

Angiotensin Converting Enzyme

FAP Method

Quantitative determination of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in serum or plasma IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

The ACE reagent is based on the FAP method. In this method the direct substrate N-[3-(2-furyl)-acryloyl]-L-phenylalanyl-glycylglycine (FAPGG) is hydrolysed to FAP and Glycylglycine. The hydrolysis of FAPGG by ACE results in a decrease in absorbance at 340nm.



CLINICAL SIGNIFICANCE

ACE reagent is for use in the determination of angiotensin converting enzyme (ACE) activity in serum or plasma at 340 nm. Angiotensin converting enzyme (ACE, dipeptidyl carboxypeptidase) is a glycoprotein peptidyl dipeptide hydrolase that cleaves histidylleucine dipeptide from angiotensin I, a relatively inactive decapeptide. The latter is converted to the potent vasoconstrictor, angiotensin II. ACE also inactivates bradykinin. Elevated levels of ACE activity occur in serum of patients with active sarcoidosis, and occasionally in premature infants with respiratory distress syndrome, in adults with tuberculosis, Gaucher's disease, leprosy, and in many other pathologic conditions involving lung and liver diseases^{6,7}.

REAGENTS

R	Goods buffer, pH 8.2	80 mmol/L
	FAPGG	0,50 mmol/L
	Sodium azide	< 0,1%

PREPARATION

The reagent is ready to use.

CALIBRATION

It is recommended to use the ACE Calibrator (Ref. 1002225).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C. After opening, the reagent is stable for 30 days when properly capped immediately after each opening and stored at 2-8°C protected from light.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 37° C (± 0.1°C)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Fresh serum or plasma (lithium or sodium-heparin) promptly separated from the red blood cells¹. Do not use: lipemic samples, haemolyzed samples or EDTA as an anticoagulant as it inhibits the ACE activity^{2,3,4,5,8}. Stability: 7 days at 2-8°C or 1 year at -20°C.

PROCEDURE

1. Assay conditions:
 Wavelength: 340nm(2nd 660nm)
 Cuvette: 1 cm light path
 Constant temperature: 37°C
 2. Adjust the spectrophotometer to zero with distilled water or air.
 3. Pipette into a cuvette:
- | | | |
|-------------|--------|------------|
| | Sample | Calibrator |
| R (mL) | 1,0 | 1,0 |
| Sample (µL) | 100 | |
| Calibrator | | 100 |
4. Mix and incubate 5 minutes at 37°C.
 5. Read initial absorbance of the sample and calibrator (A₁), start the stopwatch and read absorbance exactly after 5 minutes (A₂). Calculate the difference of absorbance for the sample and calibrator (A₂ - A₁).

CALCULATIONS

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Sample}}{(A_2 - A_1) \text{ Calibrator}} \times \text{Conc. Calibrator} = \text{U/L of ACE in the sample}$$

Conversion factor

$$\text{ACE (U/L)} \times 0,001 = \text{ACE (kU/L)}$$

$$\text{ACE (U/L)} \times 0,01667 = \text{ACE (µkat/L)}$$

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: ACE Control (Ref.1002227). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹⁰

13,3 – 63,9 U/L
 These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: 5,4 - 160 U/L. If the sample concentration exceeds this value, dilute the sample 1:10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (U/L)	3,71	111,9	40,1	114,7
SD	0,804	1,044	1,230	1,949
CV (%)	2,17	0,93	3,07	1,70

Sensitivity: 1U/L = 0,00041 (ΔA)

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x). The results were the following:
 Correlation coefficient (r)²: 0,976.
 Regression equation: y = 0,98x - 0,56.
 The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Unconjugated Bilirubin up to 13 mg/dL, conjugated Bilirubin up to 26 mg/dL, haemoglobin up to 100 mg/dL and lipids up to 200 mg/dL. Captotril, and ACE inhibitory drug, used for the treatment of hypertension and some types congestive heart failure, will inhibit ACE activity in serum or plasma^{9,11}

NOTES

1.SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.

BIBLIOGRAPHY

1. NCCLS Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Clinical Laboratory Standards, 2003.
2. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
3. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
4. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd Ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
5. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition (M29-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
6. Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
7. Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
8. Guder W.G.: "The Quality of Diagnostic Sample". Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. (1st Edition - 2001).
9. Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., DeMott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).
10. Silvia Camós, M. Jesús Cruz, Ferran Morell and Esther Solé: "Genetic-based reference values for angiotensin converting enzyme (ACE) according to I/D polymorphism in a Spanish population sample". Clin Chem Lab Med 2012;50(10):1749 -1753.
11. Beneteau B, Baudin B, Morgant G, Giboudeau J, Baumann FC. Automated kinetic assay of angiotensin-converting enzyme in serum. Clin Chem 1986; 32: 884-6.

PACKAGING

Ref: 41205

Cont.

R: 2 x 50 mL

Enzima Convertidora de Angiotensina

Método FAP

Determinación cuantitativa de ACE (Enzima Convertidora de la Angiotensina) en suero o plasma IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El reactivo ACE se basa en el método FAP. En este método, el sustrato directo N- [3- (2-furil) -acriloil] -L- fenilalanilglicilina (FAPGG) se hidroliza a FAP y Glicilglicina. La hidrólisis de FAPGG por ACE da como resultado una disminución de la absorbancia a 340 nm.



SIGNIFICADO CLÍNICO

El reactivo ACE se utiliza para determinar la actividad de la enzima de convertidora de la angiotensina (ECA) en suero o plasma a 340 nm.

La enzima convertidora de angiotensina (ACE, dipeptidil carboxipeptidasa) es una glicoproteína peptidildipeptidica hidrolasa que escinde la histidilileucina dipéptido de la angiotensina I, un decapeptido relativamente inactivo. Este último se convierte en el potente vasoconstrictor, la angiotensina II. ACE también inactiva la bradiquinina. Los niveles elevados de actividad de la ACE se encuentran en el suero de pacientes con sarcoidosis activa, y ocasionalmente en niños prematuros con síndrome de dificultad respiratoria, en adultos con tuberculosis, enfermedad de Gaucher, lepra y en muchas otras patologías relacionadas con enfermedades pulmonares y hepáticas^{6,7}

REACTIVOS

R	Tampón Goods, pH 8.2	80 mmol/L
	FAPGG	0,50 mmol/L
	Azida Sódica	< 0,1 %

PREPARACIÓN

El reactivo está listo para su uso.

CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Calibrador ACE (Ref. 1002225).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C.

Una vez abierto el reactivo es estable 30 días, si se cierra inmediatamente después de su uso y se conserva a 2-8°C protegido de la luz.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o colorímetro para mediciones a 340 nm.
- Baño termostático a 37°C (± 0.1°C)
- Cubetas de paso de luz de 1,0 cm.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

El suero o plasma fresco (litio o sodio-heparina) se separa rápidamente de los glóbulos rojos¹.

No utilizar: muestras lipémicas, muestras hemolizadas o EDTA como anticoagulante ya que inhibe la actividad de la ACE^{2,3,4,5,8}.

Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 1 año a -20°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones de la prueba:
 - Longitud de onda:..... 340 nm (2ª 660 nm)
 - Cubeta:..... paso de luz de 1 cm
 - Temperatura constante:..... 37°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
3. Pipetear en una cubeta.

	Muestra	Calibrador
R (mL)	1,0	1,0
Muestra (µL)	100	
Calibrador		100

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C
5. Leer la absorbancia inicial de la muestra y el calibrador (A₁), poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia tras exactamente 5 minutos (A₂).
6. Calcular la diferencia de absorbancia para la muestra y para el calibrador (A₂ - A₁).

CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Muestra}}{(A_2 - A_1) \text{ Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{U/L de ACE en la muestra}$$

Factor de conversión:

$$\text{ACE (U/L)} \times 0,001 = \text{ACE (kU/L)}$$

$$\text{ACE (U/L)} \times 0,01667 = \text{ACE (µkat/L)}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras control valorados: ACE control (Ref.1002227).

Cada laboratorio deberá disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹⁰

13,3 – 63,9 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: 5,4-160 U/L. Si la concentración de la muestra supera este valor, diluir el muestra 1:10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado por 10.

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
		3,71	111,9	40,1
SD	0,804	1,044	1,230	1,949
CV (%)	2,17	0,93	3,07	1,70

Sensibilidad analítica: 1U/L= 0,00041 (ΔA)

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,976.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,98x – 0,56

Las características del método varían según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina libre hasta 13 mg/dL, bilirrubina conjugada hasta 26 mg/dL, hemoglobina hasta 100 mg/dL y lípidos hasta 200 mg/dL.

Captopril, un fármaco inhibidor de la ACE, usado para el tratamiento de la hipertensión y algunos tipos de insuficiencia cardíaca congestiva, puede inhibir la actividad de la ACE en suero o plasma^{9,11}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. NCCLS Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Clinical Laboratory Standards, 2003.
2. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
3. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
4. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd Ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
5. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition (M29-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
6. Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
7. Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
8. Guder W.G.: "The Quality of Diagnostic Sample". Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. (1st Edition - 2001).
9. Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., DeMott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).
10. Silvia Camós, M. Jesús Cruz, Ferran Morell and Esther Solé: "Genetic-based reference values for angiotensin converting enzyme (ACE) according to I/D polymorphism in a Spanish population sample". Clin Chem Lab Med 2012;50(10):1749 -1753.
11. Beneteau B, Baudin B, Morgant G, Giboudeau J, Baumann FC. Automated kinetic assay of angiotensin-converting enzyme in serum. Clin Chem 1986; 32: 884-6.

PRESENTACIÓN

Ref: 41205

Cont.

R: 2 x 50 mL

Enzima Conversora da Angiotensina

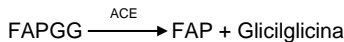
Método FAP

Determinação quantitativa da ACE (Enzima Conversora da Angiotensina) em soro ou plasma IVD

Conservar a 2 – 8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

O reagente ACE baseia-se no método FAP. Neste método, o substrato direto N-[3-(2-furil)-acrilil]-L-fenilalanilglicilglicina (FAPGG) é hidrolisado em FAP e Glicilglicina. A hidrólise de FAPGG pela ACE produz uma diminuição na absorvância a 340 nm.



SIGNIFICADO CLÍNICO

O reagente ACE destina-se a ser utilizado na determinação da actividade da enzima de conversão da angiotensina (ACE) no soro ou plasma a 340 nm.

A enzima de conversão da angiotensina (ACE, dipeptidil carboxipeptidase) é uma glicoproteína peptidyl dipeptide hidrolase que cliva o dipeptídeo histidileucina da angiotensina I, um decapeptídeo relativamente inactivo. Este último é convertido no potente vasoconstritor, angiotensina II. A ACE também inativa a bradicinina. Níveis elevados de atividade de ACE ocorrem no soro de pacientes com sarcoidose ativa, e ocasionalmente em prematuros com síndrome do desconforto respiratório, em adultos com tuberculose, doença de Gaucher, lepra e em muitas outras condições patológicas envolvendo doenças pulmonares e hepáticas.

REAGENTES

R	Tampão Goods, pH 8,2	80 mmol/L
	FAPGG	0,50mmol/L
	Azida Sódica	< 0,1 %

PREPARAÇÃO

O reagente está pronto a utilizar

CALIBRAÇÃO

Recomenda-se utilizar o Calibrador ACE (Ref. 1002225).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C.

Uma vez aberto, o reagente é estável durante 30 dias, se fechado imediatamente após a sua utilização e se conserva a 2 – 8 °C protegido da luz.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou colorímetro para medições a 340 nm.
- Banho termostatizável a 37 °C (± 0,1 °C)
- Cuvetes de 1,0 cm caminho de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco (lítio ou sódio-heparina) prontamente separados dos glóbulos vermelhos¹.

Não utilizar: amostras lipémicas, amostras hemolisadas ou EDTA como anticoagulante, uma vez que inibe a actividade da ACE^{2,3,4,5,8}.

Estabilidade: as amostras podem conservar-se durante 7 dias a 2–8 °C ou durante 1 ano a -20 °C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda: 340 nm (2ª 660 nm)
Cuvete: caminho de luz de 1 cm
Temperatura constante: 37 °C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada ou ar.
- Pipetar numa cuvette.

	Amostra	Calibrador
R (mL)	1,0	1,0
Amostra (µL)	100	
Calibrador		100

- Misturar e incubar durante 5 minutos a 37 °C
- Ler a absorvância inicial da amostra e do calibrador (A₁), colocar o cronómetro em funcionamento e ler a absorvância após exatamente 5 minutos (A₂).
- Calcular a diferença de absorvância para a amostra e para o calibrador (A₂-A₁).

CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Amostra}}{(A_2 - A_1) \text{ Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{U/L de ACE na amostra}$$

Fator de conversão

$$\text{ACE (U/L)} \times 0,001 = \text{ACE (kU/L)}$$

$$\text{ACE (U/L)} \times 0,01667 = \text{ACE (µkat/L)}$$

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soros controlo avaliados: ACE controlo (Ref.1002227).

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA¹⁰

13,3 – 63,9 U/L

Estes valores são indicativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: 5,4 - 160 U/L. Se a concentração da amostra for superior a este valor, diluir a amostra 1:10 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado por 10.

Precisão:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Média (U/L)	3,71	111,9	40,1	114,7
SD	0,804	1,044	1,230	1,949
CV (%)	2,17	0,93	3,07	1,70

Sensibilidade: 1U/L= 0,00041 (ΔA)

Exatidão: os reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r)²: 0,976.

Equação da reta de regressão: y = 0,98x – 0,56

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina livre até 13 mg/dL, bilirrubina conjugada até 26 mg/dL, hemoglobina até 100 mg/dL e lípidos até 200 mg/dL.

O captopril e o fármaco inibidor da ECA, utilizados no tratamento da hipertensão e alguns tipos de insuficiência cardíaca congestiva, inibem a atividade da ACE no soro ou no plasma^{9,11}.

NOTAS

A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores

BIBLIOGRAFIA

- NCCLS Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Clinical Laboratory Standards, 2003.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd Ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition (M29-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
- Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
- Guder W.G.: "The Quality of Diagnostic Sample". Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. (1st Edition - 2001).
- Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., DeMott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).
- Silvia Camós, M. Jesús Cruz, Ferran Morell and Esther Solé: "Genetic-based reference values for angiotensin-converting enzyme (ACE) according to I/D polymorphism in a Spanish population sample". Clin Chem Lab Med 2012;50(10):1749 -1753.
- Beneteau B, Baudin B, Morgant G, Giboudeau J, Baumann FC. Automated kinetic assay of angiotensin-converting enzyme in serum. Clin Chem 1986; 32: 884-6.

APRESENTAÇÃO

Ref: 41205

Cont.

R: 2 x 50 mL