



BÜHLMANN ACE kinetic

Enzima conversora de angiotensina

Para uso em diagnósticos *in vitro*

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

Data de lançamento: 2022-10-21
Versão A1

 Fabricante

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

PORTUGUÊS

USO PRETENDIDO

O BÜHLMANN ACE kinetic é um ensaio bioquímico de diagnóstico *in vitro* para determinação quantitativa da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) em amostras de soro. O teste ajuda a avaliar a atividade da doença em pacientes com sarcoidose, em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.

Somente para uso laboratorial.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

O ensaio consiste em um teste enzimático quantitativo que pode ser facilmente aplicado em analisadores de química clínica ou executado manualmente. A ECA catalisa a conversão da angiotensina I em angiotensina II. A enzima também realiza a clivagem do substrato sintético furil-acrilil-fenilalanil-glicilglicina (FAPGG), convertendo-o no aminoácido derivado furil-acrilil-fenilalanina (FAP) e no dipeptídeo glicilglicina (GG). A cinética linear dessa reação de clivagem é medida registrando-se a diminuição na absorbância a 340 nm (ref. 1, 2). A atividade final da ECA em U/L na amostra do paciente é então determinada usando-se a curva de calibração gerada a partir do valor medido de calibradores.

REAGENTES FORNECIDOS E PREPARAÇÃO

Reagentes	Quantidade			Código	Preparação
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Substrato	1 frasco/ 4 frascos 26 mL	2 frascos/ 13 mL	3 frascos 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ²	Pronto para uso
Calibrador ³	1 frasco/ 2 frascos	2 frascos	3 frascos	B-ACK-CA	Adicionar 2 mL de água deionizada
Controles ⁴ Normal y Alto	1x2 frascos 2x2 frascos	2x2 frascos	3x2 frascos	B-ACK- CONSET	Adicionar 2 mL de água deionizada

Tabela 1

¹ código de encomenda:KK-ACK2.

² código de encomenda:KK-ACKX.

³ Calibrador de ECA liofilizada em uma matriz de proteína sérica, com atividade específica ao lote. Depois da reconstituição, deixar descansar por 15 minutos a 18–28 °C e misturar bem antes de usar.

⁴ Controles normal e alto de ECA liofilizada em uma matriz de proteína sérica, com atividade específica ao lote. Reconstituir por 15 minutos a 18–28 °C e misturar bem antes de usar.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DE REAGENTES E SOLUÇÕES DE TRABALHO

Reagentes não abertos	
Guarde a uma temperatura na faixa de 2 – 8 °C. Não use os reagentes depois da data de validade impressa nas etiquetas	
Reagentes abertos / reagentes reconstituídos	
Substrato	Guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2 - 8 °C.
Calibrador	
Controles	
Estabilidade a bordo de analisadores de química clínica	
Guarde por 73 dias a uma temperatura na faixa de ≤ 15°C.	

Tabela 2

MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

- Analisador de química clínica com filtro de 340 nm.
- Método manual, somente:
 - Banho-maria regulado para 37°C
 - Pipetas de precisão com pontas descartáveis 25 µL, 100 µL and 1 mL
 - Espectrofotômetro com incubação a 37°C

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Este teste se destina somente ao uso para diagnóstico *in vitro*.
- Recomenda-se que este teste seja executado por pessoal qualificado, de acordo com os princípios de boas práticas laboratoriais (BPL).

Precauções de segurança

- As soluções não utilizadas devem ser eliminadas de acordo com a Regulamentação das Entidades Governamentais Locais.

Precauções técnicas

- Leia atentamente as instruções antes de executar o teste. O desempenho do teste será afetado negativamente se os reagentes forem diluídos incorretamente, ou se forem manuseados ou armazenados sob condições diferentes daquelas detalhadas nesta instrução de uso.
- Os componentes não podem ser utilizados após a data de validade impressa nos rótulos.
- Não misture lotes de reagentes diferentes.
- Certifique-se de que as amostras não contêm bolhas de ar antes de executar o teste.
- Equilibre os reagentes, controles, calibradores e amostras à temperatura de armazenamento do analisador ou, para uso manual, à temperatura ambiente. Reconstitua os reagentes liofilizados conforme indicado. Misture bem os reagentes reconstituídos antes de usar.
- Evite a evaporação dos controles.

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Colete o sangue em um tubo de coleta de soro padrão, evitando a hemólise. Para evitar soros lipêmicos, colete sangue de pacientes em jejum. Prepare o soro de acordo com o procedimento padrão de seu laboratório. O soro também pode ser preparado usando-se tubos com gel separador (SST).

Recomenda-se um mínimo de 200 µL de amostra de soro para o teste. Para verificar o volume exato, consulte a nota de aplicação do instrumento.

Armazenamento: as amostras de soro podem ser armazenadas sem refrigeração (temperaturas até 28 °C) ou a uma temperatura na faixa de 2–8 °C por até 10 dias. Para períodos de armazenamento mais longos, mantenha as amostras a uma temperatura ≤-20 °C. As amostras permanecem estáveis por até 7 meses a ≤-20 °C. Evite submeter as amostras a mais de quatro (4) ciclos de congelamento-descongelamento.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Notas de aplicação / instalação do ensaio

Os procedimentos de teste do BÜHLMANN ACE kinetic foram estabelecidos em diversos analisadores químicos clínicos. Notas de aplicação validadas descrevendo a instalação e análise em instrumentos específicos podem ser fornecidas pela BÜHLMANN mediante solicitação. Os manuais correspondentes devem ser considerados para a instalação, manutenção e operação dos instrumentos em questão, assim como para as precauções pertinentes.

O BÜHLMANN ACE kinetic também pode ser usado empregando-se um método manual. A descrição do procedimento pode ser fornecida pela BÜHLMANN mediante solicitação.

Preparação do reagente

O substrato é fornecido pronto para utilização. Transfira o volume necessário para os frascos/cassetes específicos do analisador.

Determinação da curva de calibração

O calibrador incluído com o kit é utilizado para determinar uma curva de calibração de dois pontos, de acordo com o manual do instrumento. Os valores do calibrador são específicos a cada lote. Uma nova calibração deve ser executada para cada novo lote. Caso contrário, calibrações periódicas deverão ser realizadas de acordo com as notas de aplicação específicas do instrumento. Consulte a folha de dados de CQ fornecida com o kit do BÜHLMANN ACE kinetic para verificar os valores atribuídos ao calibrador. Entre em contato com o atendimento ao cliente da BÜHLMANN caso a calibração não possa ser realizada sem erro.

Controles de CQ

Os controles inclusos devem ser testados diariamente, antes da execução dos testes com amostras de pacientes, para validar a curva de calibração. Os resultados das medições dos controles devem ficar dentro das faixas de valores indicadas na folha de dados de CQ, para que resultados válidos sejam obtidos para as amostras de pacientes. Se os valores dos controles não forem válidos, repita a medição usando controles novos. Se os valores de controle continuarem inválidos, recalibre o instrumento. Se os valores de controle não puderem ser reproduzidos depois de os procedimentos acima terem sido executados, entre em contato com o atendimento ao cliente da BÜHLMANN.

Resultados

Os resultados são calculados automaticamente no analisador químico clínico e apresentados em U/L.

PADRONIZAÇÃO

- O calibrador do BÜHLMANN ACE kinetic é utilizado para gerar uma curva de calibração de dois pontos. Os valores do calibrador são atribuídos usando-se um método espectrofotométrico UV/VIS e um $\Delta\epsilon$ definido do substrato de FAPGG. Os valores são indicados na folha de dados de CQ. O material do calibrador consiste em ECA de soro de roedores em uma matriz-tampão. O intervalo de confiança de 95% da incerteza combinada do calibrador do produto é inferior a 5,0%.
- O intervalo de medição analítica do teste cinético de ECA, estabelecido no instrumento cobas® 6000 c501 da Roche,

é de 11,3 - 200 U/L e pode ser estendido até 500 U/L usando-se programas de repetição automática de corridas, disponíveis em analisadores de química clínica.

LIMITAÇÕES

- Os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com as informações disponíveis da avaliação clínica do paciente e de outros procedimentos de diagnóstico.
- A atividade da ECA sérica depende muito do genótipo dos pacientes investigados (ref. 3). Os resultados devem ser verificados no contexto dos resultados anteriores do BÜHLMANN ACE kinetic obtidos para o paciente.
- O teste de atividade da ECA não deve ser realizado em pacientes tratados para hipertensão com inibidores de ECA, tais como benazepril (Lotensin), captopril, enalapril (Vasotec). Nenhuma interferência foi detectada para medicamentos anti-hipertensivos contendo bloqueadores de receptores de angiotensina II (antagonistas de AT1): losartana e eprosartana.
- Hemólise, icterícia e lipemia interferem com o teste. Consulte a seção “Substâncias interferentes” para verificar os índices séricos.
- O BÜHLMANN ACE kinetic é validado apenas para amostras de soro. O laboratório deve decidir se amostras incorretamente coletadas em tubos com heparina de lítio ou citrato devem ser processadas (consulte a seção sobre amostras de plasma para maiores informações).
- O EDTA é um inibidor da atividade da ECA. Plasma com EDTA não pode ser usado com o teste BÜHLMANN ACE kinetic.

INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Adultos: O intervalo de referência a seguir foi determinado para o BÜHLMANN ACE kinetic com base em valores de percentil de 2,5–97,5 obtidos para participantes saudáveis de três estudos independentes na Suíça (n=80, idades: 20–70), Alemanha (n=159, idades: 18–64, ref. 3) e nos EUA (n=327, idades: 16–77, ref. 4):

20–70 U/L

Crianças: O intervalo de referência a seguir foi determinado para o BÜHLMANN ACE kinetic com base em valores de percentil de 2,5–97,5 obtidos para participantes pediátricos saudáveis de um único estudo na Alemanha (n=84, idades: 0,5–18):

33–112 U/L

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho apresentadas foram estabelecidas em um instrumento Roche cobas® 6000 c501, exceto quando indicado de outra forma. Consulte as notas de aplicação específicas do analisador químico clínico para verificar as características de desempenho de outros analisadores.

Reprodutibilidade: 6,3 – 9,1% CV

A reprodutibilidade foi determinada de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de estudo de 3 instrumentos/lotos x 5 dias x 5 replicatas. Um critério de aceitação de 15% CV e 20% CV foi aplicado para amostras acima e abaixo de 40 U/L, respectivamente. O teste foi realizado em 2 laboratórios, utilizando instrumentos Roche c501, Roche c702 e Beckmann Coulter AU. Seis (6) amostras de soro foram testadas. Os resultados podem ser encontrados na Tabela 3.

Repetibilidade: 0,8 – 3,0% CV**Precisão intralaboratorial: 1,7 – 3,7% CV**

A repetibilidade e a precisão intralaboratorial foram determinadas de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo padronizado de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas. Um critério de aceitação de 10% CV e 15% CV, para repetibilidade e precisão intralaboratorial, respectivamente, foi aplicado para amostras acima de 40 U/L. Para amostras abaixo de 40 U/L, o critério de aceitação foi de 20% CV. Seis (6) amostras de soro foram testadas. Os resultados podem ser encontrados na Tabela 4.

Precisão / recuperação: 92,0 – 112,8%

Seis (6) amostras de soro com valores de atividade de ECA abrangendo a faixa de medição do BÜHLMANN ACE kinetic foram fortificadas com 20,5 U/L de ECA obtida do material do calibrador. A fortificação foi realizada a 10% do volume da amostra. As amostras de "referência" foram fortificadas com um volume correspondente de NaCl a 0,9%. As amostras de "referência" e de "referência + fortificadas" foram medidas em quatro (4) replicatas. Os resultados estão resumidos na Tabela 5.

Arraste das amostras

O arraste das amostras foi determinado de acordo com a diretriz EP10-A2 do CLSI. Nenhum arraste de amostra estatisticamente significativo foi detectado com o teste cinético de ECA no instrumento Roche cobas® 6000 c501.

Limite de detecção (LoD): 6,8 U/L

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, utilizando-se o método clássico e análise paramétrica, enquanto um LoB de 4,3 U/L foi determinado usando-se análise não paramétrica.

Limite de quantificação (LoQ): 11,3 U/L

O LoQ foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, com base em 60 determinações e uma meta de precisão de 20% do CV.

Faixa de linearidade: 4,3 – 534,9 U/L

A faixa linear do BÜHLMANN ACE kinetic foi determinada de acordo com a diretriz EP06-A do CLSI. As amostras com atividade acima de 150 U/L foram automaticamente retestadas usando-se um volume de amostra reduzido. Foi permitido um desvio máximo de ± 4 U/L ou $\pm 10\%$ da linearidade.

Zona de segurança

As amostras com atividade teóricas de ECA até 541,2 U/L podem ser medidas sem limitar a faixa de medição do ensaio.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES:

A suscetibilidade do teste BÜHLMANN ACE kinetic a substâncias interferentes foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A2 do CLSI. Desvios superiores a 20% nos resultados foram considerados como interferências.

Produtos farmacêuticos orais

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias: aspirina (0,65 mg/mL), azatioprina (3,0 μ g/mL), clorambucila (7,2 μ g/mL), ciclofosfamida (0,375 mg/mL), eprosartana (0,36 mg/mL), hidroxiloroquina (até 0,06 mg/mL), ibuprofeno (0,5 mg/mL), losartana (0,09 mg/mL), metotrexato (2,0 μ g/mL) e prednisona (0,3 μ g/mL).

Índices séricos

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: triglicérides (2,24 mg/mL), bilirrubina conjugada (0,06 mg/mL), bilirrubina não conjugada (0,047 mg/mL) e hemoglobina (1,19 mg/mL). Nenhuma interferência por triglicérides foi observada quando amostras com turbidez foram submetidas a centrifugação curta (10 min / 12.000 x g) e separação de sobrenadante contendo lipídios.

Amostras de plasma

Os resultados das amostras de doadores de sangue saudáveis coletadas em tubos com heparina de lítio e citrato foram comparados aos resultados obtidos com amostras de soro dos mesmos doadores coletadas de acordo com as instruções de uso. O desvio foi determinado usando-se análise de regressão linear de Passing-Bablok e análise de Bland-Altman. Os resultados estão resumidos na Tabela 6.

TABELAS E FIGURAS

Reprodutibilidade

ID	Atividade de média do áy [U/L]	n	Intraensaio		Precisão Interdias		Precisão interlotes/ interinstrumentos/		Total	
			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%

Tabela 3

Precisão intralaboratorial

ID	Atividade de média do áy [U/L]	n	Intraensaio		Precisão interensaio		Precisão Interdias		Total	
			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%

Tabela 4

Recuperação:

Identificação da amostra	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Valor de base [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Valor da fortificação [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Valor esperado [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Valor observado [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Recuperação total: [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabela 5

Amostras de plasma

Matriz	N	Análise de Bland-Altman			Análise de regressão de Passing-Bablok		
		Desvio médio (95% do IC)	LoA superior (95% do IC)	LoA inferior (95% do IC)	Inclinação (95% do IC)	Intercepto (95% do IC)	r
Plasma com heparina de lítio	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 com 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

Tabela 6

REFERÊNCIAS

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).

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

SÍMBOLOS

BÜHLMANN utiliza os símbolos e sinais listados e descritos na norma ISO 15223-1. Além disso, são utilizados os seguintes símbolos e letreiros:

Símbolo	Explicação
Control N	Controle Normal
Control H	Controle Alto
CAL	Calibrador
SUBS	Substrato

