

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE)

REF 305-10

10 x 10 ml

ESPAÑOL

USO PREVISTO

El ACE Reagent está diseñado para su uso en la determinación cinética cuantitativa de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina (Angiotensin Converting Enzyme, ACE) en suero o plasma a 340 nm.

RESUMEN

La enzima convertidora de la angiotensina (ACE, EC3.4.15.1, dipeptidil carboxipeptidasa) es una glucoproteína dipeptidil hidrolasa que libera al péptido histidil-leucina de la angiotensina I, decapeptido relativamente inactivo, haciendo que este último se convierta en un potente vasoconstrictor, la angiotensina II. La ACE también inactiva a la bradiquinina. Concentraciones elevadas de actividad ACE se observan en el suero de pacientes con sarcoidosis activa¹ y ocasionalmente en niños prematuros con síndrome de insuficiencia respiratoria, en adultos con tuberculosis, enfermedad de Gaucher, lepra y muchas otras patologías que conllevan problemas pulmonares y hepáticos.²

Sieffkin et al.² observaron niveles significativamente bajos en muchos casos agudos y crónicos de daño pulmonar. Al realizar mediciones seriadas del valor ACE en 71 pacientes se observó que las concentraciones significativamente decrecientes a lo largo de varios días iban asociadas a una tasa de mortalidad muy elevada. Una única medición del valor ACE no permite predecir necesariamente la presencia o el alcance del daño pulmonar ni tampoco sirve de ayuda para establecer un pronóstico, mientras que los resultados de mediciones seriadas resultan valiosos para el pronóstico.

Para medir la actividad ACE se han diseñado diferentes métodos tales como el radioinmunoensayo³ y el inmunoensayo ligado a enzimas competitivo.⁴ El procedimiento aquí descrito es un método espectrofotométrico rápido y eficaz que utiliza el sustrato tripeptídico sintético N-[3-(2-furil)acrilil]-L-fenilalanilglicilglicina (FAPGG).⁵

PRINCIPIO

La siguiente reacción es catalizada por ACE:



La FAPGG se hidroliza a furilacrililfenilalanina (FAP) y glicilglicina y esta hidrólisis produce una reducción de la absorbancia a 340 nm. La actividad ACE en la muestra se determina comparando la velocidad de reacción de la muestra con la obtenida con el ACE Calibrator.

REACTIVOS

ACE REAGENT, 10 x 10 ml, 305-10

Cuando el reactivo liofilizado es reconstituido de acuerdo con las instrucciones, contiene 0,5 mmol/l de FAPGG más estabilizador y tampón, pH 8,2.

PRECAUCIONES:

El ACE Reagent debe utilizarse para "diagnóstico in vitro". Deberán respetarse las precauciones normales para el manejo de reactivos de laboratorio. Los residuos deberán eliminarse de acuerdo con las normativas locales, estatales y federales. Exclusivamente para uso profesional. No utilizar si se observan daños.

El ACE Reagent es IRRITANTE para los ojos, el sistema respiratorio y la piel. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con agua abundante y acudir al médico. Utilizar indumentaria protectora adecuada.

Se deben seguir las siguientes instrucciones para abrir la tapa roja de cada vial, ya que tras su apertura queda un borde de aluminio cortante:

- Utilizar unas tenazas, alicates, espátulas u otro objeto similar para abrir y quitar la tapa del vial. Asegúrese de hacerlo con un movimiento de adentro hacia afuera y alejado del cuerpo.
- Usar guantes de látex para una mayor protección.

PREPARACIÓN:

Reconstituir el ACE Reagent con el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta del vial. Si se desea utilizar el reactivo en un analizador de muestreo discreto, deberá consultarse el procedimiento de aplicación correspondiente. Tras la adición de agua, tapar el vial y mezclar inmediatamente invirtiéndolo varias veces.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD:

Conservar el reactivo seco refrigerado (2-8°C). El reactivo permanece estable hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta. El reactivo reconstituido permanece estable durante 8 horas a temperatura ambiente (18-26°C) y como mínimo hasta 30 días refrigerado (2-8°C).

DETERIORO:

Desechar el vial si en el reactivo seco se observa compactación debida a la posible penetración de humedad, si no se disuelve totalmente o si la solución presenta un aspecto turbio.

APLICACIONES PARA ANALIZADOR DE MUESTRO DISCRETO

Para obtener información adicional sobre los procedimientos de aplicaciones de ACE, póngase en contacto con el Departamento de servicio técnico de **Trinity Biotech**.

RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se recomienda que la recogida de muestras se lleve a cabo según se indica en el documento M29 del CLSI (Instituto de estándares clínicos y de laboratorio, del inglés Clinical and Laboratory Standards Institute). Ningún método de ensayo conocido puede garantizar totalmente la no transmisión de infecciones por parte de las muestras de sangre humana. Por tanto, todos los derivados de la sangre deben ser considerados como potencialmente infecciosos.

Para el análisis se recomienda el uso de suero o plasma heparinizado⁶. Las muestras de suero son estables durante 7 días si se conservan refrigeradas a 2-8°C y durante 4 meses si se conservan congeladas a -20°C⁷. Las muestras de plasma heparinizado son estables durante 4 semanas si se almacenan congeladas a -20°C o -80°C^{14,15}.

SUSTANCIAS DE INTERFERENCIA:

La actividad ACE es inhibida por EDTA y por iones de metales pesados que pueden sustituir al ión zinc de la enzima.⁶ Se ha indicado que los reactivos de contraste de gadolinio inhiben la actividad de la ACE^{11, 12, 13}. Cuando se administra captopril, fármaco inhibidor de la ACE que se utiliza actualmente para el tratamiento de la hipertensión, la actividad sérica de ACE se ve considerablemente reducida aunque normalmente vuelve a los niveles normales aproximadamente a las 12 horas.⁸ La administración de otros fármacos también puede producir una respuesta similar.⁹

PROCEDIMIENTO MANUAL

MATERIALES SUMINISTRADOS:

ACE Reagent

OTROS MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS:

- ACE Calibrator, Ref. 305-50
- Espectrofotómetro capaz de medir con exactitud la absorbancia a 340 nm
- Cubetas con propiedades ópticas adecuadas para su uso a 340 nm
- Dispositivos de pipeteado para suministrar de forma exacta los volúmenes necesarios para el ensayo
- Temporizador
- Cámara para cubetas a temperatura constante

PROCEDIMIENTO:

La temperatura de la mezcla de reacción debe mantenerse a 30°C ó 37°C.

1. Preparación del ACE Reagent.
2. Reconstituir el ACE Calibrator de acuerdo con las instrucciones que figuran en su prospecto.
3. Pipetear 1,0 ml de solución del ACE Reagent e introducir en cada una de las dos cubetas marcadas como ENSAYO y CALIBRADOR y llevar a la temperatura de reacción.
4. Añadir 0,1 ml de la muestra a la cubeta marcada ENSAYO. Añadir 0,1 ml del ACE Calibrator a la cubeta marcada CALIBRADOR. Mezclar por inversión.
5. Colocar las cubetas en el compartimiento para cubetas a temperatura constante y esperar aproximadamente 5 minutos.
6. Leer y anotar las absorbancias (A) de ENSAYO y CALIBRADOR a 340 nm frente a agua como referencia. Estas son las absorbancias (A) INICIALES.
7. Exactamente cinco minutos después, volver a leer y anotar las absorbancias. Estas son las absorbancias (A) FINALES.

NOTAS:

1. Para comprobar que la reacción es lineal, volver a leer otra vez a los 2,5 minutos de la lectura de las absorbancias INICIALES. Los cambios de absorbancia en los dos períodos de 2,5 minutos deben ser aproximadamente los mismos.
2. Con un espectrofotómetro con registrador puede reducirse considerablemente el tiempo necesario para el ensayo. El valor ΔA a los 5 minutos para ENSAYO y CALIBRADOR puede obtenerse directamente en la parte lineal de sus respectivas curvas.

CALIBRACIÓN:

El procedimiento es lineal hasta una actividad ACE de 120 U/L. Deberá incluirse un calibrator en cada serie de ensayos para calcular la actividad ACE en los mismos.

CONTROL DE CALIDAD:

Actualmente se dispone de dos preparaciones de suero para el control de calidad: Actualmente se dispone de dos preparaciones de suero para el control de calidad: ACE Control-N, Ref. A6040, y ACE Control-E, Ref. A7040, con un nivel normal y un nivel elevado de actividad ACE, respectivamente.

Los controles de calidad deben situarse dentro de sus rangos asignados; de lo contrario, la ejecución del ensayo no es válida.

Todos los datos de rendimiento se generan a partir de estudios en los que se ha empleado suero como la matriz de muestra.

CÁLCULOS

ΔA a los 5 min (ENSAYO) = A INICIAL ENSAYO – A FINAL ENSAYO

ΔA a los 5 min. (CALIBRADOR) = A INICIAL CALIBRADOR – A FINAL CALIBRADOR

$\text{ACE (U/L)} = \frac{\Delta A / 5 \text{ min. ENSAYO}}{\Delta A / 5 \text{ min. CALIBRADOR}} \times \text{actividad del calibrator}$

Una unidad de actividad ACE se define como la cantidad de enzima que cataliza la formación de un micromol de FAP por minuto en las condiciones de ensayo.

EJEMPLO:

Los valores de absorbancia que se presentan a continuación se obtuvieron a 37°C utilizando un ACE Calibrator con una actividad de 50 U/L a 37°C.

	ENSAYO	CALIBRADOR
A INICIAL	1,370	1,370
A FINAL	1,340	1,346
ΔA a los 5 min.	0,030	0,024

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

VALORES ESPERADOS

Se analizaron muestras de sangre de 56 hombres y mujeres adultos clínicamente sanos en ayunas para determinar la actividad ACE mediante el método descrito. El valor medio obtenido para los 56 sujetos fue de 30 U/L. El intervalo normal se calculó como la media $\pm$ 2 DE (DE=11). No se observaron diferencias entre hombres y mujeres. Los valores esperados obtenidos son más elevados en los niños y los adultos jóvenes menores de 19 años que en los adultos de más edad.¹⁰

ACE (U/L)
8 - 52 (37°C)
5 - 33 (30°C)

Los valores obtenidos con este procedimiento no son directamente comparables con los obtenidos mediante otros procedimientos y en diferentes condiciones. El intervalo de valores esperados se incluye únicamente a título de guía. Se recomienda especialmente que cada laboratorio determine el intervalo de valores esperados típico de su población local.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

ESTUDIOS DE REPRODUCIBILIDAD:

Para calcular la reproducibilidad intra, se analizaron diez ensayos en tres muestras de suero distinta actividad de la ACE en cada uno de los tres analizadores de la plataforma. Para calcular la reproducibilidad inter, se analizaron tres muestras de suero de distinta actividad de la ACE diez veces por separado doblemente en cada uno de los tres analizadores de la plataforma.

	Reproducibilidad intra								
	Analizador 1 de la plataforma			Analizador 2 de la plataforma			Analizador 3 de la plataforma		
Muestra	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE promedia (U/L)	24	58	98	27	53	97	21	65	109
Desviación estándar	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
N.º de ensayos	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Reproducibilidad inter								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE promedia (U/L)	47	71	140	56	93	133	35	43	143
Desviación estándar	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
N.º de ensayos	20	20	20	20	20	20	20	20	20

ESTUDIOS DE CORRELACIÓN:

Se analizaron 52 sueros con valores ACE que oscilaban entre 8 y 251 U/L mediante el procedimiento descrito por Harjanne.⁷ El coeficiente de correlación resultante fue de 0,981 y la ecuación de regresión presentó una pendiente de 1,2 y una ordenada en el origen de 8,0 U/L. Los valores medios obtenidos fueron 76 U/L mediante el método de Harjanne y 53 U/L mediante el método descrito.

REFERENCIAS

- 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*. JMRI 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.

INFORMACIÓN SOBRE EL PEDIDO

N.º de catálogo	305-10	
ACE REAGENT, 305-10	10 x 10 ml	
REACTIVO NECESARIO		
N.º de catálogo	Producto	Cantidad
305-50	ACE CALIBRATOR	6 x 1 ml
REACTIVOS OPCIONALES		
N.º de catálogo	Producto	Cantidad
A6040	ACE CONTROL-N (Normal)	6 x 1 ml
A7040	ACE CONTROL-E (Elevated)	6 x 1 ml

GUÍA DE SÍMBOLOS

 Fecha de caducidad	 Límite de temperatura
 Código de lote	 Consulte las instrucciones de uso
 Número de catálogo	 Fabricante
 Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	Recon. Reconstituir con
 Agua	 Reactivo ACE
 Toxicidad reproductiva	 www.trinitybiotech.com Indicador del manual electrónico



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

