



BÜHLMANN ACE kinetic

Angiotensinkonverterende enzym

Til *In Vitro* diagnostisk bruk

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

Utgivelsesdato: 2022-10-21
Versjon A1

 **Produsent**

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Sveits
Tlf.: +41 61 487 12 12
Faks: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

BEREGNET BRUK

BÜHLMANN ACE kinetic er en *in vitro* diagnostisk biokjemisk analyse til kvantitativ bestemmelse av aktiviteten av angiotensinkonverterende enzym (ACE) i serumprøver. Analysen bidrar til vurdering av sykdomsaktivitet hos pasienter med sarkoidose sammen med andre kliniske tegn og laboratoriefunn.

Kun til laboratoriebruk.

PRINSIPPET FOR ANALYSEN

Analysen er en kvantitativ enzymatisk test som lett kan anvendes på analysatorer for klinisk kjemi eller kjørt med manuell metode. ACE katalyserer konversjonen av angiotensin I til angiotensin II. Enzymet medierer også splittingen av det syntetiske substratet Fyrylakryloylfenylalanyl-glycylglysin (FAPGG) til aminosyrederivatet Fyrylakryloylfenylalanin (FAP) og dipeptidet Glycylglysin (GG). Den lineære kinetikken for denne splittingsreaksjonen måles ved å ta opp reduksjonen i absorbans ved 340 nm (ref. 1, 2). Den endelige ACE-aktiviteten i E/L i pasientprøven bestemmes ved å bruke en kalibreringskurve som er generert fra den målte kalibratorverdien.

REAGENSER SOM MEDFØLGER

Reagenser	Mengde			Kode	Rekonstitusjon
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Substrat	1 hetteglass/ 4 hetteglass 26 mL	2 hetteglass 13 mL	3 hetteglass 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ²	Klar til bruk
Kalibrator³	1 hetteglass/ 2 hetteglass	2 hetteglass	3 hetteglass	B-ACK-CA	Tilsett 2 mL deionisert vann
Kontroller⁴ Normal and Høy	1x2 hetteglass/ 2x2 hetteglass	2x2 hetteglass	3x2 hetteglass	B-ACK- CONSET	Tilsett 2 mL deionisert vann

Tabell 1

¹ Bestillingskoder for KK-ACK2.

² Bestillingskoder for KK-ACKX.

³ Lyofilisert ACE-kalibrator i en protein-serummatrise med lot-spesifikk aktivitet. Etter rekonstitusjon settes til side i 15 minutter ved 18-28 °C og blandes godt før bruk.

⁴ Lyofilisert ACE normale og høye kontroller i en protein-serummatrise med lot-spesifikk aktivitet. Rekonstitueres i 15 minutter ved 18-28 °C og blandes godt før bruk.

OPPBEVARING OG STABILITET FOR REAGENSER OG ARBEIDSOPPLØSNINGER

Uåpnede reagenser	
Oppbevares ved 2-8 °C. Settet skal ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.	
Åpnede / rekonstituerte reagenser	
Substrat	Oppbevares i opptil 6 måneder ved 2-8 °C.
Kalibrator	
Kontroller	
Stabilitet ombord på analysatorer for klinisk kjemi	
Oppbevares opptil 73 dager ved temperaturer ≤ 15 °C.	

Tabell 2

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE MEN SOM IKKE MEDFØLGER

- Analysatorer for klinisk kjemi med 340 nm filter.
- Kun manuell metode:
 - Vannbad innstilt på 37 °C
 - Presisjonspipetter for 25 µL, 100 µL og 1 mL
 - Spektrofotometer med inkubasjon ved 37 °C

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Denne testen er kun til *in vitro* diagnostisk bruk.
- Det anbefales at testen håndteres av kvalifisert personell i samsvar med God laboratoriepraksis (GLP).

Sikkerhetsforholdsregler

- Ubrukt oppløsning bør kastes i samsvar med lokale og nasjonale forskrifter.

Tekniske forholdsregler

- Les bruksanvisningen nøye før testen gjennomføres. Ytelsen for testen vil påvirkes negativt, hvis reagenser fortynnes på feil måte, håndteres eller oppbevares under andre forhold enn de som er beskrevet i denne bruksanvisningen.
- Komponenters må ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.
- Forskjellige reagens lot må ikke blandes.
- Påse at prøver ikke har bobler før testen kjøres.
- Reagensene, kontroller, kalibratorene og prøver må bringes i likevekt ved oppbevaringstemperatur for analysatoren eller for manuell bruk ved romtemperatur. De lyfoliserte reagensene rekonstitueres som angitt. De rekonstituerte reagensene blandes godt før bruk.
- Unngå fordamping av kontrollene.

PRØVETAKING OG OPPBEVARING

Blodet oppsamles i standard serumoppsamlingsrør og unngå hemolyse. For å unngå lipemisk serum samles det inn blod fra fastende pasienter. Tilbered serum i henhold til laboratoriets standardprosedyre. Serumtilberedning kan også gjøres ved bruk av gelbarriererør (SST).

Minimum 200 µL serumprøve til testen anbefales. Se instrumentets bruksmerknad for å finne nøyaktig volum.

Oppbevaring: Serumprøver kan oppbevares uten kjøling (temperaturer opptil 28 °C) eller ved 2-8 °C i 10 dager. For lengre tids oppbevaring skal prøvene oppbevares ved ≤ -20 °C. Prøvene er stabile i minst 7 måneder ved ≤ -20 °C. Mer enn fire (4) fryse/opptiningssykluser bør unngås.

ANALYSEPROSEDYRE**Bruksmerknader / analyseinstallasjon**

Analyseprosedyrer for BÜHLMANN ACE kinetic er etablert på flere analysatorer for klinisk kjemi. Validerte applikasjonsnotater som beskriver installasjon og analyse på spesifikke instrumenter er tilgjengelige fra BÜHLMANN etter forespørsel. Tilsvarende instrument-

håndbøker må tas i betraktning for oppsett av instrumentet, vedlikehold, betjening og forholdsregler.

BÜHLMANN ACE kinetic kan også brukes med en manuell metode. Prosedyrebeskrivelsen er tilgjengelig fra BÜHLMANN etter forespørsel.

Reagenstilberedning

Substratet er klart til bruk. Nødvendig volum overføres til flasker/kassetter som er spesifikke for analysatoren.

Etablering av kalibreringskurven

Kalibratoren som følger med dette sette brukes til å etablere en to-punkts kalibreringskurve i henhold til instrumenthåndboken. Kalibratorverdier er lot-spesifikke. Ny kalibrering må gjennomføres for hvert nytt lot. Ellers bør det gjennomføres periodiske kalibreringer i henhold til de instrumentspesifikke applikasjonsnotatene. Se QC-databladet som leveres sammen med BÜHLMANN ACE kinetic-settet for tilordnede kalibratorverdier. Ta kontakt med BÜHLMANN support hvis kalibrering ikke kan gjennomføres uten feil.

QC kontroller

Kontrollene som medfølger, bør analyseres hver dag før det kjøres pasientprøver for å validere kalibreringskurven. Kontrollmålingene må ligge innenfor verdiområdene som er angitt QC-databladet for å oppnå gyldige verdier for pasientprøver. Hvis kontrollverdiene ikke er gyldige, skal målingene gjentas med ferske kontroller. Hvis kontrollverdiene fortsatt ikke er gyldige, skal analysen recalibreres. Hvis gyldige kontrollverdier ikke kan reproduseres etter å ha gjennomført trinnene slik de er beskrevet ovenfor, ta kontakt med BÜHLMANN support.

Resultater

Resultatene beregnet automatisk på analysatoren for klinisk kjemi og presenteres i E/L.

STANDARDISERING

- BÜHLMANN ACE kinetic kalibrator brukes til å generere en to-punkts kalibreringskurve. Kalibratorverdier er tilordnet ved bruk av en UV/VIS spektrofotometrisk metode og en definert $\Delta\epsilon$ for FAPGG-substratet. Verdiene er rapportert i QC dataarket. Kalibratormaterialet omfatter ACE fra serum fra gnagere i buffermatrise. 95% konfidensintervall for den kombinerte usikkerheten til produktkalibratoren er lavere enn 5,0%.
- Det analytiske måleintervallet for ACE kinetic analyse, etablert på et Roche cobas® 6000 c501 instrument, er 11,3 - 200 E/L og kan utvides videre til 500 E/L, ved bruk av automatiske program for gjentatt kjøring som er tilgjengelige på analysatorer for klinisk kjemi.

BEGRENSNINGER

- Testresultater bør tolkes sammen med tilgjengelig informasjon fra klinisk utredning av pasienten og andre diagnostisk prosedyrer.
- ACE-aktiviteten i serum er sterkt avhengig av de undersøkte pasientens genotype (ref. 3). Resultatene bør gjennomgås i sammenheng med tidligere BÜHLMANN ACE kinetic resultater som er fremskaffet fra pasienten.
- ACE-aktivitetstesting bør ikke gjøres på pasienter som er behandlet for høyt blodtrykk med ACE-hemmere som for eksempel Benazepril (Lotensin), Kaptopril, Enalapril (Vasotec). Det har ikke vært påvist interferens for

antihypertensive legemidler som inneholder angiotensin II-reseptorblokkere (AT1-antagonister): Losartan og Eprosartan.

- Hemolyse, ikterus og lipemi interfererer med analysen. Se avsnittet "Interfererende stoffer" for serumindekser.
- BÜHLMANN ACE kinetic er validert kun for serumprøver. Det er laboratoriets avgjørelse hvorvidt prøver som er innsamlet på uriktig måte i litium-heparin eller citratrør skal prosesseres (se avsnittet plasmaprøver for å finne mer informasjon).
- EDTA er en hemmer av ACE-aktivitet. EDTA-plasma kan ikke brukes med BÜHLMANN ACE kinetic analysen.

REFERANSEINTERVALLER

Voksne: Følgende referanseintervaller ble etablert for BÜHLMANN ACE kinetic på grunnlag av 2,5^{de} – 97,5^{de} persentilverdier, oppnådd for friske deltagere som var inkludert i tre uavhengige studier i Sveits (n=80, alder: 20 - 70), Tyskland (n=159, alder: 18 - 64, ref. 3) samt USA (n= 327, alder 16 - 77, ref. 4):

20 – 70 E/L

Barn: Følgende referanseintervall ble etablert for BÜHLMANN ACE kinetic på grunnlag av 2,5^{de} – 97,5^{de} persentilverdier oppnådd for friske geriatriske pasienter som var inkludert i en enkelt studie i Tyskland (n=84, alder: 0,5 - 18):

33 – 112 E/L

YTELSESKARAKTERISTIKKER

De presenterte ytelseskaraktistikker ble etablert på et Roche cobas® 6000 c501-instrument, med mindre noe annet er angitt. Se spesifikke bruksnotater for analysatorer for klinisk kjemi for å finne ytelseskaraktistikker for andre analysatorer for klinisk kjemi.

Reproduserbarhet: 6,3 – 9,1% CV

Reproduserbarhet ble etablert i henhold til CLSI-veiledningen EP05-A3 ved bruk av en studie med design over 3 instrumenter/lot'er x 5 dager x 5 replikater. Et akseptkriterium på henholdsvis 15% CV og 20% CV, for prøver over og under 40 E/L, ble benyttet. Testingen ble gjennomført ved 2 laboratorier med bruk av Roche c501, Roche c702 og Beckmann Coulter AU-instrumenter. Seks (6) serumprøver ble testet. Resultatene presenteres i tabell 3.

Repeterbarhet: 0,8 – 3,0% CV

Presisjon innenfor laboratoriet: 1,7 – 3,7% CV

Repeterbarhet og presisjon innenfor laboratoriet ble etablert i henhold til CLSI veiledningen EP05-A3 med bruk av det standardiserte studiedesignet med 20 dager x 2 kjøring x 2 replikater. Et akseptkriterium på henholdsvis 10% CV og 15% CV, for repeterbarhet og presisjon innenfor laboratoriet, for prøver over 40 E/L, ble benyttet. For prøver under 40 E/L var akseptkriterium 20% CV. Seks (6) serumprøver ble testet. Resultatene presenteres i tabell 4.

Nøyaktighet / Gjenoppretting: 92,0 – 112,8%

Seks (6) serumprøver med verdier for ACE-aktivitet som dekket måleområdet for BÜHLMANN ACE kinetic ble tilsatt 20,5 E/L ACE hentet fra kalibratormaterialet. Tilsetningen ble gjennomført ved 10% av prøvevolumet. "Baseline"-prøver ble tilsatt tilsvarende volum med 0,9% NaCl. "Baseline" og "baseline + tilsetning"-prøver ble målt i fire (4) replikater. Resultatene er gitt i sammendrag i tabell 5.

"Carry-over" av prøver

Carry-over for prøver ble etablert i henhold til CLSI veiledning EP10-A2. Det ble ikke påvist statistisk signifikant carry-over med ACE kinetic-testen på Roche cobas® 6000 c501-instrumentet.

Deteksjonsgrense (LoD): 6,8 E/L

LoD ble etablert i henhold til CLSI veiledning EP17-A2 ved bruk av klassisk tilnærming, parametrisk analyse og en LoB på 4,3 E/L, fastslått ved bruk av ikke-parametrisk analyse.

Kvanitifiseringsgrense (LoQ): 11,3 E/L

LoQ ble etablert i henhold til CLSI veiledning EP17-A2, på grunnlag av 60 bestemmelser og et presisjonsmål på 20% CV.

Linearitetsområde: 4,3 – 534,9 E/L

Linearitetsområdet for BÜHLMANN ACE kinetic ble bestemt i henhold til CLSI veiledning EP06-A. Prøver med aktivitet over 150 E/L ble automatisk kjørt på nytt med et redusert prøvevolum. Et maksimalt avvik fra linearitet på ± 4 E/L eller $\pm 10\%$ ble tillatt.

Sikkerhetssone

Prøver med teoretisk ACE-aktivitet på opptil 541,2 E/L kan måles uten å begrense måleområdet for analysen.

INTERFERERENDE STOFFER

Mottakeligheten av BÜHLMANN ACE kinetic analysen for interfererende stoffer ble vurdert i henhold til CLSI veiledning EP07-A2. En skjevhet i resultatene i overkant av 20% ble betraktet som interferens.

Perorale legemidler

Ingen interferens ble påvist hos følgende stoffer; Aspirin (0,65 mg/mL), Azatioprin (3,0 μ g/mL), Klorambucil (7,2 μ g/mL), Syklofosamid (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hydroksyklorokin (opptil 0,06 mg/mL), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Metotreksat (2,0 μ g/mL), Prednison (0,3 μ g/mL).

Serumindekser

Interferens ble påvist hos følgende stoffer ved de oppførte konsentrasjonene: triglyserider (2,24 mg/mL), konjugert bilirubin (0,06 mg/mL), ukonjugert bilirubin (0,047 mg/mL), samt hemoglobin (1,19 mg/mL). Ingen interferens av triglyserider ble observert når prøver med turbiditet ble utsatt for kort sentrifugering (10 min / 12 000 x g) og separasjon av lipidholdig supernatant.

Plasmaprøver

Resultater fra prøver fra friske blodgivere innsamlet i litium-heparin- og citratrør ble sammenlignet med resultater oppnådd med serum fra de same donorene, innsamlet i henhold til bruksanvisningen. Skjevhet ble bestemt ved bruk av Passing-Bablok lineær regresjonsanalyse og Bland-Altman-analyse. Resultatene gis i sammendrag i tabell 6.

TABELLER OG FIGURER

Reproduserbarhet

ID	Gjennomsnittlig ACE-aktivitet [E/L]	n	Innenfor kjøringen		Melom dager		Mellom lot/instrumnet		Totalt	
			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%

Tabell 3

Presisjon innenfor laboratoriet

ID	Gjennomsnittlig ACE-aktivitet [E/L]	n	Innenfor kjøring		Mellom kjøringer		Mellom dager		Totalt	
			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%

Tabell 4

Gjenoppretting

Prøve-ID	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Basisverdi [E/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Toppverdi [E/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Forventet verdi [E/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Observert verdi [E/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Totalt gjenvunnet [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabell 5

Plasmaprøver

Matrise	N	Bland-Altman-analyse			Passing-Bablok regresjonsanalyse		
		Gjennomsnittlig skjevfordeling (95% KI)	Øvre LoA (95% KI)	Nedre LoA (95% KI)	Helning (95% KI)	Skjæringspunkt (95% KI)	r
Litium-heparinplasma	38	-1,1% (-4,5 to 2,3)	20,7% (14,9 to 26,6)	-23,0% (-28,8 to -17,1)	0,9 (0,8 to 1,0)	2,5 (0,2 to 5,4)	0,975
Sitratplasma	44	-10,8% (-13,9 to -7,6)	8,1% (2,6 to 13,5)	-29,6% (-35,0 to -24,2)	0,8 (0,8 to 0,9)	1,7 (-0,7 to 4,4)	0,990

Tabell 6

REFERANSER

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

RAPPORTERING AV HENDELSER I EUS MEDLEMSSTATER

I tilfelle det har oppstått en alvorlig hendelse i forbindelse med dette utstyret, vennligst rapporter umiddelbart til produsenten og den kompetente autoriteten i din medlemsstat.

TRANSPORTSKADER

Vennligst meld fra til forhandleren, hvis dette produktet ble mottatt i beskadiget stand.

SYMBOLER

BÜHLMANN bruker symboler og tegn som er oppført og beskrevet i ISO 15223-1. I tillegg brukes følgende symboler og tegn:

Symbol	Forklaring
Control N	Kontroll Normal
Control H	Kontroll High
CAL	Kalibrator
SUBS	Substrat

