



BÜHLMANN ACE kinetic

Angiotenzin konvertujući enzim

za *In Vitro* dijagnostičku upotrebu

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

Datum izdavanja: 2022-10-21
Verzija A1

 **Proizvođač**

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Švajcarska
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

NAMENA

BÜHLMANN ACE kinetik je *in vitro* dijagnostički biohemijski test namenjen za kvantitativno određivanje aktivnosti angiotenzin konvertujućeg enzima (ACE) u uzorcima seruma. Test predstavlja pomoć za procenu aktivnosti bolesti kod pacijenata sa sarkoidozom, zajedno sa ostalim kliničkim i laboratorijskim nalazima.

Samo za laboratorijsku upotrebu.

PRINCIP TESTA

Test je kvantitativni enzimski test koji se lako može primeniti na kliničkim biohemijskim analizatorima ili se može izvesti manuelnom metodom. ACE katalizuje konverziju angiotenzina I u angiotenzin II. Enzim takođe posreduje u razgradnji sintetičkog supstrata furilakriloilfenilalanilglicilglicina (FAPGG), do aminokiselinskog derivata firilakriloilfenilalanina (FAP) i dipeptida glicilglicina (GG). Linearna kinetika ove reakcije se meri beleženjem smanjenja apsorbancije na 340 nm (ref. 1, 2). Konačna aktivnost ACE u U/L u uzorku pacijenta se određuje korišćenjem kalibracione krive generisane na osnovu izmerene vrednosti kalibratora.

OBEZBEĐENI REAGENSI

Reagensi	Količina			Kod	Rekonstitucija
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Supstrat	1 bočica/ 4 bočice 26 mL	2 bočice 13 mL	3 bočice 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ²	Spreman za upotrebu
Kalibrator³	1 bočica / 2 vials	2 bočice	3 bočice	B-ACK-CA	Dodati 2 mL dejonizovane vode
Kontrole⁴ Normalna i Visoka	1x2 bočice / 2x2 bočice	2x2 bočice	3x2 bočice	B-ACK- CONSET	Dodati 2 mL dejonizovane vode

Tabela 1

¹ Kod za poručivanje KK-ACK2.

² Kod za poručivanje for KK-ACKX.

³ Liofilizovan ACE Kalibrator u matriksu proteina humanog seruma sa aktivnošću koja je specifična za lot. Nakon rekonstituisanja ostaviti 15 minuta na 18-28 °C i dobro izmešati pre upotrebe.

⁴ Liofilizovane ACE Kontrole sa normalnim i visokim vrednostima u matriksu proteina humanog seruma sa aktivnošću koja je specifična za lot. Rekonstituisati 15 minuta na 18-28 °C i dobro izmešati pre upotrebe.

ČUVANJE I STABILNOST REAGENASA I RADNIH RASTVORA

Neotvoreni reagensi	
Čuvati na 2-8 °C. Ne koristiti kit nakon isteka roka koji je odštampan na nalepnici.	
Otvoreni / Rekonstituisani reagensi	
Supstrat	Čuvati do 6 meseci na 2-8°C.
Kalibrator	
Kontrole	
On-board stabilnost na kliničkim biohemijskim analizatorima	
Čuvati do 73 dana na temperaturi ≤ 15 °C.	

Tabela 2

MATERIJAL KOJI JE POTREBAN I NIJE OBEZBEĐEN

- Klinički biohemijski analizator sa filterom na 340 nm.
- Samo za manuelnu metodu:
 - Vodeno kupatilo podešeno na 37 °C
 - Precizne pipete od 25 µL, 100 µL i 1 mL
 - Spektrofotometar sa inkubatorom na 37 °C

UPOZORENJA I PREDOSTROŽNOSTI

- Ovaj test je namenjen isključivo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Preporučljivo je da testom rukuje kvalifikovano osoblje, u skladu sa smernicama Dobre laboratorijske prakse (DLP).

Mere opreza

- Neupotrebljen rastvor treba odložiti u skladu sa lokalnim i državnim propisima.

Tehničke predostrožnosti

- Pažljivo pročitati uputstvo za upotrebu pre izvođenja testa. Nepravilno rastvaranje reagenasa, rukovanje ili čuvanje u uslovima koji nisu navedeni u ovom uputstvu za upotrebu, može imati negativan efekat na performanse.
- Komponente se ne smeju koristiti nakon isteka roka upotrebe koji je odštampan na nalepnici.
- Ne kombinovati reagense različitih lotova.
- Osigurati da uzorci pre testiranja nemaju mehuriće.
- Omogućiti da reagensi, kontrole, kalibratori i uzorci dostignu sobnu temperaturu. Rekonstituisati liofilizovane reagense kako je navedeno. Temeljno izmešati reagense pre upotrebe.
- Sprečiti isparavanje kontrola.

SAKUPLJANJE I ČUVANJE UZORAKA

Sakupiti uzorke u standardne epruvete za sakupljanje seruma i sprečiti hemolizu. Da bi se izbegla upotreba lipemičnih seruma, uzorke treba uzeti pacijenata koji poste. Pripremiti serum u skladu sa standardnom laboratorijskom procedurom. Piprema seruma može se izvesti upotrebom epruveta sa gel separatorom (SST).

Za test se preporučuje najmanje 200 µL uzorka seruma. Za tačnu zapreminu pogledati aplikacioni protokol za aparat.

Čuvanje: Uzorci seruma mogu se čuvati van frižidera (temperatura do 28 °C) ili na 2-8 °C 10 dana. Za duže skladištenje uzorke čuvati na ≤-20 °C. Uzorci su stabilni najmanje 7 meseci na ≤-20 °C. Treba izbegavati više od četiri (4) ciklusa zamrzavanja/odmrzavanja

PROCEDURA TESTIRANJA**Aplikacione nepomene/ aplikacija testa**

Procedura testiranja za BÜHLMANN ACE kinetik su ustanovljene na nekoliko kliničkih biohemijskih analizatora. Validirane napomene o aplikaciji koje opisuju aplikaciju i analizu na određenim

instrumentima su dostupne od kompanije BÜHLMANN na zahtev. Informacije za podešavanje, održavanje, rad i mere predostrožnosti koje se moraju uzeti u obzir nalaze se u odgovarajućem uputstvu za instrumente.

BÜHLMANN ACE kinetic se takođe može koristiti i manuelnom metodom. Opis procedure je dostupan od BÜHLMANN-a na zahtev.

Priprema reagensa

Supstrat je spreman za upotrebu. Preneti potrebnu zapreminu u boce/kasete specifične za analizator.

Uspostavljanje kalibracione krive

Kalibrator uključen u kit se koristi za uspostavljanje kalibracione krive u dve tačke, prema priručniku za instrument. Vrednosti kalibratora su specifične za lot. Nova kalibracija se mora izvršiti za svaki novi lot. U suprotnom, periodične kalibracije treba da se vrše u skladu sa napomenama o primeni specifičnih za instrument. Za dodeljene vrednosti kalibratora pogledati QC-tehničku listu koja se isporučuje sa BÜHLMANN ACE kinetic kitom. Kontaktirati BÜHLMANN podršku ako se kalibracija ne može izvršiti bez greške.

QC kontrole

Uključene kontrole treba testirati svaki dan pre uzimanja uzoraka pacijenata, da bi se potvrdila kalibraciona kriva. Kontrolna merenja moraju biti unutar opsega vrednosti koji su navedeni u QC dokumentu, da bi se dobili validni rezultati za uzorke pacijenata. Ako kontrolne vrednosti nisu važeće, ponoviti merenje sa novim kontrolama. Ako kontrolne vrednosti ostanu nevažeće, ponovo kalibrisati test. Ako se važeće kontrolne vrednosti ne mogu reprodukovati, nakon izvođenja gore opisanih koraka, kontaktirati BÜHLMANN podršku.

Rezultati

Rezultati se automatski izračunavaju na kliničkom biohemijskom analizatoru i prikazuju se u U/L.

STANDARDIZACIJA

- BÜHLMANN ACE kinetic kalibrator se koristi za generisanje two-point kalibracione krive. Vrednosti kalibratora se dodeljuju korišćenjem UV/VIS spektrofotometrijske metode i definisanog $\Delta\epsilon$ FAPGG supstrata. Vrednosti su navedene u QC dokumentu. Materijal kalibratora sadrži ACE iz seruma glodara u puferskom matriksu. Interval pouzdanosti od 95% kombinovane nesigurnosti kalibratora proizvoda je manji od 5,0%.
- Analitički merni interval ACE kinetic testa, ustanovljen na instrumentu Roche cobas® 6000 c501, je 11,3 – 200 U/L i može se dalje produžiti na 500 U/L, korišćenjem programa automatskog re-run programa dostupnog na kliničke biohemijskim analizatorima.

OGRANIČENJA

- Test treba tumačiti u vezi sa informacijama dobijenih kliničkom procenom pacijenta i drugih dijagnostičkih procedura.
- Aktivnost ACE u serumu jako zavisi od genotipa ispitivanih pacijenata (ref. 3). Rezultate treba tumačiti u kontekstu prethodnih BÜHLMANN ACE kinetic rezultata dobijenih za pacijenta.

- Testiranje aktivnosti ACE ne treba sprovoditi kod pacijenata koji se leče od hipertenzije ACE inhibitorima kao što su Benazepril (Lotensin), Captopril, Enalapril (Vasotec). Nisu otkrivene smetnje za antihipertenzivne lekove koji sadrže blokatore receptora angiotenzina II (AT1-antagoniste): Losartan i Eprosartan.
- Hemoliza, ikterus i lipemija ometaju test. Pogledati odeljak „Interferirajuće supstance“ za indekse seruma.
- BÜHLMANN ACE kinetic je validiran samo za uzorke seruma. Odluka laboratorije je da li uzorke koji su pogrešno prikupljeni u epruvete sa litijum heparinom ili citratom treba obraditi (za više informacija pogledati odeljak uzorci plazme).
- EDTA je inhibitor ACE aktivnosti. EDTA plazma se ne može koristiti sa BÜHLMANN ACE kinetic testom.

REFERENTNI INTERVALI

Odrasli: Sledeći referentni interval je ustanovljen za BÜHLMANN ACE kinetic na osnovu vrednosti 2,5 - tog 97,5-tog percentila dobijenih za zdrave učesnike upisane u tri nezavisne studije u Švajcarskoj (n=80, uzrast: 20 - 70), Nemačkoj (n=159, godine: 18 - 64, ref. 3) i SAD (n= 327, 16 - 77 godina, ref. 4):

20 – 70 U/L

Deca: Sledeći referentni interval je uspostavljen za BÜHLMANN ACE kinetic na osnovu vrednosti od 2,5-tog – 97,5-tog percentila dobijenih za zdrave pedijatrijske učesnike uključene u jednu studiju u Nemačkoj (n=84, uzrast: 0,5 - 18):

33 – 112 U/L

KARAKTERISTIKE PERFORMASI

Prikazane karakteristike performansi su utvrđene na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu, osim ako nije drugačije naznačeno. Pogledati posebne napomene o primeni kliničkog biohemijskog analizatora i karakteristike performansi drugih kliničkih biohemijskih analizatora.

Reproducibilnost: 6,3 – 9,1% CV

Reproducibilnost je utvrđena u skladu sa CLSI smernicom EP05-A3 korišćenjem dizajna studije sa 3 instrumenta/lota x 5 dana x 5 ponavljanja. Primenjen je kriterijum prihvatljivosti od 15% CV i 20% CV za uzorke iznad i ispod 40 U/L. Ispitivanje je obavljeno na 2 laboratorijske lokacije, korišćenjem instrumenata Roche c501, Roche c702 i Beckmann Coulter AU. Testirano je šest (6) uzoraka seruma. Rezultati su predstavljeni u tabeli 3.

Ponovljivost: 0,8 – 3,0% CV

Preciznost unutar laboratorije: 1,7 – 3,7% CV

Ponovljivost i preciznost unutar laboratorije utvrđene su prema CLSI smernici EP05-A3 korišćenjem standardizovanog dizajna studije od 20 dana x 2 serije x 2 ponavljanja. Primenjen je kriterijum prihvatljivosti od 10% CV i 15% CV, za ponovljivost i preciznost unutar laboratorije, za uzorke iznad 40 U/L. Za uzorke ispod 40 U/L kriterijum prihvatljivosti je bio 20% CV.

Testirano je šest (6) uzoraka seruma. Rezultati su predstavljeni u tabeli 4.

Tačnost / Recovery: 92,0 – 112,8%

Šest (6) uzoraka seruma sa vrednostima ACE aktivnosti koji pokrivaju BÜHLMANN ACE kinetički merni opseg su spajkovani sa 20,5 U/L ACE dobijenog iz materijala kalibratora. Spajkovanje je izvršeno na 10% zapremine uzorka. „Baseline“ uzorci su spajkovani odgovarajućom zapreminom 0,9% NaCl. Uzorci „Baseline“ i „Baseline + spike“ su izmereni u četiri (4) ponavljanja. Rezultati su sumirani u tabeli 5.

Carry-over uzorka

Carry-over uzorka je uspostavljen prema CLSI smernici EP10-A2. Nije otkriven statistički značajan carry-over sa ACE kinetic testom na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu.

Limit detekcije (LoD): 6,8 U/L

LoD je uspostavljen u skladu sa CLSI smernicom EP17-A2 korišćenjem klasičnog pristupa, parametarske analize i LoB od 4,3 U/L, određen korišćenjem neparametarske analize.

Limit kvantifikacije (LoQ): 11,3 U/L

LoQ je u skladu sa CLSI smernicama EP17-A2, zasnovan na 60 određivanja i preciznosti od 20% CV.

Opseg linearnosti: 4,3 – 534,9 U/L

Opseg linearnosti BÜHLMANN ACE kinetic je određen prema CLSI smernici EP06-A. Uzorci sa aktivnošću većom od 150 U/L su automatski ponovo testirani korišćenjem smanjene zapremine uzorka. Dozvoljeno je maksimalno odstupanje linearnosti od ± 4 U/L ili $\pm 10\%$.

Security Zone

Uzorci sa teoretskom aktivnošću ACE do 541,2 U/L mogu se meriti bez ograničavanja opsega merenja testa.

INTERFERIRAJUĆE SUPSTANCE

Osetljivost BÜHLMANN ACE kinetic testa na interferirajuće supstance je procenjena prema CLSI smernici EP07-A2. Bias koji je veći od 20% smatra se interferencijom.

Oralni farmaceutski proizvodi

Nije detektovana interferencija sa sledećim supstancama; Aspirin (0,65 mg/mL), Azatioprin (3,0 µg/mL), Hlorambucil (7,2 µg/mL), (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Ciklofosamid (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hidroksihlorokin (do 0,06 mg/mL), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Metotreksat (2,0 µg/mL), Prednizon (0,3 µg/mL).

Serumski indeksi

Interferencija je detektovana kod sledećih supstanci u navedenim koncentracijama: trigliceridi (2,24 mg/mL), konjugovani bilirubin (0,06 mg/mL), nekonjugovani bilirubin (0,047 mg/mL) i hemoglobin (1,19 mg/mL). Nije primećena interferencija triglicerida kada su uzorci sa zamućenjem podvrgnuti kratkom centrifugiranju (10 min / 12.000 x g) i odvajanju supernatanta koji sadrži lipide.

Uzorci plazme

Rezultati uzoraka zdravih davalaca krvi sakupljenih u litijum heparin i citratne epruvete upoređeni su sa rezultatima dobijenim za uzorke seruma istog davaoca, sakupljenih u skladu sa uputstvom za upotrebu. Bias je određen korišćenjem Passing-Bablokove linearne regresije i Bland-Altman analize. Rezultati su sumirani u tabeli 6.

TABELE I SLIKE

Reproducibilnost

ID	Sred. ACE aktivnost [U/L]	n	Unutar serije		Između dana		Između lotova/instrumenta		Ukupno	
			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

Unutar laboratorijska preciznost

ID	Sred. ACE aktivnost [U/L]	n	Unutar serije		Između serija		Između dana		Ukupno	
			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

Tačnost

ID uzorka	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Bazna vrednost [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Spike vrednost [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Očekivana vrednost [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Dobijena vrednost [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Ukupan recovery [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabela 5

Uzorci plazme

Matriks	N	Bland-Altman analiza			Passing-Bablok regresiona analiza		
		Sred. bias (95% CI)	Gornji LoA (95% CI)	Donji LoA (95% CI)	Slope (95% CI)	Intercept (95% CI)	r
Litijum heparinizirana plazma	38	-1,1% (-4,5 da 2,3)	20,7% (14,9 da 26,6)	-23,0% (-28,8 da -17,1)	0,9 (0,8 da 1,0)	2,5 (0,2 da 5,4)	0,975
Citratna plazma	44	-10,8% (-13,9 da -7,6)	8,1% (2,6 da 13,5)	-29,6% (-35,0 da -24,2)	0,8 (0,8 da 0,9)	1,7 (-0,7 da 4,4)	0,990

Tabela 6

REFERENCE

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

IZVEŠTAVANJE O INCIDENTIMA U ZEMLJAMA EU

Ako se desio bilo kakav ozbiljan incident u vezi sa ovim medicinskim sredstvom, molimo da ga bez odlaganja prijavite proizvođaču i nadležnom organu svoje države članice EU.

OŠTEĆENJE PRILIKOM TRANSPORTA

Ukoliko ste proizvod primili u oštećenom stanju, molimo da kontaktirate svog distributera.

SIMBOLI

BÜHLMANN koristi simbole i oznake navedene u ISO 15223-1 standardu. Dodatno se koriste sledeći simboli i oznake:

Simbol	Objašnjenje
Control N	Kontrola sa normalnim vrednostima
Control H	Kontrola sa visokim vrednostima
CAL	Kalibrator
SUBS	Supstrat

