



BÜHLMANN ACE kinetic

Enzyme de conversion de l'angiotensine

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*

| | |
|---------|-------------------------|
| KK-ACK | 26 mL de substrats |
| KK-ACK2 | 2 x 13 mL de substrats |
| KK-ACK4 | 4 x 26 mL de substrats |
| KK-ACKX | 3 x 100 mL de substrats |

Date de publication: 2022-10-21
Version A1



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

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage BÜHLMANN ACE kinetic est un dosage biochimique de diagnostic *in vitro* destiné à la détermination quantitative de l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) dans les échantillons de sérum. Le dosage facilite l'évaluation de l'activité de la maladie chez des patients atteints de sarcoidose en conjonction avec d'autres résultats cliniques et analyses de laboratoires.

Pour utilisation en laboratoire uniquement.

PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage est un test enzymatique quantitatif qui peut aisément être utilisé sur des analyseurs de chimie clinique ou réalisé manuellement. L'ECA catalyse la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II. Cette enzyme est également le médiateur du clivage d'un substrat synthétique, la furylacryloylphénylalaninylglycylglycine (FAPGG), en le dérivé d'acide aminé furylacryloylphénylalanine (FAP) et en le dipeptide glycylglycine (GG). La cinétique linéaire de cette réaction de clivage est mesurée en observant la diminution de l'absorbance à 340 nm (réf. 1, 2). L'activité finale de l'ECA en U/L dans l'échantillon du patient est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage générée à partir de la valeur mesurée du calibrateur.

RÉACTIFS FOURNIS

| Réactifs | Quantité | | | Code | Préparation |
|---|---------------------------------|--------------------|---------------------|---|------------------------------|
| | KK-ACK/ KK-ACK4 | KK-ACK2 | KK-ACKX | | |
| Substrats | 1 flacon/ 4 flacons 26 mL | 2 flacons 13 mL | 3 flacons 100 mL | B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACKX-SUB ² | Prêt à l'emploi |
| Calibra- teurs³ | 1 flacon/ 2 flacons | 2 flacons | 3 flacons | B-ACK-CA | Ajouter 2 mL d'eau déionisée |
| Contrôles⁴ Normal et élevé | 1x2 flacons/ 2x2 flacons | 2x2 flacons | 3x2 flacons | B-ACK- CONSET | Ajouter 2 mL d'eau déionisée |

Tableau 1

¹ code de commande KK-ACK2.

² code de commande KK-ACKX.

³ Calibrateur ECA lyophilisé dans une matrice de protéines sériques avec une activité spécifique à chaque lot. Après reconstitution, laisser reposer 15 minutes à 18-28 °C puis bien mélanger avant utilisation.

⁴ Les Contrôles ECA Normal et Élevé sont lyophilisés dans une matrice de protéines sériques avec une activité spécifique à chaque lot. Reconstituer pendant 15 minutes à 18-28 °C puis bien mélanger avant utilisation.

STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS ET DES SOLUTIONS DE TRAVAIL

| Réactifs non ouverts | |
|--|----------------------------------|
| Stocker à 2-8 °C. Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption imprimée sur les étiquettes. | |
| Réactifs ouverts/reconstitués | |
| Substrat | Stocker jusqu'à 6 mois à 2-8 °C. |
| Calibrateur | |
| Contrôles | |
| Stabilité à bord des analyseurs de chimie clinique | |
| Stocker à ≤ 15°C jusqu'à 73 jours | |

Tableau 2

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Analyseur de chimie clinique avec filtre 340 nm.
- Méthode manuelle uniquement :
 - Bain-marie ou incubateur à 37 °C
 - Pipettes de précision de 25 µL, 100 µL et 1 mL
 - Spectrophotomètre avec incubation à 37 °C

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Ce coffret est exclusivement destiné à une utilisation diagnostique *in vitro*.
- Il est recommandé que le test soit mis en œuvre par un personnel qualifié, conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Précautions de sécurité

- Les solutions et réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément à la réglementation locale.

Précautions techniques

- Lire attentivement les instructions avant de réaliser le test. Les performances du test seront altérées par une mauvaise manipulation ou dilution des réactifs, ou si ces derniers sont conservés dans des conditions ne respectant pas les instructions d'utilisation détaillées dans ce guide d'utilisation.
- Les composants ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption imprimée sur les étiquettes.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Vérifier que les échantillons sont exempts de bulles avant l'exécution du test.
- Equilibrer les réactifs, les contrôles et calibrateur et les échantillons à la température de stockage dans l'analyseur, ou à température ambiante en cas de méthode manuelle. Reconstituez les réactifs lyophilisés comme indiqué. Mélangez vigoureusement les réactifs reconstitués avant utilisation.
- Éviter l'évaporation des contrôles.

PRÉLÈVEMENT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Recueillir le sang dans des tubes de prélèvement de sérum standard, en évitant l'hémolyse. Afin d'éviter les sérums lipémiques, réaliser le prélèvement sanguin chez des patients à jeun. Préparez le sérum selon la procédure standard de votre laboratoire. Le sérum peut également être préparé dans des tubes à gel séparateur (SST).

Il est recommandé d'utiliser un volume minimum de 200 µL de volume d'échantillon de sérum pour réaliser le test. Pour connaître le volume exact, consultez la note d'application de l'instrument.

Stockage : Les échantillons de sérum peuvent être stockés sans réfrigération (températures jusqu'à 28 °C) ou à 2-8 °C pendant 10 jours. Pour un stockage de plus longue durée, conserver les échantillons à ≤ -20 °C. Les échantillons sont stables pendant au moins 7 mois à ≤ -20 °C. Il n'est pas recommandé de pratiquer plus de quatre (4) cycles de congélation/décongélation.

PROCEDURE DE DOSAGE

Notes d'application/installation du dosage

Les procédures de dosage du coffret BÜHLMANN ACE kinetic sont établis sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Les notes d'application validées décrivant l'installation et l'analyse sur des instruments spécifiques sont disponibles sur demande auprès de BÜHLMANN sur simple demande. Les manuels d'utilisation des instruments correspondants doivent être pris en compte pour la configuration, la maintenance, l'utilisation et les précautions relatives aux instruments.

Le dosage BÜHLMANN ACE kinetic peut également être réalisé manuellement. La description de la procédure est disponible sur demande auprès de BÜHLMANN.

Préparation des réactifs

Le substrat est prêt à l'emploi. Transférez le volume nécessaire dans les flacons/cassettes spécifiques de l'analyseur.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Le calibrateur inclus dans le coffret permet d'établir une courbe d'étalonnage à deux points conformément au guide d'utilisation de l'instrument. Les valeurs des calibrateurs sont spécifiques au lot. Un nouvel étalonnage doit être effectué pour chaque nouveau lot. Sinon, des étalonnages périodiques doivent être réalisés conformément aux notes d'application spécifiques à l'instrument. Consulter la fiche de données de Contrôle Qualité fournie avec le coffret BÜHLMANN ACE kinetic pour connaître les valeurs attribuées au calibrateur. Contacter l'assistance BÜHLMANN si l'étalonnage ne peut être effectué sans erreur.

Contrôles CQ

Les contrôles inclus dans le coffret doivent être mesurés tous les jours avant l'analyse des échantillons de patient pour valider la courbe d'étalonnage. Les valeurs des contrôles doivent être comprises dans les plages de mesure indiquées dans la fiche de données de contrôle qualité, pour obtenir des résultats valides pour les échantillons de patient. Si les valeurs des contrôles sont invalides, répéter la mesure avec des contrôles frais. Si les valeurs des contrôles sont toujours invalides, calibrer à nouveau le dosage. S'il est impossible de reproduire des valeurs de contrôle valides, après avoir suivi les étapes décrites ci-dessus, contacter l'assistance BÜHLMANN.

Résultats

Les résultats sont calculés automatiquement sur l'analyseur de chimie clinique et présentés en U/L.

STANDARDISATION

- Le calibrateur BÜHLMANN ACE kinetic est utilisé pour générer une courbe d'étalonnage à deux points. Les valeurs des calibrateurs sont attribuées à l'aide d'une méthode spectrophotométrique UV/Vis et d'un $\Delta\epsilon$ défini pour le substrat FAPGG. Les valeurs sont consignées dans la fiche de données de CQ. Le matériel de calibration contient une ECA de sérum de rongeur dans une matrice de tampon. L'intervalle de confiance à 95 % de l'incertitude combinée du calibrateur produit est inférieur à 5,0%.
- L'intervalle de mesure analytique du dosage ACE kinetic, établi sur l'instrument cobas® 6000 c501 de Roche, est de 11,3 - 200 U/L, et peut être étendu jusqu'à 500 U/L en utilisant les programmes de réanalyse automatique disponibles sur les analyseurs de chimie clinique.

LIMITATIONS

- Les résultats des tests doivent être interprétés en conjonction avec les informations issues de l'évaluation clinique du patient et des autres procédures diagnostiques.
- L'activité de l'ECA sérique dépend fortement du génotype du patient étudié (réf. 3). Les résultats doivent être examinés dans le contexte de résultats antérieurs obtenus auprès du même patient avec le dosage BÜHLMANN ACE kinetic.
- Les tests d'activité de l'ECA ne doivent pas être effectués sur des patients traités pour l'hypertension par des inhibiteurs de l'ECA tels que Bénazépril (Lotensine), Captopril, Énalapril (Vasotec). Aucune interférence n'a été détectée pour les médicaments antihypertenseurs contenant des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (antagonistes d'AT1) n'a été détectée : Losartan et Eprosartan.
- L'hémolyse, l'ictère et la lipémie interfèrent avec le dosage. Consulter la section « Substances interférentes » pour connaître les indices sériques.
- Le dosage BÜHLMANN ACE kinetic est uniquement validé pour les échantillons de sérum. La décision de traiter les échantillons prélevés de façon incorrecte dans des tubes de lithium-héparine ou de citrate appartient au laboratoire (consulter la section Échantillons de plasma pour plus d'informations).
- L'EDTA est un inhibiteur de l'activité de l'ECA. Le plasma EDTA ne peut pas être utilisé avec le dosage BÜHLMANN ACE kinetic.

INTERVALLES DE REFERENCE

Adultes : L'intervalle de référence suivant a été établi pour le dosage BÜHLMANN ACE kinetic à partir des valeurs des 2,5^e – 97,5^e centiles obtenues auprès de participants sains engagés dans trois études indépendantes en Suisse (n = 80, âge : 20 - 70), en Allemagne (n = 159, âge : 18 - 64, réf. 3) et aux États-Unis (n = 327, âge 16 - 77, réf. 4) :

20 – 70 U/L

Enfants : L'intervalle de référence suivant a été établi pour le dosage BÜHLMANN ACE kinetic à partir des valeurs des 2,5^e – 97,5^e centiles obtenues auprès de participants pédiatriques sains engagés dans une seule étude en Allemagne (n = 84, âge : 0,5 - 18) :

33 – 112 U/L

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance présentées ont été établies sur un instrument cobas® 6000 c501 de Roche, sauf indication contraire. Consulter la note d'application spécifique à l'analyseur de chimie clinique utilisé pour prendre connaissance de ses caractéristiques de performance.

Reproductibilité : 6,3 – 9,1% CV

La reproductibilité a été établie conformément à la directive EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude 3 instruments/lots x 5 jours x 5 réplicas. Des critères d'acceptabilité de 15% CV et de 20% CV, pour les échantillons supérieurs et inférieurs à 40 U/L,

respectivement, ont été appliqués. Les tests ont été réalisés sur 2 sites de laboratoire, sur des instruments c501 de Roche, c702 de Roche et AU de Beckman Coulter. Six (6) échantillons de sérum ont été testés. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Répétabilité : 0,8 – 3,0% CV

Précision intra-laboratoire : 1,7 – 3,7% CV

La répétabilité et la précision intra-laboratoire ont été conformément à la directive EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude normalisé de 20 jours x 2 analyses x 2 réplicats. Des critères d'acceptabilité de 10% CV et de 15% CV, pour la répétabilité et la précision intra-laboratoire, respectivement, ont été appliqués pour les échantillons supérieurs à 40 U/L. Pour les échantillons en dessous de 40 U/L, le critère d'acceptabilité était de 20% CV. Six (6) échantillons de sérum ont été testés. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Exactitude / Récupération : 92,0 – 112,8%

Six (6) échantillons de sérum présentant des valeurs d'activité de l'ECA couvrant la gamme de mesure du dosage BÜHLMANN ACE kinetic ont été additionnés de 20,5 U/L d'ACE obtenu à partir du matériel de calibration. L'addition a été réalisée à 10% du volume d'échantillon. Les échantillons « de ligne de base » ont été additionnés du volume correspondant de NaCl à 0,9%. Les échantillons « de ligne de base » et « de ligne de base + addition » ont été mesurés sur en quatre (4) réplicats. Les résultats sont résumés dans le tableau 5.

Contamination inter-échantillons

La contamination inter-échantillons a été établie conformément à la directive EP10-A2 du CLSI. Aucune contamination inter-échantillons statistiquement significative n'a été détectée dans le dosage ACE kinetic sur un instrument cobas® 6000 c501 de Roche.

Limite de detection (LoD) : 6,8 U/L

La LoD a été établie conformément à la directive CLSI EP17-A2 en suivant l'approche classique, une analyse paramétrique et une LoB de 4,3 U/L, déterminée à l'aide d'une analyse non paramétrique.

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

La LoQ a été établie conformément à la directive EP17-A2 du CLSI à partir de 60 déterminations et d'un objectif de précision de 20% CV.

Linéarité: 4,3 – 534,9 U/L

La plage de linéarité du dosage BÜHLMANN ACE kinetic a été déterminée conformément à la directive EP06-A du CLSI. Les échantillons dont l'activité était supérieure à 150 U/L ont été automatiquement réanalysés avec un volume d'échantillon réduit. Un écart maximal de ± 4 U/L ou de $\pm 10\%$ avec la linéarité était autorisé.

Zone de sécurité

Les échantillons avec une activité ECA théorique jusqu'à 541,2 U/L peuvent être mesurés sans limiter la gamme de mesure du dosage.

SUBSTANCES INTERFERENTES

La sensibilité du dosage BÜHLMANN ACE kinetic aux substances interférentes a été évaluée conformément à la directive EP07-A2 du CLSI. Un biais dépassant 20% dans les résultats était considéré comme une interférence.

Médicaments par voie orale

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes : Aspirine (0,65 mg/mL), Azathioprine (3,0 µg/mL), Chlorambucil (7,2 µg/mL), Cyclophosphamide (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hydroxychloroquine (jusqu'à 0,06 mg/mL), Ibuprofène (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Méthotrexate (2,0 µg/mL), Prednisone (0,3 µg/mL).

Indices sériques

Une interférence a été détectée dans le cas des substances suivantes aux concentrations indiquées : triglycérides (2,24 mg/mL), bilirubine conjuguée (0,06 mg/mL), bilirubine non conjuguée (0,047 mg/mL) et hémoglobine (1,19 mg/mL). Aucune interférence liée aux triglycérides n'a été observée lorsque les échantillons présentant une turbidité ont été soumis à une courte centrifugation (10 min / 12 000 x g) et à la séparation du surnageant contenant les lipides.

Échantillons de plasma

Les résultats d'échantillons issus de donneurs de sang sains, prélevés dans des tubes de lithium-héparine et de citrate, ont été comparés aux résultats obtenus avec des échantillons de sérum issus des mêmes donneurs, prélevés selon les instructions d'utilisation. Le biais a été déterminé en utilisant une régression linéaire de Passing-Bablok et une analyse de Bland-Altman. Les résultats sont résumés dans le tableau 6.

TABLEAUX ET FIGURES

Reproductibilité

| ID | Activité moyenne de l' ECA [U/L] | n | Intra-analyse | | Jour-à-jour | | Entre lots/ 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% |

Tableau 3

Précision intra-laboratoire

| ID | Activité moyenne de l' ECA [U/L] | n | Intra-analyse | | Entre analyses | | Jour-à-jour | | 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% |

Tableau 4

Recouvrement

| ID échantillon | 12615 | 12618 | 12614 | 12558 | 3198532 | 3190624 |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|
| Valeur de base [U/L] | 19,8 | 34,6 | 59,0 | 69,8 | 75,8 | 104,6 |
| Valeur d'addition [U/L] | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 | 20,5 |
| Valeur attendue [U/L] | 40,3 | 55,1 | 79,5 | 90,3 | 96,3 | 125,1 |
| Valeur observée [U/L] | 37,1 | 56,9 | 80,8 | 89,8 | 108,7 | 130,0 |
| Recouvrement total [%] | 92,0 | 103,3 | 101,7 | 99,4 | 112,8 | 103,9 |

Tableau 5

Échantillons de plasma

| Matrice | N | Analyse de Bland-Altman | | | Analyse par régression de Passing-Bablok | | |
|-------------------------|----|--------------------------|-------------------------|---------------------------|--|-------------------------------|-------|
| | | Biais moyen (IC 95%) | LdA inférieure (IC 95%) | LdA supérieure (IC 95%) | Pente (IC 95%) | Ordonnée à l'origine (IC 95%) | r |
| Plasma lithium-héparine | 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 citrate | 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 |

Tableau 6

invalid

RÉFÉRENCES

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).

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État Membre.

DOMMAGES PENDANT L'EXPEDITION

Informez le distributeur si ce produit a été reçu endommagé.

invalid

SYMBOLES

BÜHLMANN utilise des symboles et des signes énumérés et décrits dans l'ISO 15223-1. De plus, les symboles et signes suivants sont utilisés:

| Symbole | Description |
|-----------|-----------------|
| Control N | Contrôle Normal |
| Control H | Contrôle Elevé |
| CAL | Calibrateur |
| SUBS | Substrat |

invalid

CE 0123