



BÜHLMANN ACE kinetic

Angiotensin-konvertierendes Enzym

Für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik

KK-ACK	26 mL Substrat
KK-ACK2	2x13 mL Substrat
KK-ACK4	4x 26 mL Substrat
KK-ACKX	3x 100 mL Substrat

Freigabedatum: 2022-10-21
Version A1

VERWENDUNGSZWECK

Der BÜHLMANN ACE kinetic ist ein biochemischer *In-vitro*-Diagnosteset zur quantitativen Bestimmung der Aktivität des Angiotensin-konvertierenden Enzyms (ACE) in Serumproben. Der Test hilft bei der Beurteilung der Krankheitsaktivität bei Patienten mit Sarkoidose in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden.

Nur für den Laborgebrauch.

TESTPRINZIP

Bei dem Test handelt es sich um einen quantitativen enzymatischen Test, der einfach auf klinisch-chemischen Analysegeräten oder manuell durchgeführt werden kann. ACE katalysiert die Umwandlung von Angiotensin I in Angiotensin II. Das Enzym spaltet auch das synthetische Substrat Furylacryloylphenylalanyl-glycylglycin (FAPGG) in das Aminosäurederivat Furylacryloylphenylalanin (FAP) und das Dipeptid Glycylglycin (GG). Die lineare Kinetik dieser enzymatischen Spaltung wird anhand der Abnahme der Absorption bei 340 nm erfasst (Ref. 1, 2). Die endgültige ACE-Aktivität in U/L in der Patientenprobe wird mithilfe der Kalibrierkurve ermittelt, die anhand der gemessenen Kalibratoren erstellt worden ist.

MITGELIFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	Inhalt			Art.-Nr.	Vorbereitung
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Substrat	1 Fläschchen/ 4 Fläschchen 26 mL	2 Fläschchen 13 mL	3 Fläschchen 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2- SUB ¹ B-ACKX- SUB ²	Gebrauchsfertig
Kalibrator³	1 Fläschchen / 2 Fläschchen	2 Fläschchen	3 Fläschchen	B-ACK-CA	2 mL deionisiertes Wasser hinzufügen
Kontrolle⁴ Normal und Hoch	1x2 Fläschchen / 2x2 Fläschchen	2x2 Fläschchen	3x2 Fläschchen	B-ACK- CONSET	2 mL deionisiertes Wasser hinzufügen

Tabelle 1

- ¹ Art.-Nr. für KK-ACK2.
- ² Art.-Nr. für KK-ACKX.
- ³ Lyophilisierter ACE-Kalibrator in einer Protein-Serum-Matrix mit chargenspezifischer Aktivität. Nach der Rekonstitution 15 Minuten bei 18-28 °C stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.
- ⁴ Lyophilisierte ACE-Normal- und Hochkontrollen in einer Protein-Serum-Matrix mit chargenspezifischer Aktivität. Nach Rekonstitution 15 Minuten bei 18-28 °C stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.

LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN UND ARBEITSLÖSUNGEN

Nicht geöffnete Reagenzien	
Bei 2-8 °C aufbewahren. Die Reagenzien nicht über das Verfallsdatum hinaus, das auf den Etiketten aufgedruckt ist, verwenden.	
Geöffnete / Rekonstituierte Reagenzien	
Substrat	Bis zu 6 Monate bei 2-8 °C aufbewahren.
Kalibrator	
Kontrollen	
Stabilität auf dem Analysegerät für die klinische Chemie	
Bis zu 73 Tage bei Temperaturen ≤ 15 °C aufbewahren.	

Tabelle 2

ERFORDERLICHE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

- Klinisch-chemisches Analysegerät mit 340-nm-Filter
- Nur manuelles Verfahren:
 - Wasserbad bei 37°C
 - Präzisionspipetten für 25 µL, 100 µL and 1 mL
 - Spektrophotometer mit Temperierbarkeit bei 37 °C

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Dieser Test ist nur für den *In-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Der Test sollte durch qualifiziertes Personal gemäss Good Laboratory Practice (GLP) gehandhabt werden.

Sicherheitsmassnahmen

- Ungebrauchte Lösungen sollten gemäss der gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Technische Vorsichtsmassnahmen

- Vor der Durchführung des Tests die Anweisungen sorgfältig durchlesen. Die Testleistung wird negativ beeinflusst, wenn Reagenzien unsachgemäss verdünnt, gehandhabt oder unter anderen Bedingungen als in dieser Bedienungsanleitung beschrieben gelagert werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Mischen Sie nicht Reagenzien verschiedener Kit lots.
- Vor der Durchführung des Tests muss sichergestellt werden, dass die Proben keine Blasen enthalten.
- Reagenzien, Kontrollen, Kalibratoren und Proben bei Lagertemperatur des Analysegerätes oder bei manueller Verwendung bei Raumtemperatur äquilibrieren. Lyophilisierte Reagenzien wie angegeben rekonstituieren. Rekonstituierte Reagenzien vor dem Gebrauch gut mischen.
- Das Verdampfen der Kontrollen ist zu vermeiden.

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG

Blut in Standard-Serumröhrchen sammeln und Hämolyse vermeiden. Um lipämische Seren zu vermeiden, sollte das Blut von nüchternen Patienten entnommen werden. Das Serum nach dem Standardverfahren Ihres Labors aufbereiten. Die Serumaufbereitung kann auch mit Gelröhrchen (SST) erfolgen.

Es wird empfohlen, mindestens 200 µL Serumprobe für den Test zu verwenden. Das genaue Volumen ist dem Anwendungshinweis des Geräts zu entnehmen.

Lagerung: Serumproben können ungekühlt (Temperaturen bis zu 28 °C) oder bei 2 – 8 °C für 10 Tage aufbewahrt werden. Bei längerer Lagerung die Proben bei ≤-20 °C aufbewahren. Die Proben sind bei ≤-20 °C mindestens 7 Monate stabil. Mehr als vier (4) Einfrier/ Auftau-Zyklen sollten vermieden werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Applikationsprotokolle / Installation des Tests

Die Testdurchführungen für den BÜHLMANN ACE kinetic wurden auf mehreren klinisch-chemischen Analysegeräten etabliert. Validierte Applikationsprotokolle, die die Installation und Analyse auf den jeweiligen Geräten beschreiben, sind bei BÜHLMANN auf Anfrage erhältlich. Entsprechende Gerätehandbücher müssen zum Einrichten des Geräts, der Wartung, der Bedienung und für Vorsichtsmassnahmen herangezogen werden.

BÜHLMANN ACE kinetic kann auch mit einem manuellen Verfahren verwendet werden. Die Verfahrensbeschreibung wird auf Anfrage von BÜHLMANN zur Verfügung gestellt.

Vorbereiten der Reagenzien

Das Substrat ist gebrauchsfertig. Erforderliches Volumen in die spezifischen Flaschen/Kassetten des Analysegeräts überführen.

Erstellung der Kalibrierkurve

Der im Kit enthaltene Kalibrator wird zum Erstellen einer Zwei-Punkt-Kalibrierkurve gemäss dem Gerätehandbuch verwendet. Kalibratorwerte sind chargenspezifisch. Für jede neue Charge muss erneut eine Kalibrierung durchgeführt werden. Ansonsten sollte die Kalibrierung gemäss den gerätespezifischen Anwendungshinweisen vorgenommen werden. Angaben zu den festgelegten Kalibratorwerten sind im beiliegenden QC-Datenblatt des BÜHLMANN ACE kinetic-Kits aufgeführt. Falls die Kalibrierung nicht fehlerfrei durchgeführt werden kann, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von BÜHLMANN.

QC-Kontrollen

Die beiliegenden Kontrollen sollten zur Validierung der Kalibrierkurve täglich vor der Messung der Patientenproben geprüft werden. Die Kontrollwerte müssen innerhalb des Wertebereichs liegen, der im QC-Datenblatt angegeben ist, um gültige Ergebnisse für die Patientenproben zu erhalten. Wenn die Kontrollwerte nicht valide sind, ist die Messung mit frischen Kontrollen zu wiederholen. Wenn die Kontrollwerte weiterhin nicht valide sind, bitte den Test erneut kalibrieren. Nehmen Sie Kontakt mit dem Support von BÜHLMANN auf, falls die Kontrollwerte nicht reproduzierbar sind.

Ergebnisse

Das Analysegerät berechnet die Ergebnisse automatisch und gibt sie in U/L an.

STANDARDISIERUNG

- Der BÜHLMANN ACE kinetic Kalibrator wird zum Erstellen einer Zwei-Punkt-Kalibrierkurve verwendet. Die Kalibrierwerte werden mit Hilfe einer UV/VIS-spektrophotometrischen Methode und einem definierten $\Delta\epsilon$ des FAPGG-Substrats bestimmt. Die Daten sind im QC-Datenblatt aufgeführt. Das Kalibriermaterial umfasst standardisiertes ACE aus Nagerserum in einer Serumpuffermatrix. Das 95%-Konfidenzintervall der kombinierten Abweichung des Kalibrators liegt unter 5,0%.
- Das analytische Messintervall des kinetischen ACE-Tests, das auf dem Roche cobas® 6000 c501 Gerät etabliert ist, beträgt 11,3 - 200 U/L und kann durch eine automatische Verdünnung, die auf klinisch-chemischen Analysegeräten verfügbar ist, auf 500 U/L erweitert werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die Testergebnisse sollten zusammen mit Informationen, die aus der klinischen Beurteilung des Patienten und anderer diagnostischer Verfahren verfügbar sind, interpretiert werden.
- Die ACE-Aktivität im Serum hängt stark vom Genotyp der untersuchten Patienten ab (Ref. 3). Die Ergebnisse sollten im Zusammenhang mit früheren kinetischen BÜHLMANN ACE-Ergebnissen für den Patienten überprüft werden.
- ACE-Aktivitätstests sollten nicht bei Patienten durchgeführt werden, die wegen Bluthochdruck mit ACE-Hemmern wie Benazepril (Lotensin), Captopril, Enalapril (Vasotec) behandelt werden. Bei blutdrucksenkenden Medikamenten, die Angiotensin-II-Rezeptorblocker (AT1-Antagonisten) enthalten, wurden keine Interferenzen festgestellt: Losartan und Eprosartan.
- Hämolyse, Ikterus und Lipämie stören den Test. Siehe Abschnitt "Störsubstanzen" für Serum-Indizes.
- Der BÜHLMANN ACE kinetic ist nur für Serumproben validiert. Es liegt im Ermessen des Labors, ob auch in Lithium-Heparin- oder Citrat-Röhrchen gesammelte Proben verarbeitet werden (weitere Informationen sind dem Abschnitt Plasmaproben zu entnehmen).
- EDTA hemmt die ACE Aktivität. EDTA-Plasma kann nicht mit dem BÜHLMANN ACE kinetic Test verwendet werden.

REFERENZINTERVALLE

Erwachsene: Das folgende Referenzintervall wurde für den BÜHLMANN ACE kinetic auf der Grundlage von 2,5- bis 97,5-Perzentil-Werten ermittelt, die bei gesunden Teilnehmern in drei unabhängigen Studien ermittelt wurden; in der Schweiz (n=80, Alter: 20 - 70), Deutschland (n=159, Alter: 18 - 64, Ref. 3) und der USA (n= 327, Alter 16 - 77, Ref. 4):

20 – 70 U/L

Kinder: Das folgende Referenzintervall wurde für den BÜHLMANN ACE kinetic auf der Grundlage von 2,5- bis 97,5-Perzentil-Werten ermittelt, die für gesunde pädiatrische Teilnehmer in einer einzigen Studie in Deutschland ermittelt wurden (n=84, Alter: 0,5 - 18):

33 – 112 U/L

LEISTUNGSMERKMALE

Die dargestellten Leistungsmerkmale wurden auf einem Roche cobas® 6000 c501 Gerät ermittelt, sofern nicht anders angegeben. Für die Leistungsmerkmale auf anderen klinisch-chemischen Analysegeräten, siehe das Applikationsprotokoll für das jeweilige klinisch-chemische Analysegerät.

Reproduzierbarkeit: 6,3 – 9,1% CV

Die Reproduzierbarkeit wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP05-A3 mit dem Studiendesign „3 Geräte/Chargen x 5 Tage x 5 Replikate“ ermittelt. Es wurde ein Akzeptanzkriterium von 15% VK und 20% VK für Proben über bzw. unter 40 U/L angewendet. Die Tests

wurden an zwei Laborstandorten mit den Geräten Roche c501, Roche c702 und Beckmann Coulter AU durchgeführt. Sechs (6) Serumproben wurden geprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Wiederholbarkeit: 0,8 – 3,0% CV

Laborinterne Präzision: 1,7 – 3,7% CV

Die Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP05-A3 mit dem standardisierten Studiendesign 20 Tage x 2 Läufe x 2 Replikate ermittelt. Es wurde ein Akzeptanzkriterium von 10% VK und 15% VK für die Wiederholbarkeit bzw. die laborinterne Präzision für Proben über 40 U/L angewendet. Für Proben unter 40 U/L lag das Akzeptanzkriterium bei 20% VK. Sechs (6) Serumproben wurden geprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Genauigkeit / Wiederfindung: 92,0 – 112,8%

Sechs (6) Serumproben mit ACE-Aktivitätswerten, die den kinetischen Messbereich von BÜHLMANN ACE kinetic abdecken, wurden mit 20,5 U/L ACE aus Kalibriermaterial gespiked. Das Spiking wurde mit 10% des Probenvolumens durchgeführt. „Baseline“ Proben wurden mit dem entsprechenden Volumen 0,9%iger NaCl gespiked. Die „Baseline“ und „Baseline + Spike“ Proben wurden in vier (4) Replikaten gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Probenverschleppung

Die Probenverschleppung wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP10-A2 ermittelt. Auf dem Roche cobas® 6000 c501 Gerät wurde mit dem ACE Kinetiktest keine statistisch signifikante Probenverschleppung nachgewiesen.

Nachweisgrenze (LoD): 6,8 U/L

Die LoD wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP17-A2 mittels dem herkömmlichen Ansatz, parametrischer Analyse und einem LoB von 4,3 U/L, der mit nichtparametrischen Analyse bestimmt wurde, festgelegt.

Bestimmungsgrenze (LoQ): 11,3 U/L

Die LoQ wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP17-A2 basierend auf 60 Bestimmungen und einem Präzisionsziel von 20% VK ermittelt.

Linearitätsbereich: 4,3 – 534,9 U/L

Der Linearitätsbereich des BÜHLMANN ACE kinetic wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP06-A bestimmt. Proben mit einer Aktivität von über 150 U/L wurden automatisch mit einem reduzierten Probenvolumen erneut untersucht. Eine maximale Abweichung von der Linearität von ± 4 U/L oder $\pm 10\%$ war zulässig.

Sicherheitsbereich

Proben mit einer theoretischen ACE-Aktivität bis zu 541,2 U/L können ohne Begrenzung des Messbereichs des Tests gemessen werden.

STÖRSUBSTANZEN

Die Anfälligkeit des BÜHLMANN ACE kinetic-Tests für Störsubstanzen wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP07-A2 beurteilt. Eine Abweichung der Ergebnisse von mehr als 20% wurde als Störeinfluss betrachtet.

Orale Pharmazeutika

Bei den folgenden Substanzen wurde kein Störeinfluss nachgewiesen: Aspirin (0,65 mg/mL), Azathioprin (3,0 µg/mL), Chlorambucil (7,2 µg/mL), Cyclophosphamid (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hydroxychloroquin (bis zu 0,06 mg/mL), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Methotrexat (2,0 µg/mL), Prednison (0,3 µg/mL).

Serum-Indizes

Mit den folgenden Substanzen wurde bei der aufgeführten Konzentrationen ein Störeinfluss nachgewiesen: Triglyzeride (2,24 mg/mL), konjugiertes Bilirubin (0,06 mg/mL), unkonjugiertes Bilirubin (0,047 mg/mL) und Hämoglobin (1,19 mg/mL). Es wurde kein Störeinfluss durch Triglyzeride beobachtet, wenn Proben mit Trübung einer kurzen Zentrifugation (10 min / 12'000 x g) und Abtrennung des lipidhaltigen Überstandes unterzogen wurden.

Plasmaproben

Die Ergebnisse von Proben gesunder Blutspender, die in Lithium-Heparin- und Citrat-Röhrchen entnommen wurden, wurden mit den Ergebnissen von Serumproben derselben Spender verglichen, die gemäss der Gebrauchsanweisung entnommen wurden. Die Verzerrung wurde mithilfe der linearen Regression nach Passing-Bablok und der Bland-Altman-Analyse bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Reproduzierbarkeit

ID	Durchschnittliche ACE Aktivität [U/L]	n	Intra-Test		zwischen verschiedenen Tagen		zwischen verschiedenen Chargen/ Geräten		Gesamt	
			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%

Tabelle 3

Wiederholbarkeit/ Präzision innerhalb des Labors

ID	Durchschnittliche ACE Aktivität [U/L]	n	Intra-Test		zwischen verschiedenen Tests		Präzision zwischen verschiedenen Tagen		Gesamt	
			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%

Tabelle 4

Wiederfindung

Proben-ID	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Basiswert [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Spikewert [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Erwartungswert [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Gefundener Wert [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Gesamtwiederfindung [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabelle 5

Plasmaproben

Matrix	N	Bland-Altman Analyse			Regressionsanalyse nach Passing-Bablok		
		Durchschnittliche Abweichung (95% KI)	Obere LoA (95% KI)	Untere LoA (95% KI)	Steigung (95% KI)	Schnittpunkt (95% KI)	r
Lithium-Heparin-Plasma	38	-1,1% (-4,5 bis 2,3)	20,7% (14,9 bis 26,6)	-23,0% (-28,8 bis -17,1)	0,9 (0,8 bis 1,0)	2,5 (0,2 bis 5,4)	0,975
Citratplasma	44	-10,8% (-13,9 bis -7,6)	8,1% (2,6 bis 13,5)	-29,6% (-35,0 bis -24,2)	0,8 (0,8 bis 0,9)	1,7 (-0,7 bis 4,4)	0,990

Tabelle 6

REFERENZEN

1. Ronca-Testoni S.: Direct spectrophotometric assay for angiotensin-converting enzyme in serum. *Clin Chem* 29, 1093-1096 (1983).
2. Bénéteau 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).

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

SCHÄDEN BEIM VERSAND

Bitte informieren Sie Ihren Vertriebspartner, falls dieses Produkt beim Empfang beschädigt war.

SYMBOLE

BÜHLMANN verwendet Symbole und Zeichen, die in ISO 15223-1 aufgeführt und beschrieben sind. Darüber hinaus werden die folgenden Symbole und Zeichen verwendet:

Symbol	Bedeutung
Control N	Normalkontrolle
Control H	Kontrolle hoch
CAL	Kalibrator
SUBS	Substrat

