ACE FS*

Informazioni per gli ordini

N° cat.	Dimensioni del kit			
1 7601 99 10 930	R1 4 × 20 mL	+	R2 2 × 10 mL	

Uso previsto

Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa in vitro dell'attività dell'enzima di conversione dell'angiotensina (angiotensin-converting enzyme: ACE) nel siero o nel plasma umano con eparina di litio sull'analizzatore automatizzato BioMajesty® JCA-BM6010/C.

Il kit ACE FS è destinato all'uso in combinazione con altri test, come la determinazione della 1,25-diidrossivitamina D, del calcio e della fosfatasi alcalina, per confermare la diagnosi di sarcoidosi, per la valutazione a lungo termine della sarcoidosi clinicamente attiva e per monitorare l'efficacia di una terapia farmacologica iniziata [1,2].

Sommario

L'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) è una metallopeptidasi zinco-dipendente con un peso molecolare di 150–180 kDa. L'enzima ACE è un componente centrale del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS) e svolge un ruolo cruciale nell'omeostasi circolatoria, in quanto causa la costrizione dei vasi sanguigni attraverso la conversione dell'angiotensina I in angiotensina II. La metallopeptidasi non è specifica del substrato e determina la scissione di diversi altri peptidi, tra i quali la bradichinina, che provoca vasodilatazione e aumento della permeabilità vascolare e porta all'infiammazione [3]. L'enzima ACE è localizzato sul lato luminale dell'endotelio vascolare della maggior parte degli organi, inclusi reni, cuore, cervello e muscoli scheletrici, in quanto parte dei RAAS locali, mentre la massima attività ACE è localizzata nelle cellule endoteliali dei capillari polmonari [1].

Fin dalla fine del XX secolo è noto che il livello di ACE circolante dipende da un polimorfismo di inserzione/delezione (I/D). Esistono tre genotipi: DD, ID e II, con i livelli di ACE più alti in DD, intermedi in ID e più bassi in II [4,5]. La distribuzione dei genotipi è conforme all'equilibrio di Hardy–Weinberg; i genotipi II, ID e DD sono rappresentati nella popolazione rispettivamente al 20%, al 43% e al 37% circa [6]. Il background etnico è un fattore importante per le frequenze degli alleli D e I. La prevalenza dell'allele D è del 39,1% negli asiatici, del 56,2% nei caucasici e del 60,3% nelle persone di discendenza africana [7].
La misurazione dell'attività ACE trova ampio uso a supporto della diagnosi di sarcoidosi. Un'attività ACE normale o ridotta non esclude la sarcoidosi, in quanto soltanto nel 60–70% circa dei pazienti è presente un'attività ACE elevata. Tuttavia è possibile osservare un'attività ACE normale anche con patologie allo stadio iniziale, o croniche, o inattive, quando le cellule non producono quantità aumentate di ACE [8]. Sono state segnalate attività aumentate in una serie di altre condizioni, quali malattia di Gaucher, lebbra, tubercolosi e condizioni patologiche che coinvolgono malattie polmonari ed epatiche. [5]

Metodo

Test fotometrico enzimatico che utilizza la 4-idrossiippuril-L-istidil-L-leucina come substrato.

In un primo passaggio, la 4-idrossiippuril-L-istidil-L-leucina viene scissa dall'enzima ACE in acido 4-idrossiippurico, che a sua volta viene scisso in acido 4-idrossibenzoico e glicina dall'enzima ippuricasi. Il perossido di idrogeno generato in situ viene utilizzato in presenza di perossidasi (POD) per ossidare e condensare l'acido 4-idrossibenzoico e la 4-amminoantipirina, così da produrre una sostanza colorata. L'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività ACE presente nel campione [9].

4-idrossiippuril-L-istidil-L-leucina $\xrightarrow{\text{ACE}}$ Acido 4-idrossiippuril + L-istidil-L-leucina

Acido 4-idorissipurrico $\xrightarrow{\text{Ippuricasi}}$ Acido 4-idrossibenzoico + Glicina

Acido 4-idrossibenzoico + H_2O_2 + 4-amminoantipirina $\xrightarrow{\text{POD}}$ Colorante chinonimmina

Un'unità di attività ACE corrisponde alla quantità di enzima in grado di catalizzare 1,0 µmol di acido 4-idrossipurrico dal substrato di 4-idrossiippuril-L-istidil-L-leucina al minuto, alle condizioni specifiche dell'enzima.

Reagenti

Componenti e concentrazioni

R1:	4-idrossiippuril-L-istidil-L-leu	> 2 mmol/L
R2:	Tampone	> 50 mmol/L
	Perossidasi	> 15 kU/L
	Amminoantipirina (4-AA)	> 10 mmol/L
	Ippuricasi	> 20 kU/L

Conservazione e stabilità

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sul kit, se conservati a 2–8 °C e in assenza di contaminazione. Non congelare.

Dopo l'apertura, i reagenti dovrebbero essere caricati sull'analizzatore e utilizzati fino alla scadenza della stabilità a bordo. I reagenti rimanenti devono essere eliminati quando superano la stabilità a bordo indicata.

Avvertimenti e precauzioni

1. ⚠ Esclusivamente per uso professionale.
2. Il reagente 2 contiene azoturo di sodio (0,95 g/L) come conservante. Non ingerire! Evitare il contatto con la pelle e le mucose.
3. I reagenti contengono materiale di origine biologica. Maneggiare il prodotto come potenziale materiale infettivo, secondo le precauzioni universali e le buone pratiche di laboratorio.
4. Gli ACE-inibitori utilizzati per il trattamento dell'ipertensione arteriosa possono portare a risultati falsamente bassi nei campioni dei pazienti [10,11].
5. In casi molto rari, i campioni dei pazienti con gammopatia potrebbero generare risultati falsificati [12].
6. I campioni itterici, emolizzati o lipemici potrebbero interferire (Nota: vedere il paragrafo Caratteristiche prestazionali).
7. In caso di malfunzionamento del prodotto o di aspetto alterato, pregiudizievole per le prestazioni, contattare il produttore.
8. Qualsiasi incidente grave in cui sia coinvolto il prodotto dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato Membro nel quale si trovano l'utilizzatore e/o il paziente.
9. La sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione (SSP) è reperibile attraverso il sito web EUDAMED (European Database on Medical Devices) tramite il seguente collegamento: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
10. Consultare le schede dati di sicurezza (SDS) e adottare le precauzioni necessarie per l'uso dei reagenti di laboratorio. Ai fini diagnostici, i risultati devono essere sempre valutati alla luce dell'anamnesi del paziente, degli esami clinici e di altri riscontri.
11. Il reagente è validato dal produttore sull'analizzatore BioMajesty® JCA-BM6010/C. Per l'uso su altri sistemi è necessaria la validazione dell'utente.

Smaltimento dei rifiuti

Per lo smaltimento in condizioni di sicurezza, consultare i requisiti legali locali in materia di norme per lo smaltimento dei rifiuti chimici, come indicato nella SDS corrispondente.

Avvertimento: maneggiare i rifiuti come potenziale materiale a rischio biologico. Smaltire i rifiuti secondo le istruzioni e le procedure approvate dal laboratorio.

Preparazione del reagente

Il reagente è pronto per l'uso.

È stata definita una variazione da lotto a lotto del ± 25%.

Materiali necessari

Attrezzature generali di laboratorio

Soluzione NaCl 0,9% (p/v) disponibile in commercio, con pH compreso tra 4,5 e 7,0.

Campioni

Siero umano o plasma umano con eparina di litio

Non utilizzare EDTA come anticoagulante, in quanto inibisce l'attività ACE [13].

Per il prelievo e la preparazione dei campioni, utilizzare esclusivamente provette o contenitori per la raccolta idonei.

Quando si utilizzano le provette primarie, attenersi alle istruzioni del produttore.

Stabilità nel siero/plasma [14]:
1 giorno a 20–25 °C
7 giorni a 4–8 °C
1 anno a -20 °C

Congelare una sola volta. Scartare i campioni contaminati.

Attenzione/Nota: durante l'interpretazione dei risultati, è necessario tenere presente che gli ACE-inibitori riducono sensibilmente l'attività ACE in base alla dose somministrata.

Procedura di analisi

Impostazioni di base su BioMajesty® JCA-BM6010/C

Lunghezza d'onda	505/805 nm
Temperatura	37 °C
Misurazione	Punto finale
Campione/Calibratore	6,0 µL
Reagente 1	80 µL
Reagente 2	20 µL
Aggiunta reagente 2	Ciclo 19 (286 s)
Assorbanza	Ciclo 24/ 38 (354/546 s)
Calibrazione	Lineare

Calcolo

Con calibratore

$$\text{ACE [U/L]} = \frac{\Delta A \text{ Campione}}{\Delta A \text{ Cal.}} \times \text{Attività cal. [U/L]}$$

Fattore di conversione
ACE [U/L] × 0,0167 = ACE [µkat/L]

Calibratori e controlli

Per la calibrazione si consiglia di utilizzare DiaSys TruCal ACE. I valori del calibratore sono stati resi tracciabili al coefficiente di estinzione molare del metodo FAPGG di Beneteau B, Baudin B et al. [15]. Le incertezze specifiche del lotto sono disponibili su richiesta. Per il controllo di qualità interno, utilizzare DiaSys TruLab ACE Level 1 e Level 2. Tutti i valori target dei controlli sono tracciabili al sistema reagente/calibratore di DiaSys. Il controllo di qualità deve essere necessariamente eseguito dopo la calibrazione. Gli intervalli e i limiti dei controlli devono essere adattati ai requisiti specifici di ogni laboratorio. I risultati devono essere necessariamente compresi entro i range stabiliti. Seguire i requisiti legali e le linee guida pertinenti. Ogni laboratorio deve definire le azioni correttive in caso di deviazioni nel recupero del controllo.

	N° cat.	Dimensioni del kit
TruCal ACE	1 7600 99 10 046	3 × 1 mL
TruLab ACE Level 1	5 9300 99 10 046	3 × 1 mL
TruLab ACE Level 2	5 9310 99 10 046	3 × 1 mL

Caratteristiche prestazionali

Dati valutati su BioMajesty® JCA-BM6010/C

Intervallo di misura tra 5 U/L e 175 U/L. Linearità ≤ 5 U/L entro ± 30%; linearità > 5 U/L entro ± 10%. Quando i valori superano questo intervallo, diluire i campioni 1 + 1 con soluzione NaCl (9 g/L) e moltiplicare il risultato per 2.	
Limite di sensibilità**	5 U/L
Limite di quantificazione**	5 U/L
Stabilità a bordo	12 settimane
Stabilità della calibrazione	9 giorni

Interferenza di	**Interferenze ≤ 15% fino a**	**Concentrazione di analita [U/L]**
Acido ascorbico	50 mg/dL	38,0
	50 mg/dL	93,9
Bilirubina (coniugata)	30 mg/dL	32,4
	30 mg/dL	85,1
Bilirubina (non coniugata)	12,5 mg/dL	37,1
	12,5 mg/dL	97,7
Emoglobina	200 mg/dL	32,3
	200 mg/dL	86,1
Emolisi	600 mg/dL	33,0
	600 mg/dL	87,2
L-cisteina	35 mg/dL	34,9
	35 mg/dL	88,1
Lipemia (trigliceridi)	1000 mg/dL	33,2
	1000 mg/dL	91,2
Magnesio	30 mg/dL	35,3
	30 mg/dL	96,0
N-acetilcisteina (NAC)	500 mg/L	35,1
	500 mg/L	95,5
Acido urico	23,5 mg/dL	35,3
	23,5 mg/dL	88,5
Zinco	200 µg/dL	35,1
	200 µg/dL	96,2

Precisione			
Ripetibilità (n=80)	**Campione 1**	**Campione 2**	**Campione 3**
Media [U/L]	29,1	64,6	121
CV [%]	1,60	1,38	1,60
Nello stesso laboratorio (n=80)	**Campione 1**	**Campione 2**	**Campione 3**
Media [U/L]	29,1	64,6	121
CV [%]	3,58	2,87	2,77
Riproducibilità (n=75, n° di strumenti=3)	**Campione 1**	**Campione 2**	**Campione 3**
Media [U/L]	38,0	55,2	145
CV [%]	5,30	4,67	2,80

Confronto tra metodi (n=100)	
Test x	ACE concorrente (ARCHITECT)
Test y	DiaSys ACE FS (BioMajesty® JCA-BM6010/C)
Pendenza	0,845
Intercetta	8,84 U/L
Coefficiente di correlazione	0,970

Esattezza
Dal momento che non è disponibile né un materiale di riferimento, né un metodo di riferimento per la misurazione dell'attività ACE, l'esattezza è dimostrata attraverso un confronto tra metodi, eseguito con un metodo consolidato presente in commercio (vedere il paragrafo Confronto tra metodi).

** secondo il documento CLSI EP17-A2, vol. 32, n° 8

Intervallo di riferimento

In una popolazione sana, i valori ACE previsti sono tipicamente < 14,7 IU/L (95° percentile) [16].

In questo studio è stato fissato un valore di cutoff di 14,7 IU/L come sensibilità (78,1%) e specificità (81,7%) ottimali per la determinazione della sarcoidosi. Con una prevalenza della sarcoidosi del 14% nel genotipo DD, questo valore genera una PPV del 23% e una NPV del 98,2% [16].

Probabilità positiva LR+ = (Sensibilità/(1-Specificità)) ≥ 4,27

Probabilità negativa LR- = ((1-Sensibilità)/Specificità) ≤ 0,27

NOTA: l'attività ACE nel siero dipende strettamente dal genotipo del paziente.

Questo argomento è stato affrontato in uno studio condotto su 150 individui apparentemente sani (19–66 anni), nel quale sono stati studiati gli intervalli di riferimento per l'attività ACE dipendente dal genotipo. È stato definito un intervallo di riferimento generale di 13,3–63,9 U/L, mentre sono stati definiti intervalli corrispondenti per i diversi genotipi di 12,3–65,6 U/L (DD), 9,5–49,5 U/L (ID) e 9,6–28,7 U/L (II) [6]. A causa della relazione tra le frequenze dei genotipi ACE nelle diverse popolazioni e regioni geografiche, gli intervalli di riferimento forniti sono puramente indicativi.

Ogni laboratorio deve verificare se gli intervalli di riferimento possono essere trasferiti alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, stabilire i propri intervalli di riferimento.

Bibliografia

1. Lieberman J. Elevation of serum angiotension-converting-enzyme (ACE) level in sarcoidosis. Am J Med. 1975;59:356-372.
2. Ainslie GM, Benatar SR. Serum angiotensin converting enzyme in sarcoidosis: sensitivity and specificity in diagnosis: correlations with disease activity, duration, extra-thoracic involvement, radiographic type and therapy. Q J Med. 1985;55(218):253-270.
3. Shen XZ, Billet S, Lin C, et al. The carboxypeptidase ACE shapes the MHC class I peptide repertoire. Nat Immunol. 2011;11:1078-1085.
4. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. J. Clin. Invest. 1990;86,1343-1346.
5. Muller BR. Analysis of serum angiotensin-converting enzyme. Ann Clin Biochem. 2002;39:436-443.
6. Camós S, Jesús Cruz M, Morell F, et al. 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.
7. Saab YB, Gard PR, Overall ADJ. The geographic distribution of the ACE II genotype: a novel finding. Gen Res. 2007;89(4):259-267.
8. Stouten K, van de Werken M, Tchetverikov I, et al. Extreme elevation of serum angiotensin-converting enzyme (ACE) activity: always consider familial ACE hyperactivity. Ann Clin Biochem. 2014;51(2):289-293.
9. Kasahara Y, Ashihara Y. Colorimetry of angiotensin I converting enzyme activity in serum. Clin Chem. 1981;27(11): 1922-1925.
10. Young DS. Effects on Clinical Laboratory Tests - Drugs Disease, Herbs & Natural Products, https://clinfx.wiley.com/aaccweb/aacc/, accessed in July 2025. Published by AACC Press and John Wiley and Sons, Inc.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
12. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
13. Wysocki J, Ye M, Soler JM, et al. ACE and ACE2 Activity in Diabetic Mice. Diab. 2006;55(7):2132-2139.
14. Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. The Quality of Diagnostic Samples, Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin. 3rd ed; 2010. p. 34-35.
15. Beneteau B, Baudin B, Morgant G, et al. Automated kinetic assay of angiotensin-converting enzyme in serum. Clin Chem. 1986;32(5):884-886.
16. Kawai H, Naruse H, Sarai M, et al. Serum angiotensin-converting enzyme levels indicating early sarcoidosis diagnosis and immunosuppressive therapy efficacy. ESC Heart Fail. 2023;10(3):1803-1810.

Le aggiunte e/o le modifiche sono evidenziate in grigio nel documento. Per le cancellazioni, consultare le informazioni per i clienti e cercare il n° di edizione corrispondente del foglio illustrativo/delle istruzioni per l'uso.

IVD CE 0197

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germania
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Fluido stabile