

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE)

REF

305-10

10 x 10 ml

ITALIANO

CAMPO DI UTILIZZO

ACE Reagent viene utilizzato nella determinazione cinetica quantitativa a 340 nm dell'attività dell'enzima di conversione dell'angiotensina (Angiotensin Converting Enzyme, ACE) in siero o plasma.

INTRODUZIONE

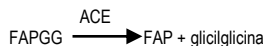
L'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE, EC3.4.15.1, dipeptidil carbossipeptidasi) è una glicoproteina peptididipeptidasi idrolasi che scinde il dipeptide istidilileucina dall'angiotensina I, un decapeptide relativamente inattivo. Quest'ultima viene convertita in un potente vasocostrittore, l'angiotensina II. L'ACE inoltre inattiva la bradichinina. Livelli elevati di attività dell'ACE sono presenti nel siero di pazienti con sarcoidosi attiva¹ ed occasionalmente in neonati prematuri con sindrome da stress respiratorio, in adulti con tubercolosi, malattia di Gaucher, lebbra ed in molte altre condizioni patologiche collegate a malattie polmonari ed epatiche.²

Sieffkin et al.² hanno riportato livelli significativamente bassi in diversi casi acuti e cronici di danni ai polmoni. Misurazioni in serie effettuate su 71 pazienti hanno evidenziato che livelli significativamente decrescenti in giorni successivi erano associati ad un grado di mortalità molto elevato. Una sola misurazione dell'ACE non consente di prevedere necessariamente la presenza e la portata di danni ai polmoni né può essere utilizzata come supporto per la diagnosi e la prognosi. I livelli in serie hanno tuttavia valore prognostico.

Sono stati individuati diversi metodi per la misurazione dell'attività dell'ACE, tra cui il saggio radioimmunologico³ ed il saggio immunoenzimatico competitivo legato all'enzima.⁴ La procedura descritta in questo documento si riferisce a un metodo spettrofotometrico rapido e comodo che utilizza il substrato tripeptidico sintetico N-[3-(2-furil)acrilil]-L-fenilalanilglicilglicina (FAPGG).⁵

PRINCIPIO

La seguente reazione è catalizzata da ACE:



L'FAPGG viene idrolizzato in furilacrililfenilalanina (FAP) e glicilglicina. L'idrolisi della FAPGG comporta una diminuzione dell'assorbanza a 340 nm. L'attività dell'ACE nel campione viene determinata confrontando la velocità di reazione del campione con quella ottenuta con ACE Calibrator.

REAGENTE

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

Il reagente liofilizzato, una volta ricostituito secondo le istruzioni conterrà 0,5 mmol/L di FAPGG, con stabilizzante e tampone a pH 8,2.

PRECAUZIONI:

ACE Reagent è destinato al solo "uso diagnostico in vitro". Attenersi alle normali precauzioni previste per l'uso di reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti secondo quanto previsto dalle normative locali e statali.
Solo per uso professionale.
In caso di danni, non utilizzare.

ACE Reagent è IRRITANTE per occhi, sistema respiratorio e pelle. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e consultare un medico. Indossare abbigliamento protettivo indicato.

Le seguenti istruzioni devono essere seguite nello strappare la linguetta di alluminio del sigillo rosso, che presenta bordi taglienti dopo l'apertura:
- Dovrebbero essere utilizzate delle pinzette, delle pinze a becchi, delle forbici, una stappatrice, una spatola o un tipo di oggetto simile per aprire e rimuovere la linguetta di metallo dal vial.
Assicurarsi che questa azione venga compiuta verso l'esterno, lontano dal corpo.
- Per una maggiore protezione dovrebbero essere utilizzati dei guanti in lattice.

PREPARAZIONE:

Ricostituire ACE Reagent con il volume di acqua deionizzata indicato sull'etichetta del vial. Se il reagente deve essere utilizzato in un analizzatore separato, fare riferimento alla rispettiva procedura. Dopo l'aggiunta di acqua tappare il vial ed agitare diverse volte capovolgendolo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ:

Conservare il reagente secco in frigorifero a 2-8°C. Il reagente è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Il reagente ricostituito è stabile per 8 ore a temperatura ambiente (18-26°C) e per almeno 30 giorni in frigorifero (2-8°C).

DETERIORAMENTO:

Scartare il vial del reagente secco se presenta formazione di grumi dovuti ad una possibile penetrazione di umidità, se non si scioglie completamente o se la soluzione appare torbida.

USO SU ANALIZZATORE DISCRETO

Per ulteriori informazioni sulle procedure di applicazione relative all'ACE, contattare l'assistenza tecnica di **Trinity Biotech**.

CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE

Per la raccolta dei campioni attenersi alle istruzioni riportate nella procedura M29 CLSI corrente. Nessun metodo d'analisi noto può garantire che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati del sangue devono essere considerati come potenzialmente infettivi.

Per l'analisi si consiglia l'utilizzo di siero o di plasma eparinizzato⁶. I campioni di siero sono stabili per 7 giorni se conservati in frigorifero a 2-8°C e per 4 mesi se congelati a -20°C⁷. I campioni di plasma eparinizzato sono stabili per 4 settimane se congelati a -20°C o -80°C^{14,15}.

SOSTANZE INTERFERENTI:

L'attività dell'ACE viene inibita da EDTA e da ioni di metalli pesanti che possono sostituire lo ione zinco dell'enzima.⁶ È stato segnalato che i reagenti di contrasto a base di gadolinio inibiscono l'attività dell'ACE.^{11,12,13} Durante la somministrazione di un farmaco inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina, il captopril, che viene utilizzato attualmente per il trattamento dell'ipertensione, l'attività nel siero dell'ACE viene significativamente ridotta, ma ritorna di solito a livelli normali in circa 12 ore.⁸ La somministrazione di altri farmaci simili può indurre lo stesso tipo di risposta.⁹

PROCEDURA MANUALE

MATERIALI FORNITI:

ACE Reagent

MATERIALI RICHIESTI NON FORNITI:

- ACE Calibrator (cod. catalogo 305-50)
- Spettrofotometro in grado di misurare con accuratezza l'assorbanza a 340 nm
- Cuvette con proprietà ottiche adatte per l'utilizzo a 340 nm
- Dispositivo di pipettaggio per la dispensazione accurata dei volumi richiesti per il test
- Cronometro
- Camera cuvette a temperatura costante

PROCEDURA:

La temperatura della miscela di reazione deve essere mantenuta a 30°C o a 37°C.

1. Preparare ACE Reagent.
2. Ricostituire ACE Calibrator in base alle istruzioni riportate sull'insero della confezione.
3. Pipettare 1,0 ml ACE Reagent in ognuna delle due cuvette etichettate con TEST e CALIBRATORE e portarle alla temperatura di reazione.
4. Nella cuvetta TEST aggiungere 0,1 ml di campione. Nella cuvetta CALIBRATORE aggiungere 0,1 ml di ACE Calibrator. Miscelare capovolgendo le cuvette.
5. Mettere le cuvette nello scomparto a temperatura costante ed attendere circa 5 minuti.
6. Leggere e registrare l'assorbanza (A) a 340 nm di TEST e CALIBRATORE rispetto ad acqua come riferimento. Queste sono le A INIZIALI.
7. Esattamente 5 minuti dopo, rileggere e registrare l'assorbanza. Queste sono le A FINALI.

NOTE:

1. Per dimostrare che la reazione è lineare, effettuare una lettura aggiuntiva dopo 2,5 minuti dalla A INIZIALE. Le variazioni d'assorbanza per i due intervalli da 2,5 minuti devono essere approssimativamente uguali.
2. Se si dispone di uno spettrofotometro con registrazione automatica, il tempo richiesto per il test può essere ridotto considerevolmente. Le ΔA a 5 minuti per TEST e CALIBRATORE possono essere ottenute direttamente dalla porzione lineare delle rispettive curve.

CALIBRAZIONE:

La procedura è lineare fino ad un'attività dell'ACE di 120 U/L. Per calcolare l'attività ACE dei test, occorre utilizzare il calibratore incluso in ogni serie di test.

CONTROLLO QUALITÀ:

Attualmente sono disponibili due preparati di siero da utilizzare come controllo: ACE Control-N (cod. catalogo A6040) e ACE Control-E (cod. catalogo A7040), che contengono rispettivamente livelli normali e livelli elevati di attività ACE.

I controlli qualità devono rientrare negli intervalli assegnati; in caso contrario il test effettuato non è valido.

Tutti i dati sulle prestazioni sono generati da studi che utilizzano il siero come matrice del campione.

CALCOLI

ΔA per 5 minuti (TEST) = A TEST INIZIALE - A TEST FINALE

ΔA per 5 minuti (CALIBRATORE) = A CALIBRATORE INIZIALE - A CALIBRATORE FINALE

ACE (U/L) = $\frac{\Delta A/5 \text{ min TEST}}{\Delta A/5 \text{ min CALIBRATORE}} \times \text{Attività del calibratore}$

Per una unità di attività ACE si intende la quantità di enzima che, alle condizioni del test, catalizza la formazione di una micromole di FAP al minuto.

ESEMPIO:

Utilizzando ACE Calibrator con un'attività di 50 U/L a 37°C, sono state ottenute le seguenti assorbanze a 37°C.

	TEST	CALIBRATORE
A INIZIALE	1,370	1,370
A FINALE	1,340	1,346
ΔA per 5 minuti	0,030	0,024

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

VALORI ATTESI

56 campioni di sangue, prelevati da pazienti maschi e femmine sani e a digiuno, sono stati sottoposti al test dell'attività ACE secondo il metodo descritto. Il valore medio ottenuto per i 56 individui è stato 30 U/L. Il range normale è stato calcolato come valore medio $\pm$ 2 SD (SD=11). Non è stata riscontrata alcuna differenza tra i valori ottenuti per i maschi e quelli ottenuti per le femmine. I valori attesi sono stati riportati come più elevati in bambini ed in giovani adulti di età inferiore ai 19 anni che negli adulti di età superiore.¹⁰

ACE (U/L)
8 - 52 (37°C)
5 - 33 (30°C)

I valori ottenuti mediante questa procedura non possono essere confrontati direttamente con quelli ottenuti tramite altre procedure che impiegano condizioni diverse. Il range di valori attesi è puramente indicativo. È opportuno che ogni laboratorio stabilisca un range atteso caratteristico per la popolazione locale.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

STUDI DI RIPRODUCIBILITÀ:

Per l'intra-riproducibilità, sono state eseguite dieci repliche del test su tre campioni di siero con attività ACE variabile su ciascuno dei tre analizzatori piattaforma. Per l'inter-riproducibilità, sono stati testati tre campioni di siero con attività ACE variabile in duplicato in dieci diverse occasioni su ciascuno dei tre analizzatori piattaforma.

	Intra-riproducibilità								
	Analizzatore piattaforma 1			Analizzatore piattaforma 2			Analizzatore piattaforma 3		
Campione	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Media ACE (U/L)	24	58	98	27	53	97	21	65	109
Deviazione standard	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. di test	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Inter-riproducibilità								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Media ACE (U/L)	47	71	140	56	93	133	35	43	143
Deviazione standard	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. di test	20	20	20	20	20	20	20	20	20

STUDI DI CORRELAZIONE:

52 campioni di siero con valori di ACE compresi tra 8 e 251 U/L sono stati testati mediante la procedura descritta e mediante un metodo descritto da Harjanne.⁷ Il coefficiente di correlazione risultante è stato pari a 0,981 e l'equazione di regressione ha avuto una pendenza di 1,2 ed un valore dell'intercetta y di 8,0 U/L. I valori medi ottenuti sono 76 U/L per il metodo Harjanne e 53 U/L per la procedura descritta.

BIBLIOGRAFIA

- 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.
- 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*. 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, 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.

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI		
Cod. catalogo	305-10	
ACE REAGENT, 305-10	10 x 10 ml	
REAGENTE RICHIESTO		
Cod. catalogo	Articolo	Quantità
305-50	ACE CALIBRATOR	6 x 1 ml
REAGENTI OPZIONALI		
Cod. catalogo	Articolo	Quantità
A6040	ACE CONTROL-N (Normal)	6 x 1 ml
A7040	ACE CONTROL-E (Elevated)	6 x 1 ml

GUIDA AI SIMBOLI

	
Utilizzare entro	Limite di temperatura
	
Numero di lotto	Consultare le istruzioni per l'uso
	
Numero di catalogo	Fabbricante
	Recon.
Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Ricostituire con
	
Acqua	Reagente ACE
	
Tossicità riproduttiva	Indicatore eIFU



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

