



BÜHLMANN ACE kinetic

Enzima de Conversie a Angiotensinei

Pentru Utilizarea Diagnosticului *In Vitro*

| | |
|---------|---------------------|
| 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 |

Data eliberării: 2022-10-21
Versiunea A1

 **Producător**

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

UTILIZARE

BÜHLMANN ACE kinetic este un test biochimic pentru diagnosticare *in vitro* pentru determinarea cantitativă a activității enzimei de conversie a angiotensinei (ACE) în probele din ser. Testul ajută la evaluarea activității bolii la pacienții cu sarcoidoză împreună cu alte constatări clinice și de laborator.

Doar pentru utilizare în laborator.

PRINCIPIUL TESTULUI

Testul este un test enzimatic cantitativ care poate fi aplicat cu ușurință pe analizoarele de chimie clinică sau poate fi efectuat prin metoda manuală. ACE catalizează conversia angiotensinei I în angiotensină II. Enzima mediază, de asemenea, scindarea substratului sintetic Firilacrioloifenilalanilglicilglicină (FAPGG) în derivatul de aminoacizi Firilacrioloifenilalanină (FAP) și dipeptida Glicilglicină (GG). Cinetica liniară a acestei reacții de scindare se măsoară prin înregistrarea scăderii absorbanței la 340 nm (ref. 1, 2). Activitatea finală a ACE în U/L în proba de la pacient se determină utilizând o curbă de calibrare generată din valoarea măsurată a calibratorului.

REACTIVI FURNIZAȚI

| Reactivi | Cantitate | | | Cod | Reconstituire |
|---|--------------------------------------|---------------------|----------------------|---|--|
| | KK-ACK/ KK-ACK4 | KK-ACK2 | KK-ACKX | | |
| Substrat | 1 flacon/ 4 flacoane 26 mL | 2 flacoane 13 mL | 3 flacoane 100 mL | B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ² | Gata de utilizare |
| Calibrator ³ | 1 flacon/ 2 flacoane | 2 flacoane | 3 flacoane | B-ACK-CA | Se adaugă 2 mL de apă deionizată |
| Controale ⁴ Normal și High | 1x2 flacoane / 2x2 flacoane | 2x2 flacoane | 3x2 flacoane | B-ACK- CONSET | Se adaugă 2 mL de apă deionizată |

Tabel 1

¹ Coduri de Comandă pentru KK-ACK2.

² Coduri de Comandă pentru KK-ACKX.

³ Calibrator ACE liofilizat într-o matrice serică proteică cu activitate specifică lotului. După reconstituire se lasă timp de 15 minute la 18-28 °C și se amestecă bine înainte de utilizare.

⁴ Controale ACE liofilizate Normal și High într-o matrice serică proteică cu activitate specifică lotului. După reconstituire se lasă timp de 15 minute la 18-28 °C și se amestecă bine înainte de utilizare.

STOCAREA ȘI STABILITATEA REACTIVILOR ȘI A SOLUȚIILOR DE LUCRU

| Reactivi nedeschiși | |
|---|-----------------------------------|
| Stocare la 2-8 °C. Nu utilizați kitul după data expirării tipărită pe etichete. | |
| Reactivi deschiși / reconstituiți | |
| Substrat | Stocare până la 6 luni la 2-8 °C. |
| Calibrator | |
| Controale | |
| Stabilitate la bord pe analizoare de chimie clinică | |
| Stocare până la 73 de zile la temperaturi ≤ 15 °C. | |

Tabel 2

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- Analizor de chimie clinică cu filtru la 340 nm.
- Doar metoda manuală:
 - Baie de apă setată la 37 °C
 - Pipete de precizie pentru 25 μL, 100 μL și 1 mL
 - Spectrofotometru cu incubare la 37 °C

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- Acest test este destinat exclusiv utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.
- Se recomandă ca testul să fie gestionat de personal calificat, în conformitate cu practicile bune de laborator (GLP).

Precauții de siguranță

- Soluția neutilizată trebuie eliminată în conformitate cu reglementările locale, de stat și federale.

Precauții tehnice

- Citiți cu atenție instrucțiunile înainte de a efectua testul. Rezultatul testelor va fi afectat în mod negativ, dacă reactivii sunt diluați, manipulați sau depozitați incorect în alte condiții decât cele detaliate în prezenta instrucțiune de utilizare.
- Componentele nu trebuie utilizate după data de expirare tipărită pe etichete.
- Nu amestecați reactivi din loturi diferite.
- Asigurați-vă că probele nu au bule înainte de efectuarea testului.
- Vă rugăm să echilibrați reactivii, controalele, calibratorii și probele la temperatura de depozitare a analizorului sau pentru utilizare manuală la temperatura camerei. Reconstituiți reactivii liofilizați conform indicațiilor. Se amestecă reactivii reconstituiți cu mult timp înainte de utilizare.
- Evitați evaporarea controalelor.

RECOLTAREA ȘI STOCAREA PROBEI

Recoltați sângele în tuburile standard de recoltare a serului și evitați hemoliza. Pentru a evita serurile lipemice, recoltați sânge de la pacienții care postesc. Pregătiți serul în conformitate cu procedura standard din laborator. Pregătirea serului poate fi, de asemenea, efectuată cu ajutorul tuburilor separatoare de gel (SST). Se recomandă o probă de ser de minim 200 μL pentru test. Pentru volumul exact, consultați nota de aplicație a analizorului.

Depozitare: Probele de ser pot fi depozitate nerefrigerate (temperaturi de până la 28 °C) sau la 2-8°C timp de 10 zile. Pentru o depozitare mai îndelungată, păstrați probele la ≤-20 °C. Probele sunt stabile timp de cel puțin 7 luni la ≤-20 °C. Trebuie evitate mai mult de patru (4) cicluri de congelare/dezghet.

PROCEDURA DE TESTARE

Note de aplicație / instalarea testului

Procedurile de testare pentru BÜHLMANN ACE kinetic sunt stabilite pe mai multe analizoare de chimie clinică. Notele de aplicație validate care descriu instalarea și

analiza pe analizoare specifice sunt disponibile la cerere de la BÜHLMANN. Manualele corespunzătoare pentru analizoare trebuie luate în considerare pentru configurarea, întreținerea, funcționarea și precauțiile instrumentului. BÜHLMANN ACE kinetic poate fi, de asemenea, utilizat cu o metodă manuală. Descrierea procedurii este pusă la dispoziție de către BÜHLMANN.

Prepararea reactivului

Substratul este gata de utilizare. Transferați volumul necesar în fiolele/casetele specifice analizorului.

Stabilirea curbei de calibrare

Calibratorul inclus în kit este utilizat pentru a stabili o curbă de calibrare în două puncte, în conformitate cu manualul instrumentului. Valorile calibratorului sunt specifice-lotului. Trebuie efectuată o nouă calibrare pentru fiecare lot nou. În caz contrar, calibrările periodice trebuie efectuate în conformitate cu notele de aplicație specifice analizorului. Consultați fișa cu date-ale QC furnizată împreună cu kitul BÜHLMANN ACE kinetic pentru valorile calibratorului atribuite. Contactați suportul de la BÜHLMANN dacă calibrarea nu poate fi efectuată fără eroare.

Controale QC

Controalele incluse trebuie testate în fiecare zi înainte de testarea probelor de la pacienți pentru a valida curba de calibrare. Măsurătorile de control trebuie să se încadreze în intervalele de valori indicate în fișa cu date-ale QC, pentru a obține rezultate valabile pentru probele de la pacienți. Dacă valorile controlului nu sunt valide, repetați măsurarea cu controale noi. Dacă valorile controlului rămân invalide, recalibrați testul. Dacă valorile controlului valide nu pot fi reproduse, după efectuarea etapelor descrise mai sus, contactați suportul de la BÜHLMANN.

Rezultate

Rezultatele se calculează automat pe analizorul de chimie clinică și sunt prezentate în U/L.

STANDARDIZARE

- Calibratorul testului BÜHLMANN ACE kinetic este utilizat pentru a genera o curbă de calibrare în două puncte. Valorile calibratorului sunt atribuite utilizând o metodă spectrofotometrică UV/VIS și un $\Delta\epsilon$ definit al substratului FAPGG. Valorile sunt raportate în fișa cu date-ale QC. Materialul calibratorului cuprinde ACE din serul de la rozătoare într-o matrice cu tampon. Intervalul de confidență de 95% al incertitudinii combinate a calibratorului produsului este mai mic de 5,0%.
- Intervalul de măsurare analitică a testului cinetic ACE, stabilit pe instrumentul Roche cobas® 6000 c501, este de 11,3 – 200 U/L și poate fi extins în continuare la 500 U/L, folosind programe automate de re-run disponibile pe analizoare de chimie clinică.

LIMITE

- Rezultatele testelor trebuie interpretate împreună cu informațiile disponibile din evaluarea clinică a pacientului și din alte proceduri de diagnosticare.
- Activitatea ACE din ser depinde foarte mult de genotipul pacienților investigați (ref. 3) Rezultatele trebuie revizuite în contextul rezultatelor anterioare BÜHLMANN ACE kinetic obținute pentru pacient.

- Testarea activității ECA nu trebuie efectuată la pacienții tratați pentru hipertensiune arterială cu inhibitori ai ECA, cum ar fi Benazepril (Lotensin), Captopril, Enalapril (Vasotec). Nu a fost detectată nicio interferență pentru medicamentele antihipertensive care conțin blocante ale receptorilor angiotensinei II (antagoniști AT1): Losartan și Eprosartan.
- Hemoliza, icterul și lipemia interferează cu testul. Consultați secțiunea "Substanțe care interferează" pentru indicii serici.
- BÜHLMANN ACE kinetic este validat doar pentru probele din ser. Este decizia laboratorului dacă probele prelevate incorect în tuburi cu litium-heparină sau cu citrat trebuie prelucrate (vă rugăm să consultați secțiunea probe din plasmă pentru mai multe informații).
- EDTA este un inhibitor al activității ECA. Plasma cu EDTA nu poate fi utilizată cu testul BÜHLMANN ACE kinetic.

INTERVALE DE REFERINȚĂ

Adulți: Următorul interval de referință a fost stabilit pentru testul BÜHLMANN ACE kinetic pe baza valorilor procentuale 2,5 - 97,5 obținute pentru participanții sănătoși înscrși la trei studii independente în Elveția (n=80, vârstă: 20 - 70), Germania (n=159, vârstă: 18 - 64, ref. 3) și SUA (n= 327, vârstă 16 - 77, ref. 4):

20 – 70 U/L

Copii: Următorul interval de referință a fost stabilit pentru testul BÜHLMANN ACE kinetic pe baza valorilor procentuale 2,5 - 97,5 obținute pentru participanții pediatrici sănătoși înscrși într-un singur studiu în Germania (n = 84, vârstă: 0,5 - 18):

33 – 112 U/L

CARACTERISTICILE REZULTATULUI

Caracteristicile prezentate ale rezultatului au fost stabilite pe un analizor Roche cobas® 6000 c501, cu excepția cazului în care se indică altfel. Consultați notele de aplicație specifice analizorului de chimie clinică pentru caracteristicile rezultatelor pe alte analizoare de chimie clinică.

Reproductibilitate: 6,3 – 9,1% CV

Reproductibilitatea a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP05-A3 al CLSI folosind un proiect de studiu cu 3 analizoare/loturi x 5 zile x 5 replici. S-a aplicat un criteriu de acceptare de 15% CV și 20% CV, pentru probe de peste și, respectiv, sub 40 U/L. Testarea a fost efectuată în 2 locații ale laboratoarelor, utilizând analizoarele Roche c501, Roche c702 și Beckmann Coulter AU. Au fost testate șase (6) probe din ser. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 3.

Repetabilitate: 0,8 – 3,0% CV

Precizia în cadrul-Laboratorului: 1,7 – 3,7% CV

Repetabilitatea și precizia în interiorul laboratorului au fost stabilite în conformitate cu ghidul CLSI EP05-A3 utilizând proiectul de studiu standardizat cu 20 de zile x 2 run-uri x 2 replici. S-a aplicat un criteriu de acceptare de 10% CV și 15% CV, pentru repetabilitate și precizie

În laborator, respectiv, pentru probe de peste 40 U/L. Pentru probele sub 40 U/L, criteriul de acceptare a fost de 20% CV. Au fost testate șase (6) probe din ser. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.

Precizia / Recuperarea: 92,0 – 112,8%

Șase (6) probe din ser cu valori ale activității ECA care acoperă intervalul de măsurare al BÜHLMANN ACE kinetic au fost marcate cu 20,5 U/L ACE obținut din materialul pentru calibrator. Spiking-ul a fost efectuat la 10% din volumul probei. Probele "baseline" au fost marcate cu volumul corespunzător de NaCl 0,9%. Probele "Baseline" și "Baseline + spike" au fost măsurate în patru (4) replici. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 5.

Carry-overul probei

Carry-overul probei a fost stabilit în conformitate cu ghidul EP10-A2 al CLSI. Nu a fost detectat carry-over semnificativ din punct de vedere statistic cu testul cinetic ACE pe analizorul Roche cobas® 6000 c501.

Limita de Detecție (LoD): 6,8 U/L

LoD a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP17-A2 al CLSI folosind abordarea clasică, analiza parametrică și o LoB de 4,3 U/L, determinată cu ajutorul unei analize non-parametrice.

Limita de Cuantificare (LoQ): 11,3 U/L

LoQ a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP17-A2 al CLSI, pe baza a 60 de determinări și a unui obiectiv de precizie de 20% CV.

Intervalul de linearitate: 4,3 – 534,9 U/L

Intervalul liniar al testului BÜHLMANN ACE kinetic a fost determinat în conformitate cu ghidul EP06-A al CLSI. Probele cu o activitate de peste 150 U/L au fost re-testate automat folosind un volum redus de probe. A fost permisă o abatere maximă de la liniaritate de ± 4 U/L sau $\pm 10\%$.

Zona de Securitate

Probele cu activitate teoretică a ECA de până la 541,2 U/L pot fi măsurate fără a limita intervalul de măsurare al testului.

SUBSTANȚE DE INTERFERENȚĂ

Susceptibilitatea testului BÜHLMANN ACE kinetic la substanțele care interferă a fost evaluată în conformitate cu ghidul EP07-A2 al CLSI. Biasul în rezultate care depășesc 20% a fost considerat interferență.

Farmaceutice orale

Nu a fost detectată nici o interferență cu următoarele substanțe: Aspirină (0,65 mg/mL), Azatioprină (3,0 μ g/mL), Clorambucil (7,2 μ g/mL), Ciclofosamidă (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hidroxiclorochină (până la 0,06 mg/mL), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Metotrexat (2,0 μ g/mL), Prednison (0,3 μ g/mL).

Indici din Ser

Au fost detectate interferențe cu următoarele substanțe la concentrațiile enumerate: trigliceride (2,24 mg/mL), bilirubină conjugată (0,06 mg/mL), bilirubină neconjugată (0,047 mg/mL) și hemoglobină (1,19 mg/mL). Nu s-au observat interferențe cu trigliceridele atunci când probele cu aspect turbid au fost supuse unei centrifugări scurte (10 min/ 12 000 x g) pentru separarea supernatantului conținând lipide cu.

Probele din plasmă

Rezultatele probelor de la donatorii de sânge sănătoși prelevate în tuburi cu litiu-heparină și cu citrat au fost comparate cu rezultatele obținute cu probe din ser de la aceiași donatori, recoltate în conformitate cu instrucțiunile de utilizare. Biasul a fost determinat utilizând regresia liniară Passing-Bablok și analiza Bland-Altman. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 6.

TABELE ȘI FIGURI

Reproductibilitatea

| ID | Activitate medie a ACE [U/L] | n | În cadrul-run-ului | | Între-zile | | Între-loturi/instrument | | 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% |

Tabel 3

Precizia în cadrul-laboratorului

| ID | Activitate medie ACE [U/L] | n | În cadrul-run-ului | | Între-zile | | Între-zile | | 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% |

Tabel 4

Recuperarea

| ID Probă | 12615 | 12618 | 12614 | 12558 | 3198532 | 3190624 |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|
| Valoare de bază [U/L] | 19,8 | 34,6 | 59,0 | 69,8 | 75,8 | 104,6 |
| Valoare Spike [U/L] | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 |
| Valoare estimată [U/L] | 40,3 | 55,1 | 79,5 | 90,3 | 96,3 | 125,1 |
| Valoare observată [U/L] | 37,1 | 56,9 | 80,8 | 89,8 | 108,7 | 130,0 |
| Total recuperare [%] | 92,0 | 103,3 | 101,7 | 99,4 | 112,8 | 103,9 |

Tabel 5

Probe din plasmă

| Matrice | N | Analiza Bland-Altman | | | Analiza de Regresie Passing-Bablok | | |
|--------------------------|----|-----------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------|
| | | Bias mediu (95% CI) | LoA Superior (95% CI) | LoA Inferior (95% CI) | Înclinare (95% CI) | Intercept (95% CI) | r |
| Plasmă cu litiu-heparină | 38 | -1,1% (-4,5 până la 2,3) | 20,7% (14,9 până la 26,6) | -23,0% (-28,8 până la -17,1) | 0,9 (0,8 până la 1,0) | 2,5 (0,2 până la 5,4) | 0,975 |
| Plasmă cu citrat | 44 | -10,8% (-13,9 până la -7,6) | 8,1% (2,6 până la 13,5) | -29,6% (-35,0 până la -24,2) | 0,8 (0,8 până la 0,9) | 1,7 (-0,7 până la 4,4) | 0,990 |

Tabel 6

BIBLIOGRAFIE

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).

RAPORTAREA INCIDENTELOR ÎN STATELE MEMBRE ALE UE

În cazul în care a avut loc un incident grav în legătură cu acest dispozitiv, vă rugăm să raportați fără întârziere producătorului și autorității competente din statul membru al dvs.

DAUNE DE TRANSPORT MARITIM

Vă rugăm să vă anunțați distribuitorul, în cazul în care acest produs a fost primit deteriorat.

SIMBOLURI

BÜHLMANN utilizează simboluri și semne enumerate și descrise în ISO 15223-1. În plus, se utilizează următoarele simboluri și semne:

| Simbol | Explicație |
|-----------|------------------|
| Control N | Controale Normal |
| Control H | Controale High |
| CAL | Calibrator |
| SUBS | Substrat |

