

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE)

REF 305-10

10 x 10 ml

DANSK

TILSIGTET ANVENDELSE

ACE Reagent er beregnet til brug ved kvantitativ kinetisk bestemmelse af aktiviteten af angiotensinkonverterende enzym (ACE) i serum eller plasma ved 340 nm.

RESUMÉ

Angiotensinkonverterende enzym (ACE, EC3.4.15.1, dipeptidyl carboxypeptidase) er en glycoprotein peptidyl-dipeptid hydrolase, der spalter histidylleucin dipeptid fra angiotensin I, der er et relativt inaktivt decapeptid. Sidstnævnte konverteres til det kraftigt karkontraherende angiotensin II. ACE inaktiverer også bradykinin. Der kan opstå forhøjede niveauer af ACE-aktivitet i serum hos patienter med aktiv sarkoidose¹ og lejlighedsvis hos for tidligt fødte spædbørn med RDS (Respiratory Distress Syndrome), hos voksne med tuberkulose, Gauchers sygdom, spædalskhed og mange andre patologiske betingelser, der involverer lunge- og leversygdomme.²

Betydeligt lavere niveauer blev rapporteret af Siefkin et al.² i mange akutte og kroniske tilfælde af lungeskader. Løbende målinger af ACE i 71 patienter viste, at niveauer, der faldt betydeligt i løbet af en række dage, var forbundet med en meget høj dødelighed. En enkelt ACE-måling forudsiger ikke nødvendigvis tilstedeværelsen eller omfanget af lungeskade og hjælper heller ikke i diagnosticeringen af prognosen. Løbende niveauer er derimod værdifulde i forbindelse med en prognose.

Der er blevet udviklet adskillige metoder til måling af ACE-aktivitet, herunder RIA³ og konkurrerende ELISA.⁴ Den procedure, der beskrives her, er en hurtig, praktisk spektrofotometrisk metode, der anvender det syntetiske tripeptidsubstrat N-[3-(2-furyl)acryloyl]-L-phenylalanyl-glycylglycine (FAPGG).⁵

PRINCIP

Følgende reaktion katalyseres af ACE:



FAPGG hydrolyseres til furylacryloylphenylalanin (FAP) og glycylglycine. Hydrolyse af FAPGG medfører et fald i absorbansen ved 340 nm. ACE-aktiviteten i prøven bestemmes ved at sammenligne prøveregionshastigheden med den, der blev opnået med ACE Calibrator.

REAGENS

ACE REAGENT, 10 x 10 ml, 305-10.

Når lyofiliseret reagens rekonstitueres i henhold til vejledningen, indeholder det FAPGG, 0,5 mmol/L, med stabilisator og buffer, pH 8,2.

FORSIGTIGHEDSREGLER:

ACE Reagent er beregnet til "in vitro-diagnostisk anvendelse". Almindelige forsigtighedsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Bortskaf affald i henhold til alle lokale og nationale regulativer.

Må kun anvendes af fagpersoner.

Anvend dem ikke, hvis de er beskadigede.

ACE Reagent IRRITERER øjne, åndedrætssystem og hud. Skyl omgående med rigelige mængder vand, og søg øjeblikkeligt lægehjælp, hvis det kommer i berøring med øjnene. Brug særligt arbejdstøj.

Den følgende anvisning skal overholdes, når den røde flipforseglingshætte åbnes, da den har en skarp kant efter åbningen:

- En pincet, tang, spatula eller lignende redskab bør anvendes til at åbne og trække flipforseglingshætten af hætteglasset. Sørg for, at hætteglasset peger udad og væk fra kroppen, når handlingen udføres.
- Der bør også bæres latexhandsker for at beskytte brugeren yderligere.

KLARGØRING:

Rekonstituer ACE Reagent med den mængde deioniseret vand, der er angivet på hætteglassets mærkat. Hvis reagenset skal bruges i en diskret analysator, henvises der til den pågældende anvendelsesprocedure. Når vandet er tilføjet, stoppes hætteglasset til og blandes øjeblikkeligt ved at vende det på hovedet flere gange.

OPBEVARING OG STABILITET:

Opbevar tør reagens på køl (2-8 °C). Reagenset er stabilt indtil den udløbsdato, der er vist på mærkaten. Rekonstitueret reagens er stabilt i 8 timer ved stuetemperatur (18-26 °C) og mindst 30 dage på køl (2-8 °C).

NEDBRYDNING:

Kassér hætteglasset, hvis tør reagens klumper sammen på grund af fugtindtrængen, ikke opløses fuldstændigt eller hvis opløsningen er uklar.

DISKRETE ANALYSATORPROGRAMMER

Kontakt **Trinity Biotech** afdeling for teknisk service for at få yderligere oplysninger vedrørende programprocedurer for ACE.

PRØVETAGNING OG -OPBEVARING

Det anbefales, at indsamling af prøver foretages i henhold til reglerne i det aktuelle dokument M29 fra CLSI. Ingen kendt testmetode kan give en fuldstændig garanti for, at blodprøver fra mennesker ikke kan overføre smitte. Derfor bør alle blodprodukter anses som værende potentielt smittefarlige.

Til analyse anbefales serum eller hepariniseret plasma⁶. Serumprøver er stabile i 7 dage, når de opbevares i køleskab ved 2-8 °C, og 4 måneder, når de opbevares nedfrosne ved -20 °C⁷. Hepariniserede plasmaprøver er stabile i 4 uger, når de opbevares nedfrosne ved -20 °C eller -80 °C^{14,15}.

INTERFERERENDE STOFFER:

ACE-aktivitet hæmmes af EDTA og tungmetalioner, der kan bruges til at erstatte enzymets zinkion.⁶ Det er blevet rapporteret, at gadoliniumkontrastreagens hæmmer ACE-aktivitet.^{11,12,13} Ved indgivelse af det angiotensinkonverterende enzymhæmmende lægemiddel, captopril, der aktuelt anvendes til behandling af hypertension, nedsættes ACE-serumaktivitet markant, men den vender som regel tilbage til normale niveauer i løbet af ca. 12 timer.⁸ Indgivelse af andre sådanne lægemidler kan frembringe en lignende reaktion.⁹

MANUEL PROCEDURE

MEDFØLGENDE MATERIALER:

ACE Reagent

NØDVENDIGE MATERIALER, SOM IKKE MEDFØLGER:

- ACE Calibrator, katalognr. 305-50
- Spektrofotometer, der kan måle absorbans præcist ved 340 nm
- Cuvetter med optiske egenskaber, der er beregnet til anvendelse ved 340 nm
- Pipetteringsenheder til nøjagtig indgivelse af de volumener, der kræves til analysen
- Timer
- Varmeblok med konstant temperatur

PROCEDURE:

Temperaturen på reaktionsblandingen skal holdes på 30 °C eller 37 °C.

1. Klargør ACE Reagent.
2. Rekonstituer ACE Calibrator i henhold til vejledningen på indlæggssedlen.
3. Pipetter 1,0 ml ACE Reagent-opløsning i hver af de to cuvetter, der er mærket med TEST og KALIBRATOR, og opvarm til reaktionstemperaturen.
4. Tilføj 0,1 ml prøve i den cuvette, der er mærket med TEST. Tilføj 0,1 ml ACE-Calibrator i den cuvette, der er mærket med KALIBRATOR. Bland ved at vende dem på hovedet.
5. Anbring cuvetterne i varmekub med konstant temperatur, og vent ca. 5 minutter.
6. Aflæs og registrer absorbansen (A) for TEST og KALIBRATOR ved 340 nm i forhold til vand som reference. Disse er INDLEDENDE A'er.
7. Aflæs og registrer absorbansen igen nøjagtigt fem minutter senere. Disse er ENDELIGE A'er.

BEMÆRK:

1. For at påvise, at reaktionen er lineær, skal der udføres en ekstra aflæsning 2,5 minutter efter det INDLEDENDE A. Ændringerne i absorbansen for de to intervaller på 2,5 minutter bør være ca. de samme.
2. Hvis et spektrofotometer, der kan registrere forløbet, er tilgængeligt, kan testtiden nedsættes betydeligt. ΔA pr. 5 minutter for TEST og KALIBRATOR kan hentes direkte fra den lineære del af deres respektive kurver.

KALIBRERING:

Proceduren er lineær op til en ACE-aktivitet på 120 U/L. Der skal anvendes en kalibrator med hver serie af analyser for at beregne testenes ACE-aktivitet.

KVALITETSKONTROL:

Der findes aktuelt to serumpræparater til kontrolformål. Disse er ACE Control-N, katalognr. A6040, og ACE Control-E, katalognr. A7040, der henholdsvis indeholder normale og forhøjede niveauer af ACE-aktivitet.

Kvalitetskontrollerne skal ligge inden for de pågældende værdiområder, ellers er testkørslen ugyldig.

Alle funktionsdata genereres ud fra undersøgelser, der bruger serum som prøvematrix.

BEREKNINGER

ΔA pr. 5 minutter (TEST) = INDLEDENDE TEST A - ENDELIG TEST A

ΔA pr. 5 minutter (KALIBRATOR) = INDLEDENDE KALIBRATOR A - ENDELIG KALIBRATOR A

ACE (U/L) = $\frac{\Delta A/5 \text{ minutter TEST}}{\Delta A/5 \text{ minutter KALIBRATOR}}$ x kalibratoraktivitet

En enhed af ACE-aktivitet defineres som den mængde enzym, der katalyserer dannelsen af en mikromol FAP pr. minut under analysens betingelser.

EKSEMPEL:

Følgende absorbansværdier blev opnået ved 37 °C ved hjælp af en ACE Calibrator med en aktivitet på 50 U/L ved 37 °C.

	TEST	KALIBRATOR
INDLEDENDE A	1,370	1,370
ENDELIG A	1,340	1,346
ΔA pr. 5 minutter	0,030	0,024

ACE (U/L) = $\frac{0,030}{0,024} \times 50 = 62 \text{ U/L}$

FORVENTEDE VÆRDIER

Blodprøver fra 56 fastende, klinisk sunde voksne mænd og kvinder blev analyseret for ACE-aktivitet med den beskrevne metode. Middelværdien for de 56 personer var 30 U/L. Det normale område blev beregnet som middelværdien $\pm$ 2 SD (SD=11). Der var ingen forskel i de værdier, der blev indhentet for mænd og kvinder. De forventede værdier er rapporteret som højere hos børn og unge under 19 år end hos ældre voksne.¹⁰

ACE (U/L)

8-52 (37 °C)

5-33 (30 °C)

Værdierne i denne procedure kan ikke sammenlignes direkte med værdier fra andre procedurer, som anvender betingelser, der er anderledes. Området med forventede værdier gives som vejledning. Det anbefales kraftigt, at hvert laboratorium etablerer karakteristika for det forventede område for den lokale befolkning.

FUNKTIONSKARAKTERISTIKA

REPRODUCERBARHEDSUNDERSØGELSE:

For reproducerbarhed inden for samme analyse blev der kørt ti gentagne analyser på tre serumprøver af varierende ACE-aktivitet på hver af de tre platformsanalysatorer. For reproducerbarhed mellem flere analyser blev der kørt tre serumprøver af varierende ACE-aktivitet i ti forskellige tilfælde i dobbeltbestemmelse på hver af de tre platformsanalysatorer.

	Reproducerbarhed inden for samme analyse								
	Platformanalysator 1			Platformanalysator 2			Platformanalysator 3		
Prøve	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Gennemsnitlig ACE (U/L)	24	58	98	27	53	97	21	65	109
Standard-afvigelse	1,9	3,4	1,3	3,8	3,7	1,9	2,0	1,8	1,7
%CV	7,9	5,8	1,4	13,8	6,9	1,9	9,4	2,8	1,6
Antal analyser	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Reproducerbarhed mellem flere analyser								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Gennemsnitlig ACE (U/L)	47	71	140	56	93	133	35	43	143
Standard-afvigelse	3,7	5,0	6,5	2,9	4,4	4,1	3,1	3,2	7,4
%CV	7,8	7,0	4,7	5,1	4,7	3,0	8,8	7,3	5,2
Antal analyser	20	20	20	20	20	20	20	20	20

KORRELATIONSUNDERSØGELSER:

52 sera med ACE-værdier fra 8-251 U/L blev analyseret med den beskrevne procedure og med den metode, der er beskrevet af Harjanne.⁷ Den deraf følgende korrelationskoefficient var 0,981, og regressionsligningen havde en hældning på 1,2 og et skæringspunkt på y-aksen på 8,0 U/L. Middelværdierne var 76 U/L med Harjannes metode og 53 U/L med den beskrevne procedure.

REFERENCER

- Lieberman J: *The specificity and nature of serum-angiotensin-converting enzyme (serum ACE) elevations in sarcoidosis*. Ann NY Acad Sci 278:488, 1976.
- Sleffkin AD, Parsons GH, Patwell SW, Hollinger MA: *The value of serial serum angiotensin converting enzyme determinations in hospitalized patients with lung disease*. Am J Med Sci 288:200, 1984.
- Alhenc-Golas F, Weare JA, Johnson RL Jr, Erdos EG: *Measurement of human converting enzyme level by direct radioimmunoassay*. J Lab Clin Med 101:83, 1983.
- Lanzillo JJ, Fanburg SL: *Development of competitive enzyme immunoassays for human serum angiotensin-1 converting enzyme: A comparison of four assay configurations*. Anal Biochem 126:156, 1982.
- Holmquist B, Bunning P, Riordan JF: *A continuous spectrophotometric assay for angiotensin-converting enzyme*. Anal biochem 95:540, 1979.
- Maguire GA, Price CP: *A continuous monitoring spectrophotometric method for the measurement of angiotensin-converting enzyme in human serum*. Ann Clin Biochem 22:204, 1985.
- Harjanne A: *Automated kinetic determination of angiotensin-converting enzyme in serum*. Clin Chem 30:901, 1984.
- Waeber B, Brunner HP, Brunner DB, Curtet AL, Turini GA, Gavras H: *Discrepancy between antihypertensive effect and angiotensin converting enzyme inhibition by captopril*. Hypertension 2:236, 1980.
- Edwards CRW, Padfield PL: *Angiotensin-converting enzyme inhibitors: Past, present and bright future*. The Lancet 1:30, 1985.
- Lieberman J: *Elevation of serum angiotensin-converting enzyme (ACE) level in sarcoidosis*. Am J Med 59:365, 1975.
- Corot C, Hentsch AM, Curtelin L: *Interaction of Gadolinium Complexes with Metal Dependent Biological Systems*. Investigative Radiology 29:2 164-167, 1994.
- Corot C, Idee, JM, Hentsch AM, Santus R, Mallet C, Goulas V, Bonnemain B, Meyer D : *Structure-Activity Relationship of Macrocyclic and Linear Gadolinium Chelates: Investigation of Transmetalation effect on the Zinc dependent Metallopeptidase Angiotensin-Converting Enzyme*. JMIRI 8:3, 696-702, 1998.
- Proctor KAS, Rao LV, Roberts WL: *Gadolinium Magnetic Resonance Contrast Agents Produce Analytic Interference in Multiple Serum Assays*. Am J Clin Pathol 121 282-292 2004.
- Jalil JE, Ocaranza MP, Pidodo AM, Jalil R: *Reproducibility of plasma angiotensin-converting enzyme activity in human subjects determined by fluorimetry with Z-phenylalanine-histidyl-leucine as substrate*. J Lab Clin Med. 1999;133:501-506.
- Domingo R, Sturrock ED, Collins M; *ACE Activity and Endurance Performance during the South African Ironman Triathlons*. Int J Sports Med. 2013;34:402-408.

BESTILLINGSOPLYSNINGER

Katalognr.	305-10	
ACE REAGENT, 305-10	10 x 10 ml	
NØDVENDIG REAGENS		
Katalognr.	Vare	Mængde/antal
305-50	ACE CALIBRATOR	6 x 1 ml
VALGFRIE REAGENSER		
Katalognr.	Vare	Mængde/antal
A6040	ACE CONTROL-N (Normal)	6 x 1 ml
A7040	ACE CONTROL-E (Elevated)	6 x 1 ml

SYMBOLFORKLARING



Kan anvendes til



Temperaturbegrænsning



Batchkode



Katalognummer



Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik



Vand



Reproduktionstoksicitet



Se brugsanvisning



Producent



Rekonstituer med



ACE-reagens



eIFU-indikator



Trinity Biotech plc,
IDA Business Park
Southern Cross Road
Bray, Co. Wicklow
Ireland
Tel. 353 1 2769800
Fax. 353 1 2769888
www.trinitybiotech.com



USA ENQUIRIES:
Trinity Biotech USA
2823 Girls Road,
Jamestown, NY 14701.
Tel. 1800 325 3424
Fax. 716-488-1990

