

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE)

REF 305-10

10 x 10 ml

PORTUGUÊS

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O ACE Reagent destina-se a ser utilizado na determinação cinética quantitativa da atividade da enzima conversora da angiotensina (Angiotensin Converting Enzyme, ACE) em soro ou plasma a 340 nm.

RESUMO

A enzima conversora da angiotensina (ACE, EC3.4.15.1, dipeptidil carboxipeptidase) é uma glicoproteína peptidil-dipeptidase hidrolase que separa o dipéptido histidil-leucina da angiotensina I, um decapeptído relativamente inativo. Este último é convertido no potente vasoconstritor angiotensina II. A ACE também inativa a bradiquinina. Níveis elevados de atividade da ACE ocorrem no soro de pacientes com sarcoidose ativa¹ e ocasionalmente em crianças prematuras com síndrome da angústia respiratória, em adultos com tuberculose, doença de Gaucher, lepra e muitas outras condições patológicas que envolvam doenças de pulmões e fígado.²

Foram reportados por Siefkin et al.² níveis significativamente baixos em vários casos agudos e crônicos de lesões pulmonares. Medições em série da ACE em 71 doentes demonstraram que níveis significativamente decrescentes ao longo de vários dias estavam associados a uma taxa de mortalidade muito elevada. Uma única medição da ACE não prevê necessariamente a presença ou o agravamento da lesão pulmonar nem ajuda no diagnóstico precoce. No entanto, níveis em série são relevantes para o prognóstico.

Foram desenvolvidos vários métodos para a medição da atividade da ACE, incluindo radioimunoensaio³ e imunoensaio competitivo ligado a enzima.⁴ O procedimento aqui descrito é um método espectral fotométrico rápido e conveniente que utiliza o substrato tripeptídeo sintético N-[3-(2-furil)acrilil]-L-fenilalanilglicilglicina (FAPGG).⁵

PRINCÍPIO

A seguinte reação é catalisada pela ACE:



FAPGG é hidrolisado para furilacrililfenilalanina (FAP) e glicilglicina. A hidrólise de FAPGG resulta numa diminuição da absorvância a 340 nm. A atividade da ACE na amostra é determinada através da comparação da taxa de reação da amostra com a obtida com o ACE Calibrator.

REAGENTE

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

Quando o reagente liofilizado é reconstituído de acordo com as instruções, este irá conter FAPGG, 0,5 mmol/L, com estabilizador e solução tampão, pH 8,2.

PRECAUÇÕES:

O ACE Reagent destina-se à "utilização em diagnóstico *in vitro*". As precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais devem ser seguidas. A eliminação de resíduos deve ser feita de acordo com a legislação federal, estatal e local.

Apenas para uso profissional.

Em caso de danos, não utilizar.

O ACE Reagent provoca IRRITAÇÃO nos olhos, no sistema respiratório e na pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente com água abundante e procurar auxílio médico. Utilizar vestuário de proteção adequado.

As instruções que se seguem devem ser observadas ao abrir o selo vermelho, já que tem um rebordo afiado após a abertura:

- Deve ser utilizada uma pinça, um alicate de pontas, um fórceps, um dispositivo de abertura de tampas, uma espátula ou um objeto similar para abrir e retirar o selo do frasco. Ao realizar esta ação, garantir que é feita para fora, longe do corpo.

- Também devem ser utilizadas luvas de látex para maior proteção do utilizador.

PREPARAÇÃO:

Reconstituir o ACE Reagent com o volume de água desionizada indicado no rótulo do frasco. Se o reagente for utilizado num analisador autónomo, consultar o respetivo procedimento de aplicação. Depois de adicionar água, fechar o frasco e misturar imediatamente várias vezes por inversão.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE:

Conservar o reagente seco refrigerado (2–8 °C). O reagente mantém a sua estabilidade até à data de validade indicada no rótulo. O reagente reconstituído mantém-se estável durante 8 horas à temperatura ambiente (18–26 °C) e durante pelo menos 30 dias se refrigerado (2–8 °C).

DETERIORAÇÃO:

Eliminar o frasco se o reagente seco apresentar alteração devido a uma possível penetração de humidade, não se dissolver completamente ou se a solução tiver um aspeto turvo.

APLICAÇÕES PARA ANALISADOR AUTÓNOMO

Contactar o Departamento de Serviços Técnicos da **Trinity Biotech** para obter mais informações relativamente aos procedimentos de aplicações da ACE.

COLHEITA E CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA

Recomenda-se que a colheita da amostra seja efetuada de acordo com o documento M29 atual do CLSI. Não há nenhum método de teste conhecido que possa dar total certeza que as amostras de sangue humano não irão transmitir uma infeção. Assim sendo, todos os derivados de sangue devem ser considerados potencialmente infecciosos.

Recomenda-se soro ou plasma heparinizado para a análise⁶. As amostras de soro permanecem estáveis durante 7 dias se armazenadas refrigeradas a 2–8 °C e durante 4 meses se armazenadas congeladas a -20 °C⁷. As amostras de plasma heparinizado permanecem estáveis durante 4 semanas se armazenadas congeladas a -20 °C ou -80 °C^{14,15}.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES:

A atividade da ACE é inibida por EDTA e por iões de metais pesados que podem servir para substituir o ião de zinco da enzima⁶. Foi reportado que reagentes de contraste com gadolínio inibem a atividade da ACE^{11,12,13}. No momento da administração do medicamento inibidor da enzima conversora da angiotensina, o captopril, normalmente utilizado no tratamento da hipertensão, a atividade do soro da ACE é marcadamente reduzida, mas normalmente volta a atingir valores normais em cerca de 12 horas.⁸ A administração de outros medicamentos semelhantes pode produzir uma resposta similar.⁹

PROCEDIMENTO MANUAL

MATERIAL FORNECIDO:

ACE Reagent

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

- ACE Calibrator, n.º de catálogo 305-50
- Espectrofotómetro capaz de medir com precisão a absorvância a 340 nm
- Cuvetes com propriedade ótica adequada para serem utilizadas a 340 nm
- Dispositivos de pipetagem para a distribuição exata dos volumes necessários para o ensaio
- Temporizador
- Câmara de cuvetes de temperatura constante

PROCEDIMENTO:

A temperatura da mistura da reação deve ser mantida a 30 °C ou 37 °C.

1. Preparar o ACE Reagent.
2. Reconstituir o ACE Calibrator de acordo com as respetivas instruções de utilização.
3. Pipetar 1,0 ml de Solução de ACE Reagent para cada uma das duas cuvetes designadas como TESTE e CALIBRADOR e deixar atingir a temperatura de reação.
4. Adicionar 0,1 ml de amostra à cuvette designada como TESTE. Adicionar 0,1 ml de ACE Calibrator à cuvette designada como CALIBRADOR. Misturar por inversão.
5. Colocar as cuvetes num compartimento de cuvetes com temperatura constante e aguardar aproximadamente 5 minutos.
6. Ler e registar as absorvâncias (A) de TESTE e CALIBRADOR a 340 nm vs água como referência. São as A INICIAIS.
7. Exatamente cinco minutos depois, ler e registar novamente as absorvâncias. São as A FINAIS.

NOTAS:

1. Para demonstrar que a reação é linear, faça uma leitura adicional 2,5 minutos após as A INICIAIS. As alterações de absorvância para os dois intervalos de 2,5 minutos devem ser aproximadamente iguais.
2. Se estiver disponível um espectrofotómetro de registo, o tempo necessário para o teste pode ser consideravelmente reduzido. A ΔA por 5 minutos para TESTE e CALIBRADOR pode ser obtida diretamente a partir da porção linear das respetivas curvas.

CALIBRAÇÃO:

O procedimento é linear até uma atividade de ACE de 120 U/L. Deve ser utilizado um calibrador com várias séries de ensaios para calcular a atividade de ACE dos testes.

CONTROLO DE QUALIDADE:

Estão atualmente disponíveis duas preparações de soro para fins de controlo. Estas incluem ACE Control-N, n.º de catálogo A6040, e ACE Control-E, n.º de catálogo A7040, contendo níveis normais e elevados de atividade de ACE, respetivamente.

Os Controlos de qualidade devem estar dentro dos respetivos intervalos atribuídos, caso contrário, o processamento de teste será inválido.

Todos os dados de desempenho são gerados a partir de estudos que utilizam soro como matriz da amostra.

CÁLCULOS

ΔA por 5 min (TESTE) = TESTE A INICIAL – TESTE A FINAL

ΔA por 5 min (CALIBRADOR) = CALIBRADOR A INICIAL – CALIBRADOR A FINAL

ACE (U/L) = $\frac{\Delta A/5 \text{ min TESTE}}{\Delta A/5 \text{ min CALIBRADOR}}$ x Atividade do Calibrador

Uma unidade de atividade da ACE é definida como a quantidade de enzimas que irão catalisar a formação de uma micromole de FAP por minuto de acordo com as condições do ensaio.

EXEMPLO:

Os seguintes valores de absorvância foram obtidos a 37 °C utilizando um ACE Calibrator com uma atividade de 50 U/L a 37 °C.

	TESTE	CALIBRADOR
A INICIAL	1,370	1,370
A FINAL	1,340	1,346
ΔA por 5 min	0,030	0,024

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

VALORES ESPERADOS

Foram testadas amostras de sangue colhidas em jejum de 56 homens e mulheres adultos clinicamente saudáveis quanto à atividade da ACE pelo método descrito. O valor médio obtido para os 56 indivíduos foi de 30 U/L. O intervalo normal foi calculado como a média $\pm$ 2 DP (DP=11). Não se verificou diferença entre os valores obtidos para homens e mulheres. Os valores esperados são reportados como superiores em crianças e jovens adultos com idade inferior a 19 anos comparativamente a adultos de idade superior.¹⁰

ACE (U/L)
8–52 (37 °C)
5–33 (30 °C)

Os valores obtidos com este procedimento não podem ser diretamente comparados aos valores obtidos com outros procedimentos em condições diferentes. O intervalo de valores esperados é fornecido como referência. Recomenda-se vivamente que cada laboratório estabeleça um intervalo previsto característico da população local.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

ESTUDOS DE REPRODUTIBILIDADE:

Para intrarrepdutibilidade, foram realizados dez ensaios de replicação em três amostras de soro com atividade variável da ACE em três analisadores de plataforma. Para inter-reprodutibilidade, foram processadas três amostras de soro com atividade variável da ACE em dez ocasiões diferentes, em duplicado, em três analisadores de plataforma.

	Intrarrepdutibilidade								
	Analisador de plataforma 1			Analisador de plataforma 2			Analisador de plataforma 3		
Amostra	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE Média (U/L)	24	58	98	27	53	97	21	65	109
Desvio-padrão	1,9	3,4	1,3	3,8	3,7	1,9	2,0	1,8	1,7
% de CV	7,9	5,8	1,4	13,8	6,9	1,9	9,4	2,8	1,6
N.º de ensaios	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Inter-reprodutibilidade								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Amostra	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE Média (U/L)	47	71	140	56	93	133	35	43	143
Desvio-padrão	3,7	5,0	6,5	2,9	4,4	4,1	3,1	3,2	7,4
% de CV	7,8	7,0	4,7	5,1	4,7	3,0	8,8	7,3	5,2
N.º de ensaios	20	20	20	20	20	20	20	20	20

ESTUDOS DE CORRELAÇÃO:

Foram testados cinquenta e dois soros com intervalos de valores de ACE de 8–251 U/L com o procedimento descrito e pelo método descrito por Harjanne.⁷ O coeficiente de correlação resultante foi de 0,981 e a equação de regressão tinha um declive de 1,2 e uma interceção y de 8,0 U/L. Os valores médios foram de 76 U/L com o método de Harjanne e de 53 U/L com o procedimento descrito.

REFERÊNCIAS

- 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, 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.

INFORMAÇÕES PARA ENCOMENDA

N.º de catálogo		305-10
ACE REAGENT, 305-10		10 x 10 ml
REAGENTE NECESSÁRIO		
N.º de catálogo	Item	Quantidade
305-50	ACE CALIBRATOR	6 x 1 ml
REAGENTES OPCIONAIS		
N.º de catálogo	Item	Quantidade
A6040	ACE CONTROL-N (Normal)	6 x 1 ml
A7040	ACE CONTROL-E (Elevated)	6 x 1 ml

GUIA DE SÍMBOLOS



Data limite de utilização



Limite de temperatura



Código do lote



Número de catálogo



Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*



Água



Toxicidade reprodutiva



Consultar as instruções de utilização



Fabricante



Reconstituir com



Reagente ACE



Indicador de instruções de utilização eletrônicas



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 Girts Road,
Jamestown, NY 14701.
Tel. 1800 325 3424
Fax. 716-488-1990

