

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE)

REF

305-10

10 x 10 ml

DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Das ACE Reagent dient zur quantitativen kinetischen Aktivitätsbestimmung von Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in Serum oder Plasma bei 340 nm.

ÜBERSICHT

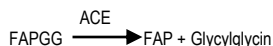
Angiotensin Converting Enzyme (ACE, EC 3.4.15.1, Dipeptidyl-Carboxypeptidase) ist eine Glykoprotein-Peptidyl-dipeptidhydrolase, die Histidylleucin-Dipeptid von Angiotensin I, einem vergleichsweise inaktiven Dekapeptid, abspaltet. Angiotensin I wird in den hochwirksamen Vasokonstriktor Angiotensin II umgewandelt. Außerdem inaktiviert ACE Bradykinin. Erhöhte ACE-Aktivitätswerte treten im Serum von Patienten mit aktiver Sarkoidose,¹ gelegentlich bei Frühgeborenen mit Atemnotsyndrom auf sowie bei Erwachsenen mit Tuberkulose, Gaucher-Syndrom, Lepra und einer Reihe weiterer Krankheitszustände, zu denen auch Lungen- und Lebererkrankungen gehören.²

Stark erniedrigte Werte fanden sich laut Siefkin et al.² bei vielen akuten und chronischen Fällen von Lungenschädigung. Die seriell durchgeführte Bestimmung von ACE bei 71 Patienten zeigte, dass signifikant abnehmende Werte über mehrere Tage hinweg mit einer sehr hohen Mortalitätsrate einhergingen. Auf Grundlage einer einmaligen ACE-Bestimmung können noch keine Aussagen zum Vorliegen oder Ausmaß einer Lungenschädigung gemacht oder Hinweise zu diagnostischen oder prognostischen Maßnahmen abgeleitet werden. Seriell ermittelte Werte sind jedoch von prognostischem Wert.

Zur Bestimmung der ACE-Aktivität wurden eine Reihe von Methoden entwickelt. Zu ihnen gehören Radioimmunoassay³ und kompetitiver enzymgekoppelter Immunoassay.⁴ Bei der hier beschriebenen Methode handelt es sich um ein zeitsparendes, leicht durchführbares spektralphotometrisches Verfahren unter Verwendung des synthetischen Tripeptidsubstrats N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-L-phenylalanyl-glycylglycine (FAPGG).⁵

PRINZIP

ACE wirkt bei folgender Reaktion als Katalysator:



FAPGG wird zu Furylacryloylphenylalanin (FAP) und Glycylglycine gespalten. Der hydrolytische Abbau von FAPGG führt zu einer Absorptionsabnahme bei 340 nm. Die ACE-Aktivität in der Probe wird durch den Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeit der Probe mit der des ACE Calibrator ermittelt.

REAGENZ

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

Vorschriftsmäßig rekonstituiertes ACE-Reagenz enthält FAPGG, 0,5 mmol/L, sowie Stabilisatoren und Puffer, pH 8,2.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Das ACE Reagent ist ein In-vitro-Diagnostikum". Es sollten die für die Handhabung von Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden. Bei der Entsorgung sind die lokalen, Länder- und Bundesgesetze zu beachten.

Nur für die professionelle Verwendung.

Bei Beschädigung nicht verwenden.

ACE Reagent REIZT Augen, Atemwege und Haut. Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser spülen und einen Arzt konsultieren. Geeignete Schutzkleidung tragen.

Die folgende Anweisung sollte eingehalten werden, wenn die rote Metallverschlusskappe geöffnet ist, da sie nach dem Öffnen einen scharfen Rand hat.

- Zum Öffnen des Metallverschlusses der Flaschen sollte eine Pinzette, Drahtzange, medizinische Zange, ein Dekapper, Spatel oder ähnliches Gerät verwendet werden. Der Verschluss sollte dem Körper abgewandt geöffnet werden.

- Zum weiteren Schutz des Anwenders sollten außerdem Latexhandschuhe getragen werden.

VORBEREITUNG:

Das ACE Reagent mit der auf dem Fläschchenetikett angegebenen Menge an deionisiertem Wasser rekonstituieren. Soll das Reagenz auf einem Analysenautomaten eingesetzt werden, befolgen Sie bitte die entsprechende Applikationsvorschrift. Nach Zugabe des Wassers das Fläschchen verschließen und durch mehrmaliges Kippen mischen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT:

Trockenes Reagenz kühl (2-8°C) aufbewahren. Das Reagenz ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Gelöstes Reagenz ist bei Raumtemperatur (18-26°C) 8 Stunden und gekühlt (2-8°C) mindestens 30 Tage stabil.

VERFALL:

Verwerfen Sie das Fläschchen, wenn das trockene Reagenz aufgrund möglichem Eindringen von Feuchtigkeit klumpig aussieht, sich beim Auflösen in Wasser nicht vollständig löst oder wenn die Lösung trüb erscheint.

ANWENDUNG IN ANALYSENAUTOMATEN

Bei Fragen zu den Anleitungen für die Verwendung von ACE wenden Sie sich bitte an die Abteilung Technischer Service von **Trinity Biotech**.

GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Empfohlen wird die Gewinnung der Proben nach dem aktuellen CLSI Dokument M29. Keine bekannte Testmethode kann völlig ausschließen, dass menschliche Blutproben Infektionen übertragen. Daher sind alle Blutbestandteile als potentiell infektiös anzusehen.

Für die Bestimmung wird Serum oder Heparin-Plasma empfohlen⁶. Serumproben sind 7 Tage lang haltbar, wenn sie gekühlt bei 2-8 °C gelagert werden, und 4 Monate, wenn sie gefroren bei -20 °C gelagert werden⁷. Heparinisierte Plasmaproben sind 4 Wochen lang haltbar, wenn sie gefroren bei -20 °C bis -80 °C gelagert werden^{14,15}.

STÖRFAKTOREN:

Die ACE-Aktivität wird durch EDTA und Schwermetallionen gehemmt, die das Zinkion des Enzyms ersetzen können.⁹ Nach Berichten hemmen Gadolinium-Kontrastmittel die ACE-Aktivität^{11,12,13}. Durch Verabreichung des ACE-Hemmstoffes Captopril, der gegenwärtig zur Behandlung des Bluthochdrucks eingesetzt wird, wird die ACE-Aktivität im Serum deutlich verringert, kehrt aber meist innerhalb von etwa 12 Stunden zum Normalwert zurück.⁸ Die Gabe anderer derartiger Medikamente kann eine ähnliche Reaktion hervorrufen.⁹

MANUELLES VERFAHREN

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN:

ACE Reagent

ERFORDERLICHE, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN:

- ACE Calibrator, Bestellnummer 305-50
- Spektralphotometer für genaue Absorptionsmessungen bei 340 nm
- Küvetten mit optischen Eigenschaften, die für eine Verwendung bei 340 nm geeignet sind
- Pipetten für ein exaktes Abmessen der für den Test erforderlichen Volumina
- Zeitmesser
- Temperaturkontrollierte Küvettenkammer

VERFAHREN:

Die Temperatur des Reaktionsgemisches sollte konstant 30°C oder 37°C betragen.

1. ACE Reagent vorbereiten.
2. Den ACE Calibrator entsprechend den Angaben auf der Packungsbeilage rekonstituieren.
3. In die beiden mit PROBE und KALIBRATOR gekennzeichneten Küvetten wird je 1,0 ml ACE Reagent Lösung pipettiert und auf Reaktionstemperatur erwärmt.
4. In die mit PROBE gekennzeichnete Küvette wird 0,1 ml Probe zugegeben. In die mit KALIBRATOR gekennzeichnete Küvette wird 0,1 ml ACE Calibrator pipettiert. Durch Kippen mischen.
5. Küvetten in die temperaturkontrollierte Küvettenkammer stellen und etwa 5 Minuten stehen lassen.
6. Absorption (A) von PROBE und KALIBRATOR bei 340 nm gegen Wasser als Referenz ablesen und festhalten. Diese Werte geben die INITIAL A (Anfangsabsorption) an.
7. Die Absorptionswerte nach genau 5 Minuten noch einmal ablesen. Diese Werte geben die FINAL A (Endabsorption) an.

HINWEISE:

1. Um den linearen Verlauf der Reaktion zu dokumentieren, kann 2,5 Minuten nach Ablesen von INITIAL A ein zusätzlicher Absorptionswert abgelesen werden. Die Absorptionsänderungen in den beiden 2,5-minütigen Intervallen sollten sich etwa entsprechen.
2. Falls ein Spektralphotometer mit Aufzeichnungsfunktion vorhanden ist, kann die für die Bestimmung erforderliche Zeitspanne beträchtlich verkürzt werden. Die Absorptionsänderung ΔA pro 5 Minuten für PROBE und KALIBRATOR kann in diesem Fall direkt vom linearen Abschnitt der entsprechenden Kurven abgeleitet werden.

KALIBRIERUNG:

Die Absorptionsänderung verläuft bis zu einer ACE-Aktivität von 120 U/L linear. Für die Berechnung der zu bestimmenden ACE-Aktivität muss bei jeder Bestimmungsserie ein Kalibrator mitgeführt werden.

QUALITÄTSKONTROLLE:

Für Kontrollzwecke stehen gegenwärtig 2 Serumpräparate zur Verfügung: ACE Control-N, Bestellnummer A6040, und ACE Control-E, Bestellnummer A7040, mit normalem bzw. erhöhtem ACE-Aktivitätswert.

Qualitätskontrollen müssen innerhalb des angegebenen Bereichs liegen. Ist dies nicht der Fall, ist der Test ungültig.

Alle Leistungsdaten wurden in Studien ermittelt, bei denen Serum als Probenmatrix verwendet wurde.

BERECHNUNGEN

$$\Delta A \text{ pro 5 min (PROBE)} = \text{INITIAL A PROBE} - \text{FINAL A PROBE}$$

$$\Delta A \text{ pro 5 min (KALIBRATOR)} = \text{INITIAL A KALIBRATOR} - \text{FINAL A KALIBRATOR}$$

$$\text{ACE (U/L)} = \frac{\Delta A/5 \text{ min PROBE}}{\Delta A/5 \text{ min KALIBRATOR}} \times \text{Aktivität des Kalibrators}$$

Eine Einheit ACE-Aktivität entspricht definitionsgemäß der Enzymmenge, die unter den entsprechenden Untersuchungsbedingungen die Bildung von einem Mikromol FAP pro Minute katalysiert.

BEISPIEL:

Unter Verwendung eines ACE Calibrator mit einer Aktivität von 50 U/L bei 37°C wurden bei 37°C folgende Absorptionswerte ermittelt.

	PROBE	KALIBRATOR
INITIAL A	1,370	1,370
FINAL A	1,340	1,346
ΔA pro 5 min	0,030	0,024

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

ERWARTUNGSWERTE

Mit Hilfe der beschriebenen Methode wurde die ACE-Aktivität im Nüchternblut von 56 klinisch gesunden Männern und Frauen bestimmt. Der für die 56 Personen erhaltene Mittelwert betrug 30 U/L. Der Normalbereich wurde als Mittelwert ± 2 SD (SD = 11) berechnet. Dabei ergab sich keinerlei Differenz zwischen den für Männer und Frauen ermittelten Werten. Laut Untersuchungen liegen die Erwartungswerte für Kinder und Jugendliche unter 19 Jahren höher als bei Erwachsenen.¹⁰

ACE (U/L)
8 - 52 (37°C)
5 - 33 (30°C)

Die mit diesem Verfahren ermittelten Werte können nicht direkt mit Werten verglichen werden, die mittels anderer Verfahren und unter anderen Bedingungen erhalten wurden. Die Erwartungsbereiche gelten nur als Richtwerte. Es wird dringend empfohlen, dass jedes Labor einen für die lokale Bevölkerung charakteristischen Referenzbereich erstellt.

LEISTUNGSMERKMALE

UNTERSUCHUNGEN ZUR REPRODUZIERBARKEIT:

Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit innerhalb eines Tests wurden drei Serumproben mit unterschiedlicher ACE-Aktivität in zehn Replikaten auf drei verschiedenen Analyseplattformen analysiert. Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Tests wurden drei Serumproben mit unterschiedlicher ACE-Aktivität zu zehn verschiedenen Zeitpunkten in doppelter Ausführung auf drei verschiedenen Analyseplattformen analysiert.

	Reproduzierbarkeit innerhalb eines Tests								
	Analyseplattform 1			Analyseplattform 2			Analyseplattform 3		
Probe	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Mittlere ACE-Aktivität (U/L)	24	58	98	27	53	97	21	65	109
Standardabweichung	1,9	3,4	1,3	3,8	3,7	1,9	2,0	1,8	1,7
% VK	7,9	5,8	1,4	13,8	6,9	1,9	9,4	2,8	1,6
Anzahl der Tests	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Tests								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Mittlere ACE-Aktivität (U/L)	47	71	140	56	93	133	35	43	143
Standardabweichung	3,7	5,0	6,5	2,9	4,4	4,1	3,1	3,2	7,4
% VK	7,8	7,0	4,7	5,1	4,7	3,0	8,8	7,3	5,2
Anzahl der Tests	20	20	20	20	20	20	20	20	20

UNTERSUCHUNGEN ZUR KORRELATION:

Mit der hier beschriebenen Methode sowie der von Harjanne dargelegten Methode wurden 52 Seren mit ACE-Werten von 8-251 U/L analysiert.⁷ Der resultierende Korrelationskoeffizient betrug 0,981 und die Regressionsgleichung zeigte eine Steigung von 1,2 bei einem y-Abschnitt von 8,0 U/L. Die Mittelwerte betrugen nach der Methode von Harjanne 76 U/L und nach dem hier beschriebenen Verfahren 53 U/L.

LITERATUR

- Lieberman J: *The specificity and nature of serum-angiotensin-converting enzyme (serum ACE) elevations in sarcoidosis*. Ann NY Acad Sci 278:488, 1976.
- Stefkin 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.
- Waebor 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*. JMIR 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, Piddo 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.

BESTELLINFORMATIONEN

Bestellnummer		305-10
ACE REAGENT, 305-10		10 x 10 ml
ERFORDERLICHES REAGENZ		
Bestellnummer	Artikel	Menge
305-50	ACE CALIBRATOR	6 x 1 ml
OPTIONALE REAGENZEN		
Bestellnummer	Artikel	Menge
A6040	ACE CONTROL-N (Normal)	6 x 1 ml
A7040	ACE CONTROL-E (Elevated)	6 x 1 ml

ERLÄUTERUNG DER SYMBOLE



Verwendbar bis



Temperaturbegrenzung



Chargencode



Bestellnummer



Medizinisches Produkt zur In-vitro-Diagnostik



Wasser



Reproduktionstoxizität



Gebrauchsanweisung konsultieren



Hersteller



Rekonstituieren mit



ACE-Reagenz



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

