



BÜHLMANN ACE kinetic

Angiotenzin Konvertáló Enzim

In Vitro diagnosztikai használatra

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

Kiadási dátum: 2022-10-21
Verzió A1



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

JAVASOLT ALKALMAZÁS

BÜHLMANN ACE kinetic egy *in vitro* biokémiai diagnosztikai eljárás az angiotenzin konvertáló enzimaktivitás (ACE) mennyiségi kimutatására szérumbintákban. A módszer segít-más klinikai és laboratóriumi eredményekkel együtt- a szarkodiózisban érintett betegek betegségaktivitásának értékelésében.

Csak laboratóriumi felhasználásra.

A TESZT ELVE

A módszer egy kvantitatív enzimikus teszt, amely könnyen alkalmazható klinikai kémiai analizátorokon, vagy manuális módszerrel is futtatható. Az ACE katalizálja az angiotenzin I átalakulását angiotenzin II-vé. Az enzim közvetíti a furil-akrilil-phenil-alanil-glicil-glicin (FAPGG) szintetikus szubsztrát hasítását is firilakrilil-phenilalanin (FAP) aminosavszármazékká és glicil-glicin (GG) dipeptiddé. Ennek a hasítási reakciónak a lineáris kinetikáját az abszorbancia csökkenésének 340 nm-en történő rögzítésével mérik (1. és 2. hivatkozás). A betegmintában lévő végső ACE aktivitást a mért kalibrátorértékekből generált kalibrációs görbe segítségével határozhatja meg U/L-ben.

REAGENSEK AMIKET A KIT TARTALMAZ

Reagens	Mennyiség			Kód	Előkészítés
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Szubsztrát	1 fiola/ 4 fiola 26 mL	2 fiola 13 mL	3 fiola 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ²	Használatra kész
Kalibrátor ³	1 fiola/ 2 fiola	2 fiola	3 fiola	B-ACK-CA	Adjon hozzá 2 mL ionmentes vizet
Kontroll ⁴ Normál és Magas	1x2 fiola/ 2x2 fiola	2x2 fiola	3x2 fiola	B-ACK- CONSET	Adjon hozzá 2 mL ionmentes vizet

1. táblázat

¹ Rendelési kód a KK-ACK2-re

² Rendelési kód a KK-ACKX-ra

³ Liofilizált ACE kalibrátor proteinmátrixban, lot-specifikus aktivitással. Előkészítés után hagyja állni 15 percig 18-28°C-on, és felhasználás előtt jól keverje össze.

⁴ Liofilizált ACE normal és magas kontroll protein mátrixban, lot-specifikus aktivitással. Előkészítés után hagyja állni 15 percig 18-28°C-on, majd felhasználás előtt jól keverje össze.

REAGENSEK TÁROLÁSA ÉS ELTARTHATÓSÁGA, MUNKALDATOK

Bontatlan reagensek	
Tárolja 2-8°C-on. Ne használja a címkén feltüntetett időn túl.	
Felbontott / előkészített reagensek	
Szubsztrát	Legfeljebb 6 hónapig tárolható 2-8 °C-on.
Kalibrátor	
Kontrollok	
On-board stabilitás klinikai kémiai analizátorokon	
Legfeljebb 73 napig tárolható ≤ 15 °C-on.	

ANYAGOK, AMIKET A KIT NEM TARTALMAZ

- Klinikai kémiai analizátor 340 nm-es szűrővel.
- Csak manuális módszerrel:
 - 37 °C-os vízfürdő
 - Precíziós pipetták: 25 µL, 100 µL és 1 mL
 - Spektrofotométer 37 °C-os inkubátorral.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A teszt csak *in vitro* diagnosztikai felhasználásra alkalmas.
- Javasolt, hogy a tesztet csak képzett személy kezelje a Jó Laboratóriumi Gyakorlat (GLP) szabályai szerint.

Biztonsági óvintézkedések

- A fel nem használt oldatokat a helyi állami és szövetségi elírásoknak megfelelően kell megsemmisíteni.

Technikai figyelmeztetések

- Olvassa el figyelmesen az utasításokat, mielőtt hozzáfog a teszthez. A teszt teljesítményét hátrányosan befolyásolja, ha a reagenseket helytelenül hígítják, kezelik, vagy tárolják, az leírástól eltérő körülmények között.
- A komponenseket tilos használni a címkén feltüntetett lejárati idő túl.
- Ne keverje a különböző gyártási számú reagenseket.
- Győződjön meg róla, hogy a mintákban nincs buborék a futtatás során.
- Kérjük, ekvilibralja a reagenseket, kalibrátorokat, és mintákat az analizátor tárolási hőmérsékletére, ill. manuális módszer esetén szobahőre. Készítse elő a reagenseket a leírtak szerint. Az előkészített reagenseket felhasználás előtt jól keverje össze.
- Kerülje a kontrollok párolgását.

MINTAVÉTEL ÉS TÁROLÁS

Vegyen vért sima vérvételi csőbe, kerülje a hemolízist. Lipémiás szérum elkerülésére vegyék a vért éhgyomorral. Készítsék elő a szérumot a laboratóriumukban megszokott módon. A mintaelőkészítés történhet géles szeparáló (SST) csővel.

A teszthez legalább 200 µL szérumbintára van szükség. A pontos mennyiségért ld. a műszer applikációs feljegyzéseit.

Tárolás: a szérumbinták hűtés nélkül (egészen 28 °C-ig), vagy 2-8 °C-on 10 napig tarthatók el. Ennél hosszabb tárolásra tartsa a mintákat ≤-20 °C-on. E minták 7 hónapig stabilak. A négy-nél több fagyasztás/kiolvasztás ciklus kerülendő.

TESZTLEÍRÁS

Applikációs megjegyzések / a teszt telepítése

A BÜHLMANN ACE kinetic vizsgálat eljárását számos klinikai kémiai analizátorra kidolgozták.

Kérésre a BÜHLMANN-tól beszerezhető a konkrét műszerek telepítését és elemzését leíró validált alkalmazási leírat. A megfelelő kézikönyvbe leírtakat

figyelembe kell venni az adott műszer telepítése, karbantartása, működtetése, és az óvintézkedések során. BÜHLMANN ACE kinetic módszer manuális vizsgálatra is használható. A kidolgozott leírás szintén kérhető a BÜHLMANN ügyfélszolgálatától.

Reagensok előkészítése

A szubsztrát használatra kész. Töltse át a megfelelő mennyiséget az analizátor megfelelő palackjaiba/kazettáiba.

A kalibrációs görbe felvétele

A kitben lévő kalibrátor kétpontos kalibráció felvételére szolgál, a műszer kézikönyvében leírtaknak megfelelően. A kalibrátor értékek lot-specifikusak. Minden új lot esetén új kalibrációt kell felvenni. Egyéb esetben a kalibrálást a műszerspecifikus applikációs megjegyzésben leírtak szerint kell végrehajtani. A hozzárendelt értékeket a BÜHLMANN ACE kinetic reagenskészletben található QC adatlapon találja. Ha a kalibrálás nem hajtható végre hiba nélkül, forduljon a BÜHLMANN ügyfélszolgálatához.

QC kontrollok

A kitben lévő kontrollokat minden alkalommal meg kell határozni a kalibrációs görbe érvényesítése miatt mielőtt a páciensminták vizsgálatához kezd. A kontrolleredményeknek a QC adatlapon megadott értéktartományokon belül kell lenniük, hogy a betegmintákra értékelhető eredményeket biztosítson. Ha a kontrollminták eredményei nem érvényesek, a merest meg kell ismételni friss kontrollokkal. Ha az értékek továbbra sem elfogadhatóak, kalibrálja újra a tesztet. Ha az elfogadható kontrollértékek nem reprodukálhatók a fentebb leírt lépések után sem, vegye fel a kapcsolatot a BÜHLMANN ügyfélszolgálatával.

Eredmények

Az eredményeket a klinikai kémiai analizátorok automatikusan kiszámítják, és megadják U/L-ben.

STANDARDIZÁLÁS

- A BÜHLMANN ACE kinetic kalibrátora kétpontos kalibrációs görbe felvételéhez készült. A kalibrátorértékek hozzárendelése UV/VIS spektrofotometriás módszerrel történt, és a FAPGG szubsztrát $\Delta\epsilon$ értéke alapján lett meghatározva. A kapott értékeket a QC adatlap tartalmazza. A kalibrátor anyag rágcsálószerumból származó ACE-t tartalmaz puffermatrix-ban. A termékcalibrátor 95%-os kombinált bizonytalanságának intervalluma kisebb, mint 5%.
- A Roche cobas® 6000 c501 műszerrel megállapított analitikai méréstartomány 11,3 - 200 U/L, ami tovább növelhető 500 U/L-ig a kémiai analizátorokon elérhető re-run programnak köszönhetően.

A TESZT KORLÁTAI

- A teszteredményeket a beteg rendelkezésre álló klinikai adataival és egyéb diagnosztikai eljárás eredményeivel együtt kell értékelni.
- A szérum ACE aktivitása nagymértékben függ a vizsgált beteg genotípusától (ref. 3). Az eredmények áttekintésekor a BÜHLMANN ACE kinetic korábbi eredményeit is figyelembe kell venni.

- ACE aktivitás mérés nem végezhető azoknál a betegeknél, akik magas vérnyomását olyan ACE inhibitorokkal kezelik mint pl. a Benazepril (Lotensin), Captopril, Enalapril (Vasotec). Nem volt interferencia megállapítható angiotenzin II. receptorblokkoló (AT1-antagonista) vérnyomás-csökkentő szerekkel kapcsolatban: Losartan és Eprosartan.
- A hemolízis ikterusz és lipémia befolyásolja a teszt működését. A zavaró anyagok indexeit az Interferáló anyagok fejezetben találja.
- BÜHLMANN ACE kinetic tesztet csak szérumra validálták. A laboratórium döntése, hogy a tévesen lítium-heparinos vagy citrátos csöveket fel kell-e dolgozni. (További információ a Plazmaminták bekezdésben talál.)
- Az EDTA egy ACE aktivitás-inhibitor. EDTA-s plazma nem használható a BÜHLMANN ACE kinetic tesztel.

REFERENCIAÉRTÉKEK

Felnőttek: A következő referencia tartományokat határozták meg a BÜHLMANN ACE kinetic teszthez a 2,5 – 97,5 percentilis értékek alapján egészséges felnőtt részvevők tekintetében, három független vizsgálat alapján: Svájc (n=80, életkor: 20 - 70), Németország (n=159, életkor: 18 - 64, ref. 3.) és USA (n= 327, életkor: 16 - 77, ref. 4):

20 – 70 U/L

Gyermekek: A következő referencia tartományokat határozták meg a BÜHLMANN ACE kinetic teszthez a 2,5 – 97,5 percentilis értékek alapján egészséges gyermek részvevők tekintetében, egyetlen tanulmány alapján Németországban. (n=84, életkor: 0,5 - 18):

33 – 112 U/L

MŰKÖDÉSI JELLEMZŐK

A közölt teljesítményjellemzőket Roche cobas® 6000 c501 műszeren történő mérések alapján állapították meg, ha nincs más külön jelezve. A többi klinikai kémiai analizátor teljesítményjellemzőit a klinikai kémiai analizátorok alkalmazásspecifikus bejegyzéseiben találja.

Reprodukálhatóság: 6,3 – 9,1% CV

A reprodukálhatóságot a CLSI irányelveinek EP05-A3 bekezdése alapján állapították meg, egy 3 műszer/lotx 5 napx 5 párhuzamos mérési tanulmányterv szerint. Az elfogadhatósági kritérium 15% CV ill. 20% CV volt a 40 U/L feletti, ill. alatti mintákra. A reprodukálhatóságot a következők szerint vizsgálták: 2 laboratóriumi területen, ahol Roche c501, Roche c702 és Beckmann Coulter AU műszereket használtak. Hat (6) szérummintát vizsgáltak. Az eredményeket a 3. táblázatban ábrázolták.

Ismételhetőség: 0,8 – 3,0% CV

Laboratóriumon belüli pontosság: 1,7 – 3,7% CV

A reprodukálhatóságot a CLSI EP05-A3 irányelvei alapján állapították meg, egy 20 nap x 2 futtatás x 2 párhuzamos mérési modell alapján. az elfogadhatósági kritérium 10% CV ill. 15% CV volt az ismételhetőség, ill. laboratóriumon belüli pontosság tekintetében, amelyet a 40 U/L feletti mintáknál alkalmaztak. A 40 U/L alatti minták esetében az elfogadhatósági kritérium 20% volt. Hat (6) mintát vizsgáltak. Az eredményeket a 4. táblázatban adták meg.

Pontosság / Visszanyerés: 92,0 – 112,8%

Hat (6) ACE aktivitású szérummintát amelynek értéke lefedte a BÜHLMANN ACE kinetic mérésstartományát, kiegészítettek 20,5 U/L ACE kalibrátorból nyert anyaggal. A kiegészítő anyag mennyisége 10%-a volt a mintatérfogatoknak. Az "alapvonal" mintákat megegyező térfogatú 0,9%-os NaCl-dal egészítették ki. Az "Alapvonal", és "alapvonal+kiegészítő anyag" mintákat négy (4) párhuzamos mérésben határozták meg. Az eredményeket az 5. táblázatban foglalták össze.

Minta carry-over

A minta carry-over értékét a CLSI EP10-A2 irányelv alapján határozták meg. A Roche cobas® 6000 c501 műszer alkalmazásával az ACE kinetic teszt nem mutatott statisztikailag szignifikáns carry-over értéket.

Kimutathatósági határ (LoD): 6,8 U/L

Az LoD-t a CLSI EP17-A2 irányelv alapján, klasszikus megközelítéssel, parametrikus analízissel határozták meg, ahol a LoB 4,3 U/L volt, amelyet nem parametrikus analízissel mértek meg.

Mennyiségi határérték (LoQ): 11,3 U/L

Az LoQ-t a CLSI EP17-A2 irányelv szerint, 60 meghatározás, és 20% CV pontossági cél alapján adták meg.

Lineáris tartomány: 4,3 – 534,9 U/L

A BÜHLMANN ACE kinetic teszt lineáris tartományát CLSI EP06-A irányelv szerint határozták meg. A 150 U/L feletti aktivitású mintákat az automatikus re-run funkcióval, csökkentett térfogattal határozták meg. A megengedett linearitástól való legnagyobb eltérés ± 4 U/L vagy $\pm 10\%$ volt.

Biztonságos zóna

Akár 541,2 U/L elméleti ACE aktivitású minták is lemérhetők a teszt mérési tartományának korlátozása nélkül.

ZAVARÓ ANYAGOK

A BÜHLMANN ACE kinetic eljárás interferáló anyagokkal szembeni érzékenységét a CLSI EP07-A2. irányelveinek megfelelően értékelték. Az eredmények 20%-ot meghaladó torzítása interferenciának minősül.

Szájon át szedett gyógyszerek

Nem tapasztaltak interferenciát a következő anyagokkal: Aszpirin (0,65 mg/mL), Azatioprin (3,0 µg/mL), Klórambucill (7,2 µg/mL), Ciklofoszfamid (0,375 mg/mL), Eprozartán (0,36 mg/mL), Hidroklorokin (0,06 mg/mL-ig), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Lozartán (0,09 mg/mL), Metotrexát (2,0 µg/mL), Prednizon (0,3 µg/mL).

Szérumindexek

Interferencia volt tapasztalható a következő anyagokkal a megadott koncentrációkban: trigliceridek (2,24 mg/mL), konjugált bilirubin bilirubin (0,06 mg/mL), nem-konjugált bilirubin (0,047 mg/mL), és hemoglobin (1,19 mg/mL). Nem tapasztaltak interferenciát trigliceridekkel, amikor zavaros mintákat rövid ideig centrifugálásnak (10 percig / 12.000 x g) és a lipid-tartalmú felülúszó folyadék leválasztásának vetették alá.

Plazmaminták

Az egészséges véradóktól lítium-heparin- és citrátos csövekbe gyűjtött minták eredményeit összehasonlították az ugyanazon donoroktól származó, a használati utasítás

szerint gyűjtött szérumminták eredményeivel. A torzítást Passing-Bablok lineáris regresszióval és Bland-Altman analízissel határozták meg. Az eredményeket a 6. táblázat foglalja össze.

TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK

Reprodukálhatóság

ID	Átlag ACE aktivitás [U/L]	n	Futtatáson belül		Napok között		Loton belül/műszer		Összes	
			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%

3. táblázat

Laboratóriumon belüli pontosság

ID	Átlag ACE aktivitás [U/L]	n	Futtatáson belül		Futtatások között		Napok között		Összes	
			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%

4. táblázat

Visszanyerés

Mintaazonosító	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Alapérték [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Spike érték [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Elvárt érték [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Kapott érték [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Teljes visszanyerés [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

5. táblázat

Plazmaminták

Mátrix	N	Bland-Altman Analíis			Passing-Bablok Regresszió Analízis		
		Torzítás átlag (95% CI)	Felső LoA (95% CI)	alsóLoA (95% CI)	Meredek ség (95% CI)	Metszés pont (95% CI)	r
Lítium-heparinos plazma	38	-1,1% (-4,5 as 2,3)	20,7% (14,9 as 26,6)	-23,0% (-28,8 as -17,1)	0,9 (0,8 as 1,0)	2,5 (0,2 as 5,4)	0,975
Citrátos plazma	44	-10,8% (-13,9 as -7,6)	8,1% (2,6 as 13,5)	-29,6% (-35,0 as -24,2)	0,8 (0,8 as 0,9)	1,7 (-0,7 as 4,4)	0,990

6. táblázat

IRODALOM

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).

ESEMÉNYJELENTÉS EU TAGÁLLAM ESETÉN

Ha bármilyen súlyos esemény ezzel a termékkel kapcsolatban előadódik, kérjük, haladék nélkül jelentse az esetet a gyártónak és a tagállam illetékes hatóságának.

SZÁLLÍTÁSI KÁR

Ha a termék sérülten érkezik kérjük, értesítse forgalmazóját.

SZIMBÓLUMOK

BÜHLMANN az ISO 15223-1-ben felsorolt szimbólumokat és jelöléseket használja. Azokon kívül az alábbi szimbólumok és jelölések használatosak.

Szimbólum	Magyarázat
Control N	Normál kontroll
Control H	Magas kontroll
CAL	Kalibrátor
SUBS	Szubsztrát

