

BÜHLMANN ACE kinetic

Angiotensinkonverterande enzym

För användning vid *in vitro*-diagnostik

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

Utgivningsdatum: 2022-10-21
Version A1

AVSEDD ANVÄNDNING

BÜHLMANN ACE kinetic är en *in vitro*-diagnostisk biokemisk analys för kvantitativt fastställande av aktivitet av angiotensinkonverterande enzym (ACE) i serumprover. Analysen hjälper till att bedöma sjukdomsaktivitet hos patienter med sarkoidos i kombination med andra kliniska och laboratoriska fynd.

Endast för användning i laboratorium.

ANALYSPRINCIP

Analysen är ett kvantitativt enzymtest som enkelt kan tillämpas på analysatorer för klinisk kemi eller för körning via manuell metod. ACE katalyserar konvertering av angiotensin I och angiotensin II. Enzymet medierar även delning av det syntetiska substratet furylakryloylfenylalanyl-glycylglysin (FAPGG) till aminosyrederivatet furylacryloylphenylalanin (FAP) och dipeptiden glycylglycine (GG). Den linjära kinetiken för denna delningsreaktion mäts genom registrering av minskning i absorptionsgrad vid 340 nm (ref. 1, 2). Den slutliga ACE-aktiviteten i U/L hos patientprovet fastställs med hjälp av en kalibreringskurva som genereras från det uppmätta kalibratorvärdet.

MEDFÖLJANDE REAGENS

Reagens	Mängd			Kod	Rekonstitution
	KK-ACK/ KK-ACK4	KK-ACK2	KK-ACKX		
Substrat	1 flaska/ 4 flaskor 26 mL	2 flaskor 13 mL	3 flaskor 100 mL	B-ACK-SUB B-ACK2-SUB ¹ B-ACK-SUB ²	Redo att användas
Kalibrator ³	1 flaska/ 2 flaskor	2 flaskor	3 flaskor	B-ACK-CA	Tillsätt 2 mL avjoniserat vatten
Kontroller ⁴ Normal och hög	1 x 2 flaskor/ 2 x 2 flaskor	2 x 2 flaskor	3 x 2 flaskor	B-ACK-CONSET	Tillsätt 2 mL avjoniserat vatten

Tabell 1

¹ Beställningskoder för KK-ACK2.

² Beställningskoder för KK-ACKX.

³ Frystorkad ACE-kalibrator i en proteinserummatrix med satsspecifik aktivitet. Låt stå i 15 minuter vid 18–28 °C efter rekonstituering och blanda väl före användning.

⁴ Frystorkade ACE-kontroller normal och hög i en proteinserummatrix med satsspecifik aktivitet. Rekonstituera i 15 minuter vid 18–28 °C och blanda väl före användning.

FÖRVARING AV OCH STABILITET HOS REAGENS OCH ARBETSLÖSNINGAR

Öppnade reagens	
Förvara vid 2–8 °C. Använd inte satsen efter att utgångsdatumet som är tryckt på etiketten har passerat.	
Öppnade/rekonstituerade reagens	
Substrat	Förvara i upp till 6 månader vid 2–8 °C.
Kalibrator	
Kontroller	
Inbyggd stabilitet för analysatorer för klinisk kemi	
Förvara i upp till 73 dagar vid ≤ 15 °C.	

Tabell 2

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

- Analysatorer för klinisk kemi med 340 nm filter.
- Endast manuell metod:
 - Vattenbadssats vid 37 °C.
 - Precisionspipetter för 25 µL, 100 µL och 1 mL.
 - Spektrofotometer med inkubering vid 37 °C.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Detta test är enbart avsett för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Det rekommenderas att testet hanteras av kvalificerad personal i enlighet med god laboratoriepraxis.

Försiktighetsåtgärder

- Oanvänd lösning ska bortskaffas i enlighet med lokala statliga och federala bestämmelser.

Tekniska försiktighetsåtgärder

- Läs instruktionerna noga innan testet utförs. Testets prestanda kan påverkas negativt om reagensen späds eller hanteras felaktigt eller lagras under andra förhållanden än de som anges i denna bruksanvisning.
- Komponenterna får inte användas efter utgångsdatumet som är tryckt på etiketterna.
- Blanda inte reagens från olika satser.
- Säkerställ att proverna inte innehåller bubblor innan testet körs.
- Balansera reagens, kontroller, kalibrators och prover vid förvaringstemperaturen för analysatorn eller för manuell användning vid rumstemperatur. Rekonstituera de frystorkade reagensen enligt beskrivningen. Blanda de rekonstituerade reagensen väl före användning.
- Undvik avdunstning av kontrollerna.

PROVINSAMLING OCH LAGRING

Samla in blod enligt standardiserade seruminsamlingsrör och undvik hemolys. För att undvika lipemiskt serum ska blod samlas in från fastande patienter. Förbered serumet enligt laboratoriets standardprocedur. Serumberedning kan även utföras med hjälp av gelseparatorrör.

Ett minimum om 200 µL serumprov rekommenderas för testet. För exakt volym, se instrumentets tillämpningsanmärkning.

Förvaring: Serumprover kan förvaras okylda (temperaturer upp till 28 °C) eller vid 2–8 °C i 10 dagar. För längre förvaring ska proverna förvaras vid ≤ -20 °C. Proverna är stabila i minst 7 månader vid ≤ -20 °C. Undvik fler än fyra (4) frys/tiningscykler.

ANALYSPROCEDUR

Tillämpningsanmärkningar/analysinstallation

Analysprocedurer för BÜHLMANN ACE kinetic fastställs på flera analysatorer för klinisk kemi. Validerade tillämpningsanmärkningar som beskriver installation och analys på specifika instrument finns

tillgängliga från BÜHLMANN på begäran. Motsvarande instrumentmanualer måste övervägas för instrumentinstallation, underhåll, drift och försiktighetsåtgärder.

BÜHLMANN ACE kinetic kan även användas med en manuell metod. Procedurbeskrivningen finns tillgänglig från BÜHLMANN på begäran.

Beredning av reagens

Substratet är redo att användas. Överför den nödvändiga volymen till de analysatorspecifika flaskorna/kassetterna.

Fastställande av kalibreringskurvan

Kalibratören som inkluderas i kitet används för att fastställa en tvåpunkts kalibreringskurva enligt instrumentmanualen. Kalibratorvärdena är sats-specifika. En ny kalibrering måste utföras för varje ny sats. Annars ska periodiska kalibreringar utföras i enlighet med de instrumentspecifika tillämpningsanmärkningarna. Se databladet som medföljer BÜHLMANN ACE kinetic-kitet för tilldelade kalibratorvärden. Kontakta BÜHLMANNs support om kalibreringen inte kan utföras utan fel.

QC-kontroller

De medföljande kontrollerna ska analyseras varje dag innan patientprover körs för att validera kalibreringskurvan. För att resultaten som erhålls från patientproverna ska vara giltiga måste kontrollmätningarna vara inom de värdeområden som anges i QC-databladet. Om kontrollvärdena inte är giltiga, upprepa mätningen med nya kontroller. Om kontrollvärdena förblir ogiltiga, omkalibrera analysen. Om giltiga kontrollvärden inte kan reproduceras efter att stegen ovan utförts, kontakta BÜHLMANNs support.

Resultat

Resultaten beräknas automatiskt på analysatorn för klinisk kemi och presenteras i U/L.

STANDARDISERING

- BÜHLMANN ACE kinetic kalibrator används för att generera en tvåpunkts kalibreringskurva. Kalibratorvärdena tilldelas med hjälp av en UV/VIS-spektrofotometrisk metod och en fastställd $\Delta\epsilon$ för FAPGG-substratet. Värdena rapporteras i QC-databladet. Kalibratormaterialet består av ACE från gnagarserum i en buffertmatrix. Konfidensintervallet på 95% för den kombinerade osäkerheten hos produktkalibratören är lägre än 5,0%.
- Det analytiska mätintervallet för ACE-kinetisk analys, fastställt på Roche cobas® 6000 c501-instrumentet, är 11,3–200 U/L och kan utökas ytterligare till 500 U/L med hjälp av automatiska omkörningsprogram som är tillgängliga på analysatorer för klinisk kemi.

BEGRÄNSNINGAR

- Testresultaten ska tolkas i kombination med tillgänglig information från patientens kliniska bedömning och andra diagnostiska procedurer.
- Serum-ACE-aktiviteten beror starkt på genotypen hos patienterna som utreds (ref. 3). Resultaten ska granskas i samband med föregående BÜHLMANN ACE kinetic-resultat som erhållits från patienten.
- ACE-aktivitetstestning ska inte genomföras hos patienter som behandlas för hypertension med ACE-hämmare

såsom Benazepril (Lotensin), Captopril eller Enalapril (Vasotec). Ingen interferens har detekterats för antihypertensiva läkemedel som innehåller angiotensin II-receptorblockerare (AT1-antagonister): Losartan och Eprosartan.

- Hemolys, ikterus och lipemi stör analysen. Se avsnitt "Störande ämnen" för serumindex.
- BÜHLMANN ACE kinetic är enbart validerat för serumprover. Laboratoriet beslutar om prover som felaktigt samlats in i rör med tillsats av litium-heparin eller citrat ska behandlas (se avsnittet plasmaprover för mer information).
- EDTA hämmar ACE-aktivitet. EDTA-plasma kan inte användas med BÜHLMANN ACE kinetic-analysen.

REFERENSINTERVALL

Vuxna: Följande referensintervall fastställdes för BÜHLMANN ACE kinetic baserat på de 2,5:e till 97,5:e percentilvärdena som erhöles från friska deltagare i tre oberoende studier i Schweiz (n=80, ålder: 20 – 70), Tyskland (n=159, ålder: 18 – 64, ref. 3) och USA (n= 327, ålder: 16 – 77, ref. 4):

20–70 U/L

Barn: Följande referensintervall fastställdes för BÜHLMANN ACE kinetic baserat på de 2,5:e till 97,5:e percentilvärdena som erhöles från friska deltagare i en enskild studie i Tyskland (n=84, ålder: 0,5 – 18):

33–112 U/L

PRESTANDAEGENSKAPER

Prestandaegenskaperna som presenteras har fastställts på ett Roche cobas® 6000 c501-instrument, såvida inget annat anges. Se de specifika tillämpningsanmärkningarna för analysatorn för klinisk kemi för prestandaegenskaper på andra analysatorer för klinisk kemi.

Reproducerbarhet: 6,3 – 9,1% variationskoefficient (CV)

Reproducerbarheten fastställdes i enlighet med CLSI-riktlinjen EP05-A3 med hjälp av en studiedesign med 3 instrument/satser x 5 dagar x 5 upprepningar. Ett acceptanskriterium på 15% CV för prover över och 20% CV för prover under 40 U/L tillämpades. Testningen utfördes vid två laboratorier med hjälp av Roche c501-, Roche c702- och Beckmann Coulter AU-instrument. Sex (6) serumprover testades. Resultaten presenteras i tabell 3.

Repeterbarhet: 0,8 – 3,0% CV

Precision inom laboratoriet: 1,7 – 3,7% CV

Repeterbarhet och precision inom laboratoriet fastställdes enligt CLSI-riktlinjen EP05-A3 med hjälp av den standardiserade studiedesignen för 20 dagar x 2 körningar x 2 upprepningar. Ett acceptanskriterium på 10% CV för repeterbarhet och 15% CV för precision inom laboratoriet för prover över 40 U/L tillämpades. För prover under 40 U/L var acceptanskriteriet 20% CV. Sex (6) serumprover testades. Resultaten presenteras i tabell 4.

Noggrannhet/återställning: 92,0 – 112,8 %

Sex (6) serumprover med ACE-aktivitetsvärden som täcker BÜHLMANN ACE kinetics mätområde spetsades med 20,5 U/L ACE som erhöles från kalibratormaterial. Spetsningen utfördes vid 10 % av provvolymen. "Baslinjepröver" spetsades med motsvarande volym av 0,9% NaCl. "Baslinje-" och "baslinje + spetsade" prover mättes i fyra (4) upprepningar. Resultaten sammanfattas i tabell 5.

Provöverföring

Provöverföring fastställdes enligt CLSI-riktlinje EP10-A2. Ingen statistiskt signifikant överföring med ACE kinetiskt test på Roche cobas® 6000 c501-instrument detekterades.

Detektionsgräns (LoD): 6,8 U/L

Detektionsgränsen fastställdes enligt CLSI-riktlinje EP17-A2 med hjälp av den klassiska approachen, parametrisk analys och en LoB på 4,3 U/L som fastställdes med hjälp av en icke-parametrisk analys.

Kvantifieringsgräns (LoQ): 11,3 U/L

Kvantifieringsgränsen fastställdes i enlighet med CLSI-riktlinje EP17-A2 baserat på 60 fastställningar och ett precisionsmål på 20 % CV.

Linjäritetsområde: 4,3–534,9 U/L

Linjäritetsområdet för BÜHLMANN ACE kinetic fastställdes i enlighet med CLSI-riktlinje EP06-A. Prover med en aktivitet över 150 U/L kördes om automatiskt med hjälp av en reducerad provvolym. En högsta avvikelse från linjäriteten på ± 4 U/L eller ± 10 % tilläts.

Säkerhetszon

Prover med teoretisk ACE-aktivitet på upp till 541,2 U/L kan mätas utan begränsning av mätområdet för analysen.

STÖRANDE ÄMNEN

BÜHLMANN ACE kinetic-analysens mottaglighet för störande ämnen bedömdes i enlighet med CLSI-riktlinje EP07-A2. Bias i resultat som överstiger 20 % ansågs som interferens.

Orala läkemedel

Ingen interferens detekterades med följande ämnen: Aspirin (0,65 mg/mL), Azatioprin (3,0 µg/mL), Klorambucil (7,2 µg/mL), Cyklofosfamid (0,375 mg/mL), Eprosartan (0,36 mg/mL), Hydroxiklorokin (upp till 0,06 mg/mL), Ibuprofen (0,5 mg/mL), Losartan (0,09 mg/mL), Metotrexat (2,0 µg/mL), Prednison (0,3 µg/mL).

Serumindex

Interferens detekterades med följande ämnen vid de angivna koncentrationerna: triglycerider (2,24 mg/mL), konjugerat bilirubin (0,06 mg/mL), okonjugerat bilirubin (0,047 mg/mL) och hemoglobin (1,19 mg/mL). Ingen interferens av triglycerider observerades när prover med turbiditet genomgick kort centrifugering (10 min / 12'000 x g) och separation av lipidinnehållande supernatant.

Plasmaprover

Resultat från prover från friska blodgivare som samlades in i rör med tillsats av litium-heparin och citrat jämfördes med resultaten som erhålls med serumprover från samma givare som samlats in i enlighet med bruksanvisningen. Bias fastställdes med hjälp av linjär Passing-Bablok-regression och Bland-Altman-analys. Resultaten sammanfattas i tabell 6.

TABELLER OCH FIGURER

Reproducerbarhet

ID	Genomsnittlig ACE-aktivitet [U/L]	n	Inom körning		Mellan dagar		Mellan sats/instrument		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 %
12 403	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

* SD, standardavvikelse

Precision inom laboratoriet

ID	Genomsnittlig ACE-aktivitet [U/L]	n	Inom körning		Mellan körning		Mellan dagar		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

Återställning

Prov-ID	12615	12618	12614	12558	3198532	3190624
Basvärde [U/L]	19,8	34,6	59,0	69,8	75,8	104,6
Spetsningsvärde [U/L]	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5
Förväntat värde [U/L]	40,3	55,1	79,5	90,3	96,3	125,1
Observerat värde [U/L]	37,1	56,9	80,8	89,8	108,7	130,0
Total återställning [%]	92,0	103,3	101,7	99,4	112,8	103,9

Tabell 5

Plasmaprover

Matrix	N	Bland-Altman-analys			Passing-Bablok-regressionsanalys		
		Genomsnittlig bias (95 % KI)	Övre LoA (95 % KI)	Nedre LoA (95 % KI)	Lutning (95 % KI)	Intercept (95 % KI)	r
Litium-heparin plasma	38	-1,1 % (-4,5 till 2,3)	20,7 % (14,9 till 26,6)	-23,0 % (-28,8 till -17,1)	0,9 (0,8 till 1,0)	2,5 (0,2 till 5,4)	0,975
Citrat plasma	44	-10,8 % (-13,9 till -7,6)	8,1 % (2,6 till 13,5)	-29,6 % (-35,0 till -24,2)	0,8 (0,8 till 0,9)	1,7 (-0,7 till 4,4)	0,990

Tabell 6

invalid

REFERENSER

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).

HÄNDELSRAPPORTERING I EU-MEDLEMSSTATER

Om en allvarlig händelse sker i samband med användning av denna enhet ska detta utan fördröjning rapporteras till tillverkaren och till behörig myndighet i ditt land.

LEVERANSSKADOR

Meddela din distributör om produkten är skadad vid mottagandet.

invalid

SYMBOLER

BÜHLMANN använder symboler och märkningar som beskrivs i ISO 15223-1. Dessutom används följande symboler och märkningar:

Symbol	Förklaring
Control N	Kontroll normal
Control H	Kontroll hög
CAL	Kalibrator
SUBS	Substrat

invalid

