Je třeba se vyhnout více než čtyřem (4) cyklům zmrazení/rozmrázení.

POSTUP TESTU

Aplikační poznámky / instalace testu

Postupy stanovení pro BÜHLMANN ACE kinetic jsou stanoveny na několika analyzátoch klinické chemie. Ověřené aplikační poznámky popisující instalaci a analýzu na konkrétních přístrojích jsou na vyžádání k dispozici u společnosti BÜHLMANN. Pro nastavení,

údržbu, obsluhu a bezpečnostní opatření je třeba vzít v úvahu příslušné příručky k přístrojům.

BÜHLMANN ACE kinetic lze použít i ruční metodou. Popis postupu je na vyžádání k dispozici u společnosti BÜHLMANN.

Příprava reagentů

Substrát je připraven k použití. Přeneste potřebný objem do lahvíček/kazet určených pro analyzátor.

Stanovení kalibrační křivky

Kalibrátor, který je součástí sady, se používá k sestavení dvoubodové kalibrační křivky podle návodu k přístroji. Hodnoty kalibrátoru jsou specifické pro danou šarži. Pro každou novou šarži je třeba provést novou kalibraci. Jinak je třeba provádět pravidelné kalibrace podle aplikačních poznámek pro konkrétní přístroj. Hodnoty přiřazených kalibrátorů naleznete v listu s údaji o kontrole kvality dodaném se soupravou BÜHLMANN ACE kinetic. Pokud nelze kalibraci provést bez chyby, kontaktujte podporu společnosti BÜHLMANN.

QC kontroly

Příložené kontroly by měly být testovány každý den před testováním vzorků pacientů, aby se validovala kalibrační křivka. Kontrolní měření musí být v rozmezí hodnot uvedených v listu s údaji o kontrole kvality, aby bylo možné získat platné výsledky pro vzorky pacientů. Pokud kontrolní hodnoty nejsou platné, opakujte měření s novými kontrolami. Pokud kontrolní hodnoty zůstávají neplatné, proveďte rekalibraci testu. Jestliže se po provedení výše popsaných kroků nepodaří získat platné kontrolní hodnoty, obraťte se na podporu společnosti BÜHLMANN.

Výsledky

Výsledky se počítají automaticky na analyzátoru klinické chemie a jsou uváděny v U/L.

STANDARDIZACE

- BÜHLMANN ACE kinetic se používá k vytvoření dvoubodové kalibrační křivky. Hodnoty kalibrátoru jsou přiřazeny pomocí UV/VIS spektrofotometrické metody a definovaného $\Delta\epsilon$ substrátu FAPGG. Hodnoty jsou uvedeny v listu s údaji o kontrole kvality. Kalibrační materiál obsahuje ACE ze séra hlodavců v matrici pufru. 95% interval spolehlivosti kombinované nejistoty kalibrátoru produktu je nižší než 5,0%.
- Analytický interval měření kinetického testu ACE, stanovený na přístroji Roche cobas® 6000 c501, je 11,3 – 200 U/L a lze jej dále prodloužit až na 500 U/L pomocí programů automatického opakování, které jsou k dispozici na analyzátoch klinické chemie.

OMEZENÍ

- Výsledky testů by měly být interpretovány ve spojení s informacemi dostupnými z klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických postupů.
- Sérová aktivita ACE silně závisí na genotypu vyšetřovaných pacientů (viz 3). Výsledky by měly být přezkoumány v kontextu předchozích kinetických výsledků BÜHLMANN ACE kinetic získaných pro pacienta.
- Testování aktivity ACE by nemělo být prováděno u pacientů léčených na hypertenzi inhibitory ACE, jako jsou benazepril (Lotensin), kaptopril, enalapril (Vasotec) a další). U antihypertenziv obsahujících blokátory receptorů

pro angiotenzin II (AT1-antagonisté) nebyla zjištěna žádná interference: Losartan a Eprosartan.

- Hemolýza, ikterus a lipémie ovlivňují stanovení. Sérové indexy viz oddíl "Interferující látky".
- BÜHLMANN ACE kinetic je validován pouze pro vzorky séra. Je na rozhodnutí laboratoře, zda budou zpracovány vzorky nesprávně odebrané do lithium-heparinových nebo citrátových zkumavek (další informace naleznete v části Vzorky plazmy).
- EDTA je inhibitor aktivity ACE. Plazmu s EDTA nelze použít pro kinetický test BÜHLMANN ACE BÜHLMANN ACE kinetic.

REFERENČNÍ INTERVALY

Dospělí: Následující referenční interval byl stanovený pro BÜHLMANN ACE kinetic na základě hodnot 2,5. - 97,5. percentilu získaných u zdravých účastníků zařazených do tří nezávislých studií ve Švýcarsku (n=80, věk: 20 - 70 let), Německu (n=159, věk: 18 - 64 let, viz 3) a USA (n=327, věk: 16 - 77 let, viz 4):

20 – 70 U/L

Děti: Následující referenční interval byl stanovený pro BÜHLMANN ACE kinetic na základě hodnot 2,5. - 97,5. percentilu získaných u zdravých dětských účastníků zařazených do jediné studie v Německu (n=84, věk: 0,5 - 18 let)

33 – 112 U/L

CHARAKTERISTIKY PROVEDENÍ

Pokud není uvedeno jinak, byly prezentované výkonnostní charakteristiky stanoveny na přístroji Roche cobas® 6000 c501. Výkonnostní charakteristiky na jiných analyzátoch klinické chemie jsou uvedeny v aplikačních poznámkách k analyzátorům klinické chemie.

Reprodukovatelnost: 6,3 – 9,1% CV

Reprodukovatelnost byla stanovena podle pokynu CLSI EP05-A3 s použitím plánu studie 3 přístroje/šarže x 5 dní x 5 opakování. Bylo použito kritérium přijatelnosti 15% CV a 20% CV pro vzorky nad a pod 40 U/L. Testování bylo provedeno ve 2 laboratořích s použitím přístrojů Roche c501, Roche c702 a Beckmann Coulter AU. Testováno bylo šest (6) vzorků séra. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3.

Opakovatelnost: 0,8 – 3,0% CV

Přesnost v rámci laboratoře: 1,7 – 3,7% CV

Opakovatelnost a přesnost v rámci laboratoře byly stanoveny podle pokynu CLSI EP05-A3 za použití standardizovaného plánu studie 20 dní x 2 série x 2 opakování. Bylo použito kritérium přijatelnosti 10% CV a 15% CV pro opakovatelnost a vnitrolaboratorní přesnost pro vzorky nad 40 U/L. Pro vzorky pod 40 U/L bylo přijatelné kritérium 20% CV. Bylo testováno šest (6) vzorků séra. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

Přesnost / obnovitelnost: 92,0 – 112,8%

Šest (6) vzorků séra s hodnotami aktivity ACE pokrývajícími kinetický rozsah měření BÜHLMANN ACE bylo obohaceno o 20,5 U/L ACE získaného z kalibrátoru. Spikování bylo provedeno v 10% objemu vzorku. "Základní" vzorky byly doplněny odpovídajícím

objemem 0,9% NaCl. Vzorky "základní" a "základní + spike" byly měřeny ve čtyřech (4) opakováních. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 5.

Přenos vzorků

Přenos vzorku byla stanovena podle pokynu CLSI EP10-A2. Nebyl zjištěn žádný statisticky významný přenos s kinetickým testem ACE na přístroji Roche cobas® 6000 c501.

Mez detekce (LoD): 6,8 U/L

LoD byla stanovena podle pokynu CLSI EP17-A2 za použití klasického přístupu, parametrické analýzy a LoB 4,3 U/L, stanovené pomocí neparametrické analýzy.

Mez kvantifikace (LoQ): 11,3 U/L

LoQ byla stanovena podle pokynu CLSI EP17-A2 na základě 60 stanovení a cíle přesnosti 20% CV.

Lineární rozsah: 4,3 – 534,9 U/L

Lineární rozsah BÜHLMANN ACE kinetic byl stanoven podle směrnice CLSI EP06-A. Vzorky s aktivitou vyšší než 150 U/L byly automaticky opakovaně odebrány za použití zmenšeného objemu vzorku. Byla povolena maximální odchylka od linearity ± 4 U/L nebo $\pm 10\%$.

Bezpečnostní zóna

Vzorky s teoretickou aktivitou ACE až 541,2 U/L lze měřit bez omezení měřicího rozsahu testu.

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Citlivost testu BÜHLMANN ACE kinetic na rušivé látky byla hodnocena podle pokynu CLSI EP07-A2. Za interferenci se považovalo zkreslení výsledků přesahující 20%.

Perorální léčiva

Nebyla zjištěna žádná interference s následujícími látkami; Aspirin (0,65 mg/mL), Azathioprine (3,0 μ g/mL), Chlorambucil (7,2 μ g/mL), Cyclophosphamide (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hydroxychloroquine (až do 0.06 mg/mL), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Methotrexate (2,0 μ g/mL), Prednisone (0,3 μ g/mL).

Sérové indikátory

Interference byla zjištěna u následujících látek v uvedených koncentracích: triglyceridy (2,24 mg/mL), konjugovaný bilirubin (0,06 mg/mL), nekonjugovaný bilirubin (0,047 mg/mL) a hemoglobin (1,19 mg/mL). U zakalených vzorků nebyly po krátké centrifugaci (10 min / 12.000 x g) a separaci supernatantu obsahujícího lipidy pozorovány žádné interference způsobené přítomností triglyceridů.

Vzorky plazmy

Výsledky vzorků od zdravých dárců krve odebraných do zkumavek s lithium-heparinem a citrátem byly porovnány s výsledky získanými ze vzorků séra od stejných dárců odebraných podle návodu k použití. Odchylka byla stanovena pomocí Passing-Bablokovy lineární regrese a Bland-Altmanovy analýzy. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 6.

TABULKY A OBRÁZKY

Reprodukovatelnost

ID	Prům. ACE aktivita [U/L]	n	V rámci běhu		Mezi dny		Mezi šaržemi/ přístroji		Celkem	
			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%

Tabulka 3

Přesnost v rámci laboratoře

ID	Prům. ACE aktivita [U/L]	n	V rámci běhu		Mezi běhy		Mezi dny		Celkem	
			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%

Tabulka 4

Obnovitelnost

Vzorek ID	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Zákl.hodnota [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Spike hodnota [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Očekávaná hodnota [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Zjištěná hodnota [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Obnovitelnost celkem [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabulka 5

Vzorky plazmy

Matrix	N	Bland-Altman analýza			Passing-Bablok regresní analýza		
		Prům. odchylka (95% CI)	Vyšší LoA (95% CI)	Nižší LoA (95% CI)	Směrnice (95% CI)	Posunutí (95% CI)	r
Lithium-heparin plazma	38	-1,1% (-4,5 na 2,3)	20,7% (14,9 na 26,6)	-23,0% (-28,8 na -17,1)	0,9 (0,8 na 1,0)	2,5 (0,2 na 5,4)	0,975
Citrátová plazma	44	-10,8% (-13,9 na -7,6)	8,1% (2,6 na 13,5)	-29,6% (-35,0 na -24,2)	0,8 (0,8 na 0,9)	1,7 (-0,7 na 4,4)	0,990

Tabulka 6

LITERATURA

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).

HLÁŠENÍ INCIDENTŮ V ČLENSKÝCH STÁTECH EU

Pokud se v souvislosti s tímto prostředkem vyskytne jakákoli závažná událost, neprodleně ji nahlaste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

POŠKOZENÍ ZÁSILKY

Pokud jste tento výrobek obdrželi poškozený, oznamte to prosím svému distributorovi.

SYMBOLY

BÜHLMANN používat symboly a značky uvedené a popsané v normě ISO 15223-1. Kromě toho se používají tyto symboly a značky:

Symboly	Vysvětlení
Control N	Kontrola normální
Control H	Kontrola vysoká
CAL	Kalibrátor
SUBS	Substrát

