

Instructions for use
Active Renin ELISA

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

1 INTRODUCTION

1.1 Intended Use

The **Renin ELISA** is an enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro diagnostic* measurement of active Renin in human serum and EDTA plasma.

Renin measurements are used in the diagnosis and treatment of certain types of hypertension.

1.2 Summary and Explanation

Renin is an enzyme (Mw of 37 kDa) that belongs to the aspartic acid protease family. Renin is a member of Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) that controls blood pressure, renal blood flux, glomerular filtration, and sodium/potassium homeostasis.

Renin is produced constitutively as prorenin, an inactive precursor with 386 amino acids, in the juxtaglomerular cells of the kidney (1). In response to low intra-renal blood pressure, reduced sodium reabsorption, hypokalemia or activity of the sympathetic nervous system, active renin can be released either from a depot in the kidney or generated from prorenin by cleavage of 46 amino acids at the N-terminus of prorenin (2,3). Prorenin secretion into the blood is continuous, in contrast to the tightly controlled release of renin, and blood concentration of prorenin is approx. 100-fold higher than active renin (4,5). After release and activation, soluble renin mediates cleavage of the α 2-globulin angiotensinogen into the precursor peptide angiotensin I, which ultimately is processed by angiotensin converting enzyme (ACE) to the octapeptide angiotensin II. All actions of angiotensin II are mediated by the G protein-coupled angiotensin type 1 (AT1) and angiotensin type 2 (AT2) receptors (6). Direct physiological effects of Angiotensin II include vasoconstriction, increase of tubular reabsorption of sodium and chloride, water retention, and release of the hormones aldosterone from adrenal cortex, antidiuretic hormone (ADH, Vasopressin) from posterior pituitary, and adrenocorticotrophic hormone (ACTH, Corticotropin) from anterior pituitary. Release of these hormones further supports sodium retention and secretion of potassium/H⁺ in the kidney, and increases thirst sensation and the desire for salt through the subfornical organ of the brain (7,8). In a negative feedback loop, renin secretion is reduced by high concentration of angiotensin II (9), and release of aldosterone is lowered by potassium depletion (10). Beside the action of soluble renin, binding of renin and prorenin to the membrane-bound renin receptor ATP6AP2 in brain, heart, placenta, liver, kidney and pancreas enhances efficiency of angiotensinogen cleavage and induces angiotensin-independent intracellular effects by activating mitogen activated kinases ERK1 and ERK2 (11).

Plasma renin is a good index for the activity of the RAAS. In case of dysfunction of the RAAS, the Renin assay will allow clinical implications for diagnosis, treatment, and follow up. Active renin should be measured in:

- Diagnosis of hypertension (high blood pressure: if diastolic blood pressure is > 90 mm Hg and systolic blood pressure is > 140 mm Hg; guideline of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension)
- Differential diagnosis of hyperaldosteronism (primary hyperaldosteronism, secondary hyperaldosteronism with or without hypertension, pseudo-hyperaldosteronism)
- Diagnosis of isolated deficit in mineral corticoids
- Differential diagnosis of hypokalemia (secondary hyperaldosteronism or primary hypermineralcorticism)
- Detection of Renin producing tumors in the kidney
- Monitoring of glucocorticoid therapy
- Diagnosis of insufficient response to antihypertensive treatment

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The Renin ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the **sandwich principle**.

The microtiter wells are coated with a monoclonal [mouse] antibody directed towards a unique antigenic site of the human active Renin molecule. An aliquot of patient sample containing endogenous Renin is incubated in the coated well together with Assay Buffer. After incubation, unbound components are washed off. Finally, Enzyme Conjugate, which is a monoclonal anti-Renin antibody conjugated with horseradish peroxidase, is added, and after incubation, unbound enzyme conjugate is washed off.

The amount of bound peroxidase is proportional to the concentration of Renin in the sample.

Having added the substrate solution, the intensity of color developed is proportional to the concentration of active Renin in the patient sample.

3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (21 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with Stop Solution containing 0.5 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND, and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from the manufacturer.

4. REAGENTS

4.1 Reagents provided

MS E-5331

 96

Microtiterwells

Content: 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;
Wells coated with anti-human Renin antibody (monoclonal).

Standards and Controls - lyophilized

Cat. no.	Component	Concentration	Volume/Vial
MS E-5301	STANDARD A	0 pg/ml	1 ml
MS E-5302	STANDARD B	4 pg/ml	1 ml
MS E-5303	STANDARD C	16 pg/ml	1 ml
MS E-5304	STANDARD D	32 pg/ml	1 ml
MS E-5305	STANDARD E	64 pg/ml	1 ml
MS E-5306	STANDARD F	128 pg/ml	1 ml
MS E-5351	CONTROL 1	For control values and ranges please refer to vial label or QC-Report!	1 ml
MS E-5352	CONTROL 2		1 ml

Conversion: 1 pg/ml = 1.44 μ U/ml

Content: Contain non-mercury preservative.

The standards are calibrated against WHO 1st International Standard for Renin 68/356
See "Reagent Preparation"

MS E-5313 ASSAY-BUFF **Assay Buffer** - Ready to use

Content: Contains non-mercury preservative.

Volume: 1 x 20 ml

MS E-5340 CONJUGATE **Enzyme Conjugate** - Ready to use

Content: anti-human Renin antibody (monoclonal); HRP conjugated.
Contains non-mercury preservative.

Volume: 1 x 14 ml

FR E-0055 SUBSTRATE **Substrate Solution** - Ready to use

Content: Tetramethylbenzidine (TMB).

Volume: 1 x 14 ml

FR E-0080 STOP-SOLN **Stop Solution** - Ready to use

Content: contains 0.5 M H₂SO₄
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin

Volume: 1 x 14 ml

Hazards identification:



H290 May be corrosive to metals.
H314 Causes severe skin burns and eye damage.

FR E-0030 WASH-CONC 40x **Wash Solution** - 40x concentrated

Volume: 1 x 30 ml

See "Preparation of Reagents"

Note: Additional Assay Buffer for sample dilution is available upon request.

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Absorbent paper
- Distilled or deionized water
- Timer
- Linear graph paper or software for data reduction
- Microplate shaker (300 - 700 rpm)

4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature prior to use.

Standards

Reconstitute the lyophilized contents of the standard vial with 1.0 ml distilled water and let stand for 10 minutes in minimum. Mix the standards several times before use.

Note: The reconstituted standards are stable for 14 days at 2 °C - 8 °C. For longer storage (up to 12 months) aliquot and freeze at -20 °C.

Controls

Reconstitute the lyophilized content with 1.0 ml distilled water and let stand for 10 minutes in minimum. Mix the controls several times before use.

Note: The reconstituted controls are stable for 14 days at 2 °C - 8 °C. For longer storage (up to 12 months) aliquot and freeze at -20 °C.

Wash Solution

Add deionized water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 ml of concentrated Wash Solution with 1170 ml deionized water to a final volume of 1200 ml.

The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet.

4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, the manufacturer has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

5. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or EDTA plasma can be used in this assay.

Do not use hemolytic, icteric or lipaemic specimens.

Please note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

Conditions under which samples are collected must be carefully controlled, since a number of physiological factors can influence the renin secretion. These include:

- **Posture:** the patient must have been lying down for more than 1 hour or upright for more than 1 hour
- **Daily Renin oscillations:** sampling is to be done between 7 AM and 10 AM if possible.
- **Diet:** sodium content in the diet must be known and eventually verified by the measurement of natriuria over a period of 24 hours
- **Medication:** the level of active renin can be affected by antihypertensive medication (e.g. diuretics, ACE inhibitors, beta adrenergic blocking agents, vasodilators, renin inhibitors)
- **Pregnancy:** the level of inactive and active renin increases during pregnancy
- **Menstrual cycle:** the level of active renin increases on the second phase of the cycle (sampling is to be done if possible during the first phase)
- **Age:** active renin level decreases with age

NOTE:

Samples from tumor patients may contain elevated levels of Renin.

5.1 Specimen Collection

Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma:

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti-coagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and stored at room temperature and NOT stored at 2 °C - 8 °C prior to processing, since cryoactivation of prorenin may occur in the temperature range of 2 °C - 8 °C, giving false positive active renin values (12,13).

If samples cannot be tested within 4 hours of primary collection, store frozen (up to 12 months) at -20 °C or below.

It is recommended to rapidly freeze and thaw processed samples avoiding the temperature range of 2 °C - 8 °C.

A dry ice/ethanol bath can be used for rapid freezing procedures.

5.3 Specimen Dilution

If in an initial assay, a specimen is found to contain more analyte than the highest standard, the specimen can be diluted with Assay Buffer and reassayed as described in the assay procedure. For calculation of concentrations this dilution factor has to be taken into account.

If a dilution is required, the specimen must be diluted at least 1:10 with Assay Buffer.

Example:

a) dilution 1:10: 20 µl sample + 180 µl Assay Buffer (mix thoroughly)

b) dilution 1:20: 10 µl sample + 190 µl Assay Buffer (mix thoroughly).

6. ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

1. All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
2. Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
3. Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
4. Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
5. As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.

6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

1.	Secure the desired number of Microtiter wells in the frame holder.
2.	Dispense 150 µl of Assay Buffer in all wells.
3.	Dispense 50 µl of each Standard, Control and samples with <u>new disposable tips</u> into appropriate wells.
4.	Incubate for 90 minutes at room temperature on a plate shaker with 300 - 700 rpm.
5.	Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 4 times with 300 µl diluted Wash Solution . Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets. Important note: The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
6.	Dispense 100 µl Enzyme Conjugate in all wells.
7.	Incubate for 90 minutes at room temperature on a plate shaker with 300 - 700 rpm.
8.	Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 4 times with 300 µl diluted Wash Solution . Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
9.	Add 100 µl of Substrate Solution to each well.
10.	Incubate for 15 minutes at room temperature.
11.	Stop the enzymatic reaction by adding 100 µl of Stop Solution to each well.
12.	Determine the absorbance (OD) of each well at 450 nm with a microtiter plate reader. It is recommended that the wells be read within 10 minutes after adding the <i>Stop Solution</i> .

6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Using linear graph paper, construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4 Parameter curve fit. (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted or reported as > 128 pg/ml. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

6.3.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and cannot be used in place of data generations at the time of assay.

Standard	Optical Units (450 nm)
Standard A 0 pg/ml	0.09
Standard B 4 pg/ml	0.19
Standard C 16 pg/ml	0.44
Standard D 32 pg/ml	0.78
Standard E 64 pg/ml	1.14
Standard F 128 pg/ml	2.48

7. EXPECTED NORMAL VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and abnormal values.

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using the Renin ELISA the following values are observed in EDTA plasma:

Healthy Adults	n	Mean (pg/ml)	Median (pg/ml)	2.5 th - 97.5 th Percentile (pg/ml)	Range (min - max) (pg/ml)
Supine position	59	16.23	12.40	2.14 - 53.83	2.13 - 58.78
Upright position	59	19.73	16.18	2.79 - 61.83	1.63 - 95.56

These values are also valid for serum.

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using Aldosterone ELISA and Renin ELISA the following Aldosterone-Renin Ratio were determined in EDTA plasma.

Ratio Aldosterone Renin (pg/ml / pg/ml)

Healthy Adults	n	Mean	Median	2.5 th - 97.5 th Percentile
	89	8.68	5.30	0.52 - 37.83

These values are also valid for serum.

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

8. QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each standard curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC Report added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or the manufacturer directly.

9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0.80 – 128 pg/ml.

9.2 Specificity of Antibodies (Cross-Reactivity)

The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

Mean cross reactivity with Prorenin was 0.71% (mean value when prorenin was spiked in a concentration range from 256 – 4096 pg/ml). However, the observed cross reactivity may only represent a contamination of the recombinant prorenin preparation with active renin due to auto-activation.

Cross-reactivity was not detectable against human serum albumin, human gamma globulin, human hepcidin, and pepsin.

9.3 Sensitivity

The analytical sensitivity of the ELISA was calculated by adding 2 standard deviations to the mean of 20 replicate analyses of the Standard A and was found to be 0.80 pg/ml.

The Limit of Blank (LoB) is 2.50 pg/ml.

The Limit of Detection (LoD) is 4.31 pg/ml.

The Limit of Quantification (LoQ) is 6.02 pg/ml.

9.4 Reproducibility

9.4.1 Intra Assay

The within assay variability is shown below:

Sample	1	2	3	4	5	6
Mean (pg/ml)	106.03	71.01	48.52	30.13	20.27	10.62
CV (%)	1.5	1.5	2.0	2.4	1.9	4.8
n =	40	40	40	40	40	40

9.4.2 Inter Assay

The between assay variability is shown below:

Sample	1	2	3	4	5	6
Mean (pg/ml)	106.03	71.01	48.52	30.13	20.27	10.62
CV (%)	2.5	2.1	2.8	3.6	4.1	6.9
n =	80	80	80	80	80	80

9.4.3 Inter Lot

The inter-assay (between-lots) variation was determined by measuring each sample 6 times with 3 different kit lots (n = 18):

Sample	1	2	3	4	5	6
Mean (pg/ml)	101.72	71.46	49.32	27.65	18.98	10.09
CV (%)	1.2	1.7	2.0	1.2	1.5	5.5
n =	18	18	18	18	18	18

9.5 Recovery

Samples have been spiked by adding Renin solutions with known concentrations. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of measured and expected values with 100.

	1	2	3	4	
Concentration (pg/ml)	8.93	15.97	55.27	100.61	
Average Recovery	100.2	96.0	108.4	99.0	
Range of Recovery (%)	from	95.5	86.8	106.2	97.3
	to	103.3	105.3	111.9	102.8

9.6 Linearity

Samples were measured undiluted and in serial dilutions. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of expected and measured values with 100.

	1	2	3	4	
Concentration (pg/ml)	45.16	53.20	67.35	126.0	
Average Recovery	101.7	102.8	110.0	98.5	
Range of Recovery (%)	from	96.7	95.6	105.0	94.9
	to	108.6	114.6	114.6	100.8

10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

10.1 Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/ml), Bilirubin (up to 0.5 mg/ml) and Triglyceride (up to 30 mg/ml) have no influence on the assay results.

10.2 Drug Interferences

The renin inhibitor aliskiren will increase active renin immunoreactivity in a dose-dependant manner, from 0.54 μ M (+ 121%) up to 540 μ M (+151%). In addition, the level of active renin in plasma may be affected by antihypertensive medication (e.g. diuretics, ACE inhibitors, beta adrenergic blocking agents, or vasodilators).

10.3 High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test up to 8,200 pg/mL of Renin.

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test. The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact the manufacturer.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability







Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point "Therapeutic Consequences" are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

12 REFERENCES / LITERATURE

1. Imai T, Miyazaki H, Hirose S, et al. Cloning and sequence analysis of cDNA for human renin precursor. Proc. Natl. Acad. Sci. (1983) 80, 7405-7409.
2. Reudelhuber TL, Ramla D, Chiu L, et al. Proteolytic processing of human prorenin in renal and non-renal tissues. Kidney Int. (1994) 46, 1522-1524.
3. Neves FA, Duncan KG, Baxter JD. Cathepsin B is a prorenin processing enzyme. Hypertension (1996) 27, 514-517.
4. Müller DN, Luft FC. Direct renin inhibition with aliskiren in hypertension and target organ damage. Clin J Am Soc Nephrol. (2006) 1, 221-8.
5. Toffelmire EB, Slater K, Corvol P, et al. Response of plasma prorenin and active renin to chronic and acute alterations of renin secretion in normal humans. Studies using a direct immunoradiometric assay. J Clin Invest. (1989) 83, 679-687.
6. Carey RM, Padia SH. Angiotensin AT2 receptors: control of renal sodium excretion and blood pressure. Trends Endocrinol Metab. (2008) 19, 84-7.
7. Koepfen BM, Stanton BA. Renal Physiology (4th ed.). Philadelphia, PA. Mosby Physiology Monograph Series, 2007.
8. Navar LG, Inscho EW, Majid DSA, et al. Paracrine regulation of the renal microcirculation. Physiol. Rev. (1996) 76, 425-536.
9. Müller MW, Todorov V, Krämer BK, Kurtz A. Angiotensin II inhibits renin gene transcription via the protein kinase C pathway. Pflugers Arch. (2002) 444, 499-505.
10. Spät A, Hunyady L. Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways. Physiol Rev. (2004) 84, 489-539.
11. Nguyen G., Delarue F., Burcklé C., et al. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. J Clin Invest. (2002) 109, 1417-1427.
12. Pitarresi TM., Rubattu S, Henrikson R, Sealey JE. Reversible cryoactivation of recombinant human prorenin. J. Biol. Chem. (1992) 267, 11753-9.
13. Nicari MJ. Specimen processing and renin activity in plasma. Clin. Chem. (1992) 38, 598.

Symbols:

	Storage temperature		Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Expiry date	LOT	Batch code	IVD	For in-vitro diagnostic use only!
	Consult instructions for use	CONT	Content	CE	CE labelled
	Caution	REF	Catalogue number		

1. EINLEITUNG

Der **Renin ELISA** wird zur quantitativen Bestimmung von aktivem Renin in humanem Serum oder EDTA-Plasma eingesetzt.

Die Bestimmung von aktivem Renin dient der Diagnose und Behandlung bestimmter Arten von Bluthochdruck.

Nur für In-vitro Diagnostik.

Das Enzym Renin (Molekulargewicht: 37 kDa) gehört zur Familie der Aspartylproteasen. Renin ist Teil des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems (RAAS), welches den Blutdruck, den renalen Blutfluss, die glomeruläre Filtrationsrate und die Natrium/Kalium-Homöostase kontrolliert.

Renin wird konstitutiv als Prorenin, ein Vorläuferprotein mit 386 Aminosäuren, in den juxtaglomerulären Zellen der Niere gebildet (1). Als Antwort auf erniedrigten intrarenalen Blutfluss, verminderte Natriumrückresorption, Hypokaliämie oder unter dem Einfluss des sympathischen Nervensystems wird aktives Renin sowohl aus Depots der Niere freigesetzt, als auch durch Abspaltung von 46 Aminosäuren vom N-Terminus von Prorenin erzeugt (2,3). Während die Sekretion von Prorenin kontinuierlich erfolgt, unterliegt die Freisetzung des aktiven Renins strengen Kontrollmechanismen. Deshalb ist die Plasmakonzentration von Prorenin ungefähr 100-fach höher als die des aktiven Renins (4,5). Nach Freisetzung bzw. Aktivierung bewirkt Renin die Abspaltung des Vorläuferpeptides Angiotensin I aus dem α_2 -Globulin Angiotensinogen. Angiotensin I wird schließlich durch das Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in das bioaktive Oktapeptid Angiotensin II umgewandelt. Angiotensin II entfaltet seine Wirkung durch Aktivierung der G-Protein gekoppelten Angiotensinrezeptoren des Typs 1 (AT₁) und des Typs 2 (AT₂) (6). Angiotensin II führt direkt zu Vasokonstriktion, zur Zunahme der tubulären Reabsorption von Natrium und Chlorid, zur Wasserretention und zur Freisetzung der Hormone Aldosteron aus der Nebennierenrinde, Antidiuretisches Hormon (ADH, Vasopressin) aus dem Hypophysenhinterlappen, sowie Adrenocorticotropes Hormon (ACTH, Adrenocorticotropin) aus dem Hypophysenvorderlappen. Die Freisetzung dieser Hormone verstärkt die Natriumretention, führt zur Ausscheidung von Kalium und H⁺ in der Niere, und induziert durch Stimulation des Subfornikalorgans im Gehirn sowohl das Durstgefühl als auch ein Verlangen nach Salz (7,8). In einer negativen Rückkopplung vermindern hohe Konzentrationen an Angiotensin II die Reninsekretion (9), während eine Kaliumdepletion die Freisetzung von Aldosteron unterdrückt (10). Die Effizienz der Angiotensinogenspaltung wird um ein Vielfaches gesteigert, wenn Renin als auch Prorenin an den membranständigen Reninrezeptor ATP6AP2 binden, der in Gehirn, Herz, Plazenta, Leber, Niere und Pankreas exprimiert wird. Zusätzlich kommt es dadurch zur Aktivierung der Mitogen-aktivierten Kinasen ERK 1 und ERK 2, wodurch weitere, Angiotensin-unabhängige intrazelluläre Signalkaskaden aktiviert werden (11).

Aktives Renin im Plasma ist somit ein guter Index für die Aktivität des RAAS. Bei Störungen des RAAS kann die Bestimmung der Konzentration des aktiven Renins die Diagnosestellung unterstützen und die nachfolgende Behandlung überwachen. Renin sollte gemessen werden zur:

- Diagnose von Hypertonie (Bluthochdruck: nach Definition der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie und der Europäischen Gesellschaft für Hypertonie gilt ein systolischer Blutdruck über 140 mmHg oder ein diastolischer Blutdruck über 90 mmHg als Hypertonie)
- Differentialdiagnose des Hyperaldosteronismus (Primärer Hyperaldosteronismus, sekundärer Hyperaldosteronismus mit oder ohne Hypertonie, Pseudo- Hyperaldosteronismus)
- Diagnose eines isolierten Defizits an Mineralkortikoiden
- Differentialdiagnose einer Hypokaliämie (Sekundärer Hyperaldosteronismus oder primärer Hypermineralkortikoidismus)
- Detektion von Renin-produzierenden Tumoren der Niere
- Überwachung einer Glukokorticoïdtherapie
- Diagnose bei ungenügendem Ansprechen auf Behandlung einer Hypertonie

2. TESTPRINZIP

Der Renin ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf der Sandwichtechnik basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des humanen Renin-Moleküls gerichtet ist.

Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und mit einem Assaypuffer inkubiert. Nicht gebundene Komponenten werden durch Waschen der Wells entfernt.

Danach wird das Enzymkonjugat in die Vertiefungen gegeben. Es handelt sich hierbei um einen monoklonalen anti-Renin-Antikörper, welcher an Meerrettichperoxidase gebunden ist. Nicht gebundenes Enzymkonjugat wird durch Waschen der Wells entfernt.

Anschließend wird die Substratlösung zugegeben, und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist proportional zur Renin-Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät gemessen.

3. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der Stop Solution sollte vermieden werden, da sie 0.5 M H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von beim Hersteller erhältlich.









4. BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

MS E-5331  96 **Microtiterwells**

Inhalt: 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar); Mit anti-Renin Antikörper (monoklonal) beschichtet

Standards und **Controls** - lyophilisiert.

Art.-Nr.	Komponente	Konzentration	Volumen/Vial
MS E-5301	 STANDARD A	0 pg/ml	1 ml
MS E-5302	 STANDARD B	4 pg/ml	1 ml
MS E-5303	 STANDARD C	16 pg/ml	1 ml
MS E-5304	 STANDARD D	32 pg/ml	1 ml
MS E-5305	 STANDARD E	64 pg/ml	1 ml
MS E-5306	 STANDARD F	128 pg/ml	1 ml
MS E-5351	 CONTROL 1	Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Flaschenetikett oder dem QC-Report	1 ml
MS E-5352	 CONTROL 2		1 ml

Umrechnung: 1 pg/ml = 1,44 µU/ml

Inhalt: Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel

Die Standards sind kalibriert gegen den 1. Internationalen WHO-Standard für Renin 68/356 Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

MS E-5313  **Assay Buffer** (Assaypuffer) - gebrauchsfertig

Inhalt: Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Volumen: 1 x 20 ml

MS E-5340 **CONJUGATE** **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat) - gebrauchsfertig

Inhalt: Anti-Renin Antikörper (monoklonal), mit Meerrettichperoxidase konjugiert, Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel

Volumen: 1 x 14 ml

FR E-0055 **SUBSTRATE** **Substrate Solution** (Substratlösung) - gebrauchsfertig

Inhalt: Substratlösung TMB

Volumen: 1 x 14 ml

FR E-0080 **STOP-SOLN** **Stop Solution** (Stopplösung) - gebrauchsfertig

Inhalt: enthält 0,5 M H₂SO₄
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden. Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen!

Volumen: 1 x 14 ml

Mögliche Gefahren:



H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.
H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

FR E-0030 **WASH-CONC 40x** **Wash Solution** (Waschlösung) - 40x konzentriert

Volumen: 1 x 30 ml

Siehe "Vorbereitung der Reagenzien"

Anmerkung: Zusätzlicher *Assay Buffer* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 nm Filter
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung
- Mikrotiterplatten-Schüttler (300 - 700 Upm)

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

Standards

Rekonstituieren Sie den lyophilisierten Inhalt der Standardfläschchen mit 1,0 ml destilliertem Wasser.

Achtung: Bei 2 °C bis 8 °C sind die rekonstituierten Standards 14 Tage haltbar.

Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 12 Monate) portionieren und bei -20 °C einfrieren.

Control

Rekonstituieren Sie den lyophilisierten Inhalt der Fläschchen mit 1,0 ml destilliertem Wasser und lassen Sie die Fläschchen mindestens 10 Minuten ruhen. Vor Gebrauch die Kontrolle mehrmals vorsichtig schütteln.

Achtung: Bei 2 °C bis 8 °C sind die rekonstituierten Kontrollen 14 Tage haltbar.

Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 12 Monate) portionieren und bei -20 °C einfrieren.

Wash Solution

Die 40-fach konzentrierte Wash Solution (30 ml) mit 1170 ml destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 ml verdünnen.

Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 2 Wochen stabil.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Materialsicherheitsdatenblatt, Kapitel 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss der Hersteller in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5. PROBENVORBEREITUNG

Serum oder EDTA-Plasma kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

Lipämische, ikterische und/oder stark hämolysierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Die Entnahme der Proben muss unter definierten Bedingungen stattfinden, da die Reninkonzentration unter anderem durch folgende Faktoren beeinflusst wird:

- Lage des Patienten: der Patient sollte mehr als eine Stunde entweder in liegender oder stehender Position verbracht haben
- Tageszeitliche Schwankungen der Reninkonzentration: die Probenentnahme sollte wenn möglich immer in der Zeit von 7:00-10:00 Uhr vormittags stattfinden.
- Ernährung: der Natriumgehalt der Nahrung sollte bekannt sein und gegebenenfalls durch die Bestimmung einer Natriurie über einen zeitlichen Verlauf von 24 Stunden bestimmt werden
- Medikamentierung: die Reninwerte können durch Gabe von Antihypertonika beeinflusst werden (z.B. Diuretika, ACE Inhibitoren, Beta-Blocker oder Vasodilatoren, Renin-Inhibitoren)
- Schwangerschaft: die Konzentration an aktivem und inaktivem Renin steigt im Verlauf der Schwangerschaft an
- Menstruationszyklus: die Reninwerte steigen im Verlauf der 2. Phase des Zyklus an; die Probenentnahme sollte deshalb wenn möglich in der 1. Phase des Zyklus erfolgen
- Alter: die Reninwerte nehmen mit zunehmendem Alter ab.

WICHTIG: Proben von Tumorpatienten können erhöhte Reninwerte aufweisen.

5.1 Probenentnahme

Serum:

Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma:

Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein.

Die Lagerung der Proben muss bei Raumtemperatur erfolgen. Eine Lagerung bei 2 °C - 8 °C ist unbedingt zu vermeiden, da dies zur Kryoaktivierung von Prorenin und in der Folge zu falsch positiven Werten führen kann (12,13).

Falls die Proben nicht innerhalb von 4 Stunden nach Entnahme getestet werden können, sollten sie bei ≤ -20 °C gelagert werden (bis zu 12 Monate).

Das Einfrieren und Auftauen sollte dabei möglichst schnell erfolgen, um den Temperaturbereich von 2 °C - 8 °C möglichst schnell zu überbrücken.

Ein Gemisch aus Trockeneis und Methanol kann für das beschleunigte Einfrieren der Proben verwendet werden.

5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit Assay Buffer weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Wenn eine Verdünnung erforderlich ist, muss die Probe mindestens 1:10 mit Assay Buffer verdünnt werden.

Beispiel:

- a) Verdünnung 1:10: 20 µl Probe + 180 µl *Assay Buffer* (gründlich mischen)
- b) Verdünnung 1:20: 10 µl Probe + 190 µl *Assay Buffer* (gründlich mischen)

6. TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1.	Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2.	150 µl Assay Buffer in jedes Well geben.
3.	Je 50 µl Standards, Controls und Proben <u>mit neuen Plastikspitzen</u> in die entsprechenden Wells geben.
4.	90 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Schüttler mit 300 - 700 U/min inkubieren.
5.	Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 4-mal mit verdünnter Wash Solution (300 µl) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen. Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschruttes!
6.	100 µl Enzyme Conjugate in jedes Well geben.
7.	90 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Schüttler mit 300 - 700 U/min inkubieren.
8.	Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 4-mal mit verdünnter Wash Solution (300 µl) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
9.	100 µl Substrate Solution in jedes Well geben.
10.	15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
11.	Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stop Solution in jedes Well abstoppen.
12.	Die Optische Dichte bei 450 ± 10 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 10 Minuten nach Zugabe der <i>Stop Solution</i> bestimmen.

6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter-Gleichung bestimmt. (4 Parameter Rodbard oder 4 Parameter Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
Standard A 0 pg/ml	0,09
Standard B 4 pg/ml	0,19
Standard C 16 pg/ml	0,44
Standard D 32 pg/ml	0,78
Standard E 64 pg/ml	1,14
Standard F 128 pg/ml	2,48

7. ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt.

In einer Studie wurden die Proben von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem Renin ELISA folgende Werte in Plasma:

gesunde Probanden	n	Mittelwert (pg/ml)	Median (pg/ml)	2,5. - 97,5. Perzentil (pg/ml)	Bereich (min - max) (pg/ml)
Liegende Position	59	16,23	12,40	2,14 - 53,83	2,13 - 58,78
aufrechte Position	59	19,73	16,18	2,79 - 61,83	1,63 - 95,56

Diese Werte gelten auch für Serum

In einer Studie wurden die Proben von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem Aldosterone ELISA und dem Renin ELISA folgende Aldosteron-Renin-Quotienten in EDTA-Plasma: Aldosteron-Renin-Quotienten (pg/ml/pg/ml)

gesunde Erwachsene	n	Mittelwert	Median	2,5. - 97,5. Perzentil
	89	8,68	5,30	0,52 - 37,83

Diese Werte gelten auch für Serum.

8. QUALITÄTS-KONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Report, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontrollwerten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit dem Hersteller in Verbindung.

9. ASSAY CHARAKTERISTIKA

9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 0,80 – 128 pg/ml.

9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

9.3 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert plus der zweifachen Standardabweichung des Standards A (n = 20), beträgt 0,80 pg/ml.

Der „Limit of Blank“ (LoB) ist 2,50 pg/ml.

Die Nachweisgrenze (LoD) ist 4,31 pg/ml.

Die Quantifizierungsgrenze (LoQ) ist 6,02 pg/ml.

Die Daten zu:

9.4 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.5 Wiederfindung

9.6 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

10. GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Anweisungen in der Gebrauchsanleitung und unter Befolgung der GLP (Good Laboratory Practice)-Richtlinien durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Interferenzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/ml), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/ml) und Triglyceride (bis zu 30 mg/ml) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Der Renin-Hemmer Aliskiren erhöht die Immunreaktivität des aktiven Renins in konzentrationsabhängiger Weise von 0,54 µM (+ 121%) bis zu 540 µM (+151%).

Die Reninwerte in humanem Plasma können durch Gabe von Antihypertonika beeinflusst werden (z.B. Diuretika, ACE Inhibitoren, Beta-Blocker oder Vasodilatoren).

10.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook Effekt tritt bei Proben mit bis zu 8.200 pg/ml Renin nicht auf.

11. RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1, genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.












Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2, erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

12. REFERENZEN / LITERATUR

Angaben zu den Referenzen entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Teste
	Verwendbar bis		Chargennummer		In vitro Diagnostikum
	Vor Gebrauch Packungsbeilage lesen		Inhalt		CE gekennzeichnet
	Achtung		Katalog-Nummer		