



BÜHLMANN ACE kinetic

Enzima di conversione dell'angiotensina

Per uso diagnostico *in vitro*

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

Data di pubblicazione: 2022-10-21
Versione A1

 **Produttore**

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

USO PREVISTO

BÜHLMANN ACE kinetic è un saggio biochimico diagnostico *in vitro* destinato alla determinazione quantitativa dell'attività dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) in campioni di siero. Il saggio è un aiuto alla valutazione dell'attività della malattia in pazienti affetti da sarcoidosi, insieme ad altre evidenze cliniche e di laboratorio.

Per l'uso in laboratorio.

PRINCIPIO DEL TEST

Il saggio è un test enzimatico quantitativo che può essere facilmente applicato su analizzatori chimico-clinici o eseguito con un metodo manuale. L'ACE catalizza la conversione dell'angiotensina I in angiotensina II. L'enzima media anche la scissione del substrato sintetico furilacriloilfenilalanilglicilglicina (FAPGG) nel derivato aminoacidico furilacriloilfenilalanina (FAP) e nel dipeptide glicilglicina (GG). La cinetica lineare di questa reazione di scissione viene misurata registrando la riduzione dell'assorbanza a 340 nm (rif. 1, 2). L'attività finale dell'ACE in U/L nel campione del paziente è determinata usando la curva di calibrazione ottenuta dalla misurazione del calibratore.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

| Reagente | Quantità | | | Codice | Preparazione |
|---|------------------------------------|---------------------|----------------------|---|--|
| | KK-ACK/ KK-ACK4 | KK-ACK2 | KK-ACKX | | |
| Substrato | 1 provetta/ 4 provetta 26 mL | 2 provetta 13 mL | 3 provetta 100 mL | B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ² | Pronto per l'uso |
| Calibratore³ | 1 provetta/ 2 provetta | 2 provetta | 3 provetta | B-ACK-CA | Aggiungere 2 mL di acqua deionizzata |
| Controlli⁴ normale e alto | 1x2 provetta/ 2x2 provetta | 2x2 provetta | 3x2 provetta | B-ACK- CONSET | Aggiungere 2 mL di acqua deionizzata |

Tabella 1

¹ codice d'ordine KK-ACK2.

² codice d'ordine KK-ACKX.

³ Calibratore ACE liofilizzato in una matrice sieroproteica con attività lotto-specifica. Dopo ricostituzione, lasciare 15 minuti a 18-28 °C e mescolare bene prima dell'uso.

⁴ Controlli ACE normale e alto liofilizzati in una matrice sieroproteica con attività lotto-specifica. Ricostituire per 15 minuti a 18-28 °C e mescolare bene prima dell'uso.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI E DELLE SOLUZIONI DI LAVORO

| Reagenti non aperti | |
|--|---|
| Conservare a 2-8 °C. Non usare il kit dopo la data di scadenza stampata sulle etichette. | |
| Reagenti aperti/ricostituiti | |
| Substrato | Conservare a 2-8 °C per un periodo massimo di 6 mesi, |
| Calibratore | |
| Controlli | |
| Stabilità on board degli analizzatori di chimica clinica | |
| Conservare fino a 73 giorni a temperature ≤ 15 °C. | |

Tabella 2

MATERIALI NECESSARI, MA NON FORNITI

- Analizzatore chimico-clinico con filtro a 340 nm.
- Solo metodo manuale:
 - Bagnomaria a 37°C
 - Pipette di precisioni per 25 µL, 100 µL e 1 mL
 - Spettrofotometro con incubazione a 37°C

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Questo test è solo per uso diagnostico *in vitro*
- Si raccomanda l'utilizzo del test da parte di personale qualificato, in conformità con le buone pratiche di laboratorio (GLP).

Precauzioni di sicurezza

- La soluzione inutilizzata deve essere smaltita nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali in materia.

Precauzioni tecniche

- Prima di eseguire il test leggere attentamente le istruzioni. Le prestazioni del test risultano negativamente compromesse quando i reagenti vengono diluiti in modo scorretto, manipolati o conservati in condizioni diverse rispetto a quelle specificate nelle istruzioni per l'uso.
- Non utilizzare i componenti dopo la data di scadenza stampata sulle etichette.
- Non mescolare lotti diversi di reagenti.
- Prima di eseguire il test, accertarsi che nei campioni non vi siano bolle.
- Equilibrare reagenti, controlli, calibratori e campioni alla temperatura di conservazione dell'analizzatore o, in caso di uso manuale, a temperatura ambiente. Ricostituire i reagenti liofilizzati come indicato. Miscelare bene i reagenti ricostituiti prima dell'uso.
- Evitare di far evaporare i controlli.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Raccogliere il sangue in provette standard per la raccolta del siero ed evitare che subisca emolisi. Per evitare sieri lipemici, raccogliere il sangue da pazienti a digiuno. Preparare il siero seguendo la procedura standard del proprio laboratorio. Il siero può essere preparato anche usando provette con gel separatore (SST).

Per il test è raccomandato l'uso di un campione di siero di minimo 200 µL. Per il volume esatto, consultare la nota applicativa dello strumento.

Conservazione: i campioni di siero possono essere conservati fuori dal frigorifero (temperatura massima: 28 °C) o a 2-8 °C per non più di 10 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi, mantenere i campioni a ≤ -20 °C. I campioni sono stabili per almeno 7 mesi a ≤ -20 °C. Vanno evitati più di quattro (4) cicli di congelamento-scongelo.

PROCEDURA DEL DOSAGGIO

Note applicative / Installazione dell'analisi

Le procedure analitiche per BÜHLMANN ACE kinetic, sono state determinate su diversi analizzatori di chimica clinica. Le note applicative convalidate che descrivono l'installazione e l'analisi su specifici strumenti sono disponibili richiedendole a BÜHLMANN. Si deve consultare il manuale relativo al proprio strumento per informazioni specifiche su impostazioni, manutenzione, funzionamento e precauzioni.

BÜHLMANN ACE kinetic può anche essere usato con un metodo manuale. La descrizione della procedura è messa a disposizione da BÜHLMANN su richiesta.

Preparazione dei reagenti

Il substrato è pronto all'uso. Trasferire il volume necessario ai flaconi/alle cassette specifici/che per l'analizzatore.

Determinazione della curva di calibrazione

Il calibratore incluso nel kit si usa per determinare una curva di calibrazione a due punti secondo il manuale dello strumento. I valori del calibratore sono specifici per ogni lotto. È necessario determinare una nuova curva di calibrazione per ogni nuovo lotto. Altrimenti, vanno eseguite calibrazioni periodiche come specificato nelle note applicative specifiche dello strumento. Per i valori del calibratore assegnati, consultare la scheda dati-QC allegata al kit BÜHLMANN ACE kinetic. Se non è possibile eseguire la calibrazione senza errori, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Controlli QC

I controlli inclusi vanno analizzati tutti i giorni prima di eseguire il test sui campioni dei pazienti per convalidare la curva di calibrazione. Perché i risultati dell'analisi dei campioni dei pazienti siano validi, le misurazioni dei controlli devono rientrare nei range di valori indicati nella scheda dati-QC. Se i valori dei controlli non sono validi, ripetere la misurazione utilizzando controlli freschi. Se i valori dei controlli continuano a non essere validi, ricalibrare il dosaggio. Se i valori dei controlli validi non sono riproducibili, dopo aver eseguito i passaggi descritti sopra, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Risultati

I risultati sono calcolati automaticamente dall'analizzatore di chimica-clinica e presentati in U/L.

STANDARDIZZAZIONE

- Il calibratore di BÜHLMANN ACE kinetic si usa per determinare una curva di calibrazione a due punti. I valori del calibratore sono assegnati usando un metodo spettrofotometrico UV/VIS e un $\Delta\epsilon$ definito del substrato FAPGG. I valori sono riportati nella scheda dati-QC. Il calibratore comprende ACE da siero di roditore in una matrice tampone. L'intervallo di confidenza al 95% dell'incertezza composta del calibratore del prodotto è inferiore al 5,0%.
- L'intervallo di misurazione analitica del saggio ACE kinetic, determinato sullo strumento Roche cobas® 6000 c501, è di 11,3 – 200 U/L e può essere ulteriormente esteso a 500 U/L, usando programmi automatici di rianalisi disponibili sugli analizzatori chimico-clinici.

LIMITAZIONI

- I risultati del test devono essere interpretati congiuntamente alle informazioni cliniche ottenute dalla valutazione clinica del paziente e da altre procedure diagnostiche.
- L'attività dell'ACE sierico dipende fortemente dal genotipo dei pazienti studiati (rif. 3). I risultati devono essere riesaminati nel contesto dei risultati di BÜHLMANN ACE kinetic ottenuti in precedenza per quel paziente.
- L'analisi dell'attività dell'ACE non deve essere effettuata in pazienti trattati per l'ipertensione con ACE inibitori come benazepril (Lotensin), captopril, enalapril (Vasotec). Non è stata rilevata alcuna interferenza con i farmaci antipertensivi contenenti antagonisti del recettore dell'angiotensina II (antagonisti AT1): losartan ed eprosartan.
- Emolisi, ittero e lipemia interferiscono con il saggio. Consultare la sezione "Sostanze interferenti" per i parametri sierici.
- BÜHLMANN ACE kinetic è convalidato solo per i campioni di siero. Spetta al laboratorio decidere se i campioni raccolti scorrettamente in provette contenenti litio-eparina o citrato debbano essere processati (consultare la sezione "Campioni di plasma" per maggiori informazioni).
- L'EDTA è un inibitore dell'attività dell'ACE. Il plasma EDTA non può essere usato con il saggio BÜHLMANN ACE kinetic.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Adulti: Il seguente intervallo di riferimento è stato stabilito per BÜHLMANN ACE kinetic in base ai valori del 2,5°-97,5° percentile ottenuti per partecipanti sani arruolati in tre studi indipendenti in Svizzera (n=80, età: 20-70), Germania (n=159, età: 18-64, rif. 3) e USA (n=327, età 16-77, rif. 4):

20 – 70 U/L

Bambini: Il seguente intervallo di riferimento è stato stabilito per BÜHLMANN ACE kinetic in base ai valori del 2,5°-97,5° percentile ottenuti per partecipanti pediatrici sani arruolati in un singolo studio in Germania (n=84, età: 0,5-18):

33 – 112 U/L

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali presentate sono state determinate utilizzando lo strumento Roche cobas® 6000 c501, salvo diversamente indicato. Consultare le note applicative specifiche dell'analizzatore di chimica clinica utilizzato per conoscerne le caratteristiche prestazionali.

Riproducibilità: 6,3 – 9,1% CV

La riproducibilità è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI applicando il seguente disegno di studio: 3 strumenti/lotti x 5 giorni x 5 replicati. È stato applicato il criterio di accettabilità di CV pari al 15% e CV pari al 20%, rispettivamente per campioni superiori e inferiori a 40 U/L. L'analisi è stata eseguita presso 2 laboratori, usando gli strumenti Roche c501, Roche

c702 e Beckmann Coulter AU. Sono stati testati sei (6) campioni di siero. I risultati sono riportati nella tabella 3.

Riproducibilità: 0,8 – 3,0% CV

Precisione intra-laboratorio: 1,7 – 3,7% CV

La riproducibilità e la precisione intra-laboratorio sono state determinate secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI usando il design standardizzato di 20 giorni x 2 analisi x 2 replicati. È stato applicato il criterio di accettabilità di CV pari al 10% e CV pari al 15%, rispettivamente per la ripetibilità e la precisione intra-laboratorio, per campioni superiori a 40 U/L. Per i campioni inferiori a 40 U/L, il criterio di accettabilità è stato di CV pari al 20%. Sono stati testati sei (6) campioni di siero. I risultati sono riportati nella tabella 4.

Accuratezza / Recupero: 92,0 – 112,8%

Sei (6) campioni di siero con valori di attività dell'ACE che coprivano il range di misurazione di BÜHLMANN ACE kinetic sono stati arricchiti con 20,5 U/L di ACE ottenuto dal calibratore. L'arricchimento è stato eseguito al 10% del volume del campione. I campioni "basali" sono stati arricchiti con il corrispondente volume di NaCl 0,9%. I campioni "basali" e "basali + arricchiti" sono stati misurati in quattro (4) replicati. I risultati sono riassunti nella tabella 5.

Carry-over dei campioni

Il carry-over dei campioni è stato determinato secondo le linee guida EP10-A2 del CLSI. L'esecuzione del test ACE kinetic su uno strumento Roche cobas® 6000 c501 non ha comportato un carry-over statisticamente significativo.

Limite di rilevabilità (LoD): 6,8 U/L

Il LoD è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI usando l'approccio classico, l'analisi parametrica e un LoB di 4,3 U/L, determinato usando un'analisi non parametrica.

Limite di quantificazione (LoQ): 11,3 U/L

Il LoQ è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI, basandosi su 60 determinazioni e un obiettivo di precisione in termini di coefficiente di variazione (CV) del 20%.

Range di linearità: 4,3 – 534,9 U/L

Il range di linearità di BÜHLMANN ACE kinetic è stato determinato secondo le linee guida EP06-A del CLSI. I campioni con un'attività superiore a 150 U/L sono stati rianalizzati automaticamente usando un volume di campione ridotto. È stata accettata una deviazione massima di ± 4 U/L o $\pm 10\%$ dalla linearità.

Zona di sicurezza

È possibile misurare campioni con attività teorica dell'ACE fino a 541,2 U/L senza limitare il range di misurazione del saggio.

SOSTANZE INTERFERENTI

La sensibilità del saggio BÜHLMANN ACE kinetic alle sostanze interferenti è stata valutata secondo le linee guida EP07-A2 del CLSI. Nei risultati, un bias eccedente il 20% è stato considerato interferenza.

Farmaci orali

Non è stata rilevata alcuna interferenza con le sostanze seguenti: aspirina (0,65 mg/mL), azatioprina (3,0 µg/mL), clorambucile (7,2 µg/mL), ciclofosfamida (0,375 mg/mL), eprosartan (0,36 mg/mL), idrossiclorochina (fino a 0,06 mg/mL), ibuprofene (0,5 mg/mL), losartan (0,09 mg/mL), metotressato (2,0 µg/mL), prednisone (0,3 µg/mL).

Parametri sierici

Sono state rilevate interferenze con le seguenti sostanze alle concentrazioni indicate: trigliceridi (2,24 mg/mL), bilirubina coniugata (0,06 mg/mL), bilirubina non coniugata (0,047 mg/mL) ed emoglobina (1,19 mg/mL). Non è stata osservata alcuna interferenza da parte dei trigliceridi quando i campioni con torbidità sono stati sottoposti a una breve centrifugazione (10 min / 12.000 x g) e alla separazione del surnatante contenente lipidi.

Campioni di plasma

I risultati ottenuti su campioni di plasma da donatori di sangue sani raccolti in provette contenenti litio-eparina e citrato sono stati confrontati con i risultati ottenuti con campioni di siero degli stessi donatori, raccolti secondo le istruzioni per l'uso. Il bias è stato determinato usando l'analisi di regressione lineare di Passing-Bablok e l'analisi di Bland-Altman. I risultati sono riassunti nella Tabella 6.

TABELLE E FIGURE

Riproducibilità

| ID | Mean ACE activity [U/L] | n | Nella singola analisi | | Precisione tra giorni | | Precisione tra lotti/strumenti/ | | Totale | |
|-------|-------------------------|----|-----------------------|------|-----------------------|------|---------------------------------|------|--------|------|
| | | | 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% |

Tabella 3

Precisione intra-laboratorio

| ID | Mean ACE activity [U/L] | n | Nella singola analisi | | Precisione tra serie | | Precisione tra giorni | | Totale | |
|-------|-------------------------|----|-----------------------|------|----------------------|------|-----------------------|------|--------|------|
| | | | 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% |

Tabella 4

Recupero

| ID campione | 12615 | 12618 | 12614 | 12558 | 3198532 | 3190624 |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|
| Valore basale [U/L] | 19,8 | 34,6 | 59,0 | 69,8 | 75,8 | 104,6 |
| Valore arricchito [U/L] | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 |
| Valore previsto [U/L] | 40,3 | 55,1 | 79,5 | 90,3 | 96,3 | 125,1 |
| Valore osservato [U/L] | 37,1 | 56,9 | 80,8 | 89,8 | 108,7 | 130,0 |
| Recupero totale [%] | 92,0 | 103,3 | 101,7 | 99,4 | 112,8 | 103,9 |

Tabella 5

Campioni di plasma

| Matrice | N | Analisi di Bland-Altman | | | Analisi di regressione di Passing-Bablok | | |
|----------------------|----|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------|-------|
| | | Bias medio (IC 95%) | Limite concordanza superiore (IC 95%) | Limite concordanza inferiore (IC 95%) | Pendenza (IC 95%) | Intercetta (IC 95%) | r |
| Plasma litio-eparina | 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 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 |

Tabella 6

RIFERIMENTI

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).

SEGNALAZIONE DI INCIDENTI NEGLI STATI MEMBRI UE

Si prega di segnalare immediatamente al produttore e alle autorità competenti del proprio paese eventuali incidenti gravi avvenuti in relazione all'uso di questo dispositivo.

DANNI DOVUTI ALLA SPEDIZIONE

Informare il proprio distributore se il prodotto è stato ricevuto danneggiato.

SIMBOLI

BÜHLMANN utilizza i simboli e i segni elencati e descritti in ISO 15223-1. Inoltre, vengono utilizzati i seguenti simboli e segni:

| Simbolo | Spiegazione |
|-----------|-------------------|
| Control N | Controllo normale |
| Control H | Controllo alto |
| CAL | Calibratore |
| SUBS | Substrato |

