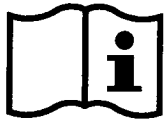


Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



3-CAT ELISA



DEE6600



3 x 96



Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

Table of contents

1.	Introduction	4
1.1	Intended use and principle of the test	4
1.2	Clinical application	4
2.	Procedural cautions, guidelines, warnings and limitations	4
2.1	Procedural cautions, guidelines and warnings	4
2.2	Limitations	5
2.2.1	Interfering substances and proper handling of specimens	5
2.2.2	Drug and food interferences	5
2.2.3	High-Dose-Hook effect	5
3.	Storage and stability	5
4.	Materials	6
4.1	Contents of the kit	6
4.2	Calibration and Controls	8
4.3	Additional materials required but not provided in the kit	8
4.4	Additional equipment required but not provided in the kit	8
5.	Sample collection, handling and storage	8
6.	Test procedure	8
6.1	Preparation of reagents and further notes	9
6.2	Sample preparation, extraction and acylation	9
6.3	Adrenaline ELISA	10
6.4	Noradrenaline ELISA	10
6.5	Dopamine ELISA	11
7.	Calculation of results	11
7.1	Expected reference value	12
7.2	Typical standard curve	12
8.	Control samples	12
9.	Assay characteristics	12
9.1	Performance data	12
10.	References/Literature	14
11.	Changes	14
	 SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	 14

1.	Einleitung	15
1.1	Verwendungszweck und Testprinzip	15
1.2	Klinische Anwendung	15
2.	Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen	15
2.1	Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen	15
2.2	Grenzen des Tests	16
2.2.1	Interferenzen und sachgemäßer Umgang mit Proben	16
2.2.2	Beeinflussung durch Medikamente und Nahrungsmittel	17
2.2.3	High-Dose-Hook Effekt	17
3.	Lagerung und Haltbarkeit	17
4.	Materialien	17
4.1	Reagenzien im Kit	17
4.2	Kalibratoren und Kontrollen	19
4.3	Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Materialien	19
4.4	Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Geräte	19
5.	Probensammlung, -behandlung und -lagerung	19
6.	Testdurchführung	20
6.1	Vorbereitung der Reagenzien und weitere Hinweise	20
6.2	Probenvorbereitung, Extraktion und Azylierung	20
6.3	Adrenaline ELISA	21
6.4	Noradrenaline ELISA	21
6.5	Dopamine ELISA	22
7.	Berechnung der Ergebnisse	22
7.1	Erwartete Referenzbereiche	23
7.2	Typische Standardkurve	23
8.	Kontrollproben	23
9.	Assaycharakteristika	23
9.1	Leistungsdaten	23
10.	Referenzen/Literatur	25
11.	Änderungen	25
	 SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	 25

Related Products:

- Adrenaline ELISA
- Noradrenaline ELISA
- Dopamine ELISA
- 2-CAT ELISA

1. Introduction**1.1 Intended use and principle of the test**

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of adrenaline (epinephrine), noradrenaline (norepinephrine) and dopamine in plasma and urine.

Adrenaline (epinephrine), noradrenaline (norepinephrine) and dopamine are extracted by using a cis-diol-specific affinity gel, acylated and then converted enzymatically.

The subsequent competitive ELISA uses the microtiter plate format. The antigen is bound to the solid phase of the microtiter plate. The acylated standards, controls and samples compete with the solid phase bound analytes for a fixed number of antibody binding sites. After the system is in equilibrium, free antigen and free antigen-antibody complexes are removed by washing. The antibody bound to the solid phase is detected by an anti-rabbit IgG-peroxidase conjugate using TMB as a substrate resulting in a colour reaction. The reaction is monitored at a wavelength of 450 nm.

Quantification of unknown samples is achieved by comparing their absorbance with a reference curve prepared with known standard concentrations. Manual processing of the ELISA is recommended. The use of automatic laboratory equipment is the responsibility of the user. This in-vitro diagnostic is for professional use only.

1.2 Clinical application

In humans the catecholamines adrenaline (epinephrine), noradrenaline (norepinephrine) and dopamine are neurotransmitters of the sympathetic nervous system and are involved in many physiological processes. The sympathetic nervous system sets the body to a heightened state of alert, also called as the body's fight-or-flight response.

In the human body the catecholamines and their metabolites indicate the adaptation of the body to acute and chronic stress.

Next to the metanephrine/normetanephrine the catecholamines are important for the diagnosis and the follow-up of tumors of the sympathoadrenal system like the pheochromocytoma. The quantitative determination of catecholamines in urine is preferred for the diagnosis of these tumors, whereas the determination of catecholamines in plasma is medically sensible for the localization of the tumor and for function testing. Values above the cut-off can provide an indication for neuroendocrine tumors.

However, in literature various diseases like hypertension, cardiovascular diseases, schizophrenia and manic depression are described with abnormal low or high levels of catecholamines.

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone, even if these results are assessed in accordance with the quality criteria of the method. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of the patient.

Only in cases where the laboratory results are in an acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient, it can be used for therapeutic consequences.

2. Procedural cautions, guidelines, warnings and limitations**2.1 Procedural cautions, guidelines and warnings**

- (1) This kit is intended for professional use only. Users should have a thorough understanding of this protocol for the successful use of this kit. Only the test instruction provided with the kit is valid and must be used to run the assay. Reliable performance will only be attained by strict and careful adherence to the instructions provided.
- (2) This assay was validated for a certain type of sample as indicated in Intended Use (please refer to Chapter 1). Any off-label use of this kit is in the responsibility of the user and the manufacturer cannot be held liable.
- (3) The principles of Good Laboratory Practice (GLP) must be followed.
- (4) In order to reduce exposure to potentially harmful substances, wear lab coats, disposable protective gloves and protective glasses where necessary.
- (5) If serious incidents should occur in connection with this product, they should be reported to the manufacturer and the competent national authorities.
- (6) All kit reagents and specimens should be brought to room temperature and mixed gently but thoroughly before use. For dilution or reconstitution purposes, use deionized, distilled, or ultra-pure water. Avoid repeated freezing and thawing of reagents and specimens.
- (7) The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 – 8 °C in the sealed foil pouch with desiccant and used in the frame provided. Microtiter strips which are removed from the frame for usage should be marked accordingly to avoid any mix-up.

- (8) Duplicate determination of sample is highly recommended.
- (9) Once the test has been started, all steps should be completed without interruption. Make sure that the required reagents, materials, and devices are prepared for use at the appropriate time.
- (10) Incubation times do influence the results. All wells should be handled in the same order and time intervals.
- (11) To avoid cross-contamination of reagents, use new disposable pipette tips for dispensing each reagent, sample, standard and control.
- (12) A standard curve must be established for each run.
- (13) The controls should be included in each run and fall within established confidence limits. The confidence limits are listed in the QC-Report provided with the kit.
- (14) Do not mix kit components with different lot numbers within a test and do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- (15) Avoid contact with Stop Solution containing 0.25 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns. In case of contact with eyes or skin, rinse off immediately with water.
- (16) 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. Rinse contaminated items before reuse.
- (17) For information about hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheet (SDS). The Safety Data Sheet for this product is made available directly on the website of the manufacturer or upon request.
- (18) Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed of according to national regulations.
- (19) The expected reference values reported in this test instruction are only indicative. It is recommended that each laboratory establishes its own reference intervals.
- (20) 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 must not be used for a test run. They must be stored properly until the manufacturer decides what to do with them. If it is decided that they are no longer suitable for measurements, they must be disposed of in accordance with national regulations.
- (21) The results obtained with this test kit should not be taken as the sole reason for any therapeutic consequence but must be correlated to other diagnostic tests and clinical observations.

2.2 Limitations

Any inappropriate handling of samples or modification of this test might influence the results.

2.2.1 Interfering substances and proper handling of specimens

Plasma

Samples containing precipitates or fibrin strands or which are hemolytic or lipemic might cause inaccurate results. Hemolytic samples (up to 4 mg/ml hemoglobin), icteric samples (up to 50 mg/dl bilirubin) and lipemic samples (up to 800 mg/dl triglycerides) have no influence on the assay results. If the concentrations cannot be estimated and there are doubts as to whether the above limit values for hemolytic, icteric or lipemic samples are complied with, the samples should not be used in the assay.

24-hour urine

Please note the sample collection! If the percentage of the final concentration of acid is too high, this will lead to incorrect results for the urine samples.

2.2.2 Drug and food interferences

There are no known substances (drugs) which ingestion interferes with the measurement of catecholamine level in the sample.

2.2.3 High-Dose-Hook effect


No hook effect was observed in this test.

3. Storage and stability

Store kit and reagents at 2 – 8 °C until expiration date. Do not use kit and components beyond the expiry date indicated on the kit labels. Once opened, the reagents are stable for 2 months when stored at 2 – 8 °C. Once the resealable pouch of the ELISA plate has been opened, care should be taken to close it tightly again including the desiccant.

4. Materials**4.1 Contents of the kit**

BA D-0090	FOILS	Adhesive Foil – ready to use
Content:	Adhesive foils in a resealable pouch	
Number:	3 x 4 foils	
BA E-0030	WASH-CONC 50x	Wash Buffer Concentrate – concentrated 50x
Content:	Buffer with a non-ionic detergent and physiological pH	
Volume:	3 x 20 ml/vial, purple cap	
BA E-0040	CONJUGATE	Enzyme Conjugate – ready to use
Content:	Goat anti-rabbit immunoglobulins conjugated with peroxidase	
Volume:	3 x 12 ml/vial, red cap	
Description:	Species is goat	
BA E-0055	SUBSTRATE	Substrate – ready to use
Content:	Chromogenic substrate containing 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, substrate buffer and hydrogen peroxide	
Volume:	3 x 12 ml/vial, black cap	
BA E-0080	STOP-SOLN	Stop Solution – ready to use
Content:	0.25 M sulfuric acid	
Volume:	3 x 12 ml/vial, grey cap	
BA E-0131	W ADR MN	Adrenaline Microtiter Strips – ready to use
Content:	1 x 96 wells (12x8) antigen precoated microwell plate in a resealable blue pouch with desiccant	
BA E-0231	W NAD NMN	Noradrenaline Microtiter Strips – ready to use
Content:	1 x 96 wells (12x8) antigen precoated microwell plate in a resealable yellow pouch with desiccant	
BA E-0331	W DOP	Dopamine Microtiter Strips – ready to use
Content:	1 x 96 wells (12x8) antigen precoated microwell plate in a resealable green pouch with desiccant	
BA E-6110	ADR-AS	Adrenaline Antiserum – ready to use
Content:	Rabbit anti-adrenaline antibody in buffer with proteins and non-mercury preservative, blue coloured	
Volume:	1 x 6 ml/vial, blue cap	
Description:	Species of antibody is rabbit, species of protein in buffer is bovine	
BA E-6210	NAD-AS	Noradrenaline Antiserum – ready to use
Content:	Rabbit anti-noradrenaline antibody in buffer with proteins and non-mercury preservative, yellow coloured	
Volume:	1 x 6 ml/vial, yellow cap	
Description:	Species of antibody is rabbit, species of protein in buffer is bovine	
BA E-6310	DOP-AS	Dopamine Antiserum – ready to use
Content:	Rabbit anti-dopamine antibody in buffer with proteins and non-mercury preservative, green coloured	
Volume:	1 x 6 ml/vial, green cap	
Description:	Species of antibody is rabbit, species of protein in buffer is bovine	
BA E-6612	ACYL-REAG	Acylation Reagent – ready to use
Content:	Acylation reagent in DMSO	
Volume:	1 x 3 ml/vial, white cap	

BA R-0050	ADJUST-BUFF	Adjustment Buffer – ready to use
Content:	TRIS buffer	
Volume:	2 x 4 ml/vial, green cap	
BA R-6611	ACYL-BUFF	Acylation Buffer – ready to use
Content:	Buffer with light alkaline pH for the acylation	
Volume:	1 x 20 ml/vial, white cap	
BA R-6613	ASSAY-BUFF	Assay Buffer – ready to use
Content:	1 M hydrochloric acid and a non-mercury preservative	
Volume:	1 x 6 ml/vial, grey cap	
Hazard pictograms:		
	GHS05	
Signal word:	Danger	
Hazard statements:	H314 Causes severe skin burns and eye damage.	
Precautionary statements:	P280 Wear protective gloves, protective clothing, eye protection. P303+P361+P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water. P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P310 Immediately call a doctor, a POISON CENTER. P501 Dispose of contents/container to an authorised waste collection point.	
BA R-6614	COENZYME	Coenzyme – ready to use
Content:	S-adenosyl-L-methionine	
Volume:	1 x 4 ml/vial, purple cap	
BA R-6615	ENZYME	Enzyme – lyophilized
Content:	Catechol-O-methyltransferase	
Volume:	6 vials, pink cap	
Description:	Catechol-O-methyltransferase from pig liver	
BA R-6617	EXTRACT-BUFF	Extraction Buffer – ready to use
Content:	Buffer containing carbonate	
Volume:	1 x 6 ml/vial, brown cap	
BA R-6618	EXTRACT-PLATE	Extraction Plate – ready to use
	48	
Content:	2 x 48 well plates coated with boronate affinity gel in a resealable pouch	
BA R-6619	HCL	Hydrochloric Acid – ready to use
Content:	0.025 M Hydrochloric Acid, yellow coloured	
Volume:	1 x 20 ml/vial, green cap	

4.2 Calibration and Controls

Standards and Controls – ready to use

Cat. no.	Component	Colour/ Cap	Concentration [ng/ml]			Concentration [nmol/l]			Volume/ Vial
			ADR	NAD	DOP	ADR	NAD	DOP	
BA E-6601	STANDARD A	white	0	0	0	0	0	0	4 ml
BA E-6602	STANDARD B	yellow	1	5	10	5.5	30	65	4 ml
BA E-6603	STANDARD C	orange	4	20	40	22	118	261	4 ml
BA E-6604	STANDARD D	blue	15	75	150	82	443	980	4 ml
BA E-6605	STANDARD E	grey	50	250	500	273	1,478	3,265	4 ml
BA E-6606	STANDARD F	black	200	1,000	2,000	1,092	5,910	13,060	4 ml
BA E-6609	STANDARD A/B	purple	–	–	4.5	–	–	29	4 ml
BA E-6651	CONTROL 1	green	Refer to QC-Report for expected value and acceptable range.						4 ml
BA E-6652	CONTROL 2	red							4 ml

Conversion:
 adrenaline [ng/ml] x 5.46 = adrenaline [nmol/l]
 noradrenaline [ng/ml] x 5.91 = noradrenaline [nmol/l]
 dopamine [ng/ml] x 6.53 = dopamine [nmol/l]

Content: Acidic buffer with non-mercury stabilizer, spiked with defined quantity of adrenaline, noradrenaline and dopamine

⚠ **for the determination of dopamine in plasma the additional **Standard A/B** is mandatory!*

4.3 Additional materials required but not provided in the kit

- Water (deionized, distilled, or ultra-pure)
- Absorbent material (paper towel)

4.4 Additional equipment required but not provided in the kit

- Calibrated precision pipettes to dispense volumes between 10 – 700 µl; 1 ml
- Microtiter plate washing device (manual, semi-automated or automated)
- ELISA reader capable of reading absorbance at 450 nm and if possible 620 – 650 nm
- Microtiter plate shaker (shaking amplitude 3 mm; approx. 600 rpm)
- Vortex mixer

5. Sample collection, handling and storage

Plasma

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing EDTA as anti-coagulant and centrifuged according to manufacturer's instructions immediately after collection.

In case of hemolytic, icteric or lipemic samples see 2.2.1.

Storage: up to 6 hours at 2 – 8 °C, for longer period (up to 6 months) at -20 °C.

Repeated freezing and thawing should be avoided.

Urine

Spontaneous urine or 24-hour urine, collected in a bottle containing 10 – 15 ml of 6 M HCl, can be used. If 24-hour urine is used please record the total volume of the collected urine.

Storage: up to 48 hours at 2 – 8 °C, up to 24 hours at room temperature, for longer periods (up to 6 months) at -20 °C. Repeated freezing and thawing should be avoided.

Avoid exposure to direct sunlight.

6. Test procedure

Allow all reagents and samples to reach room temperature and mix thoroughly by gentle inversion before use. Number the Extraction Plate and microwell plates (Microtiter Strips which are removed from the frame for usage should be marked accordingly to avoid any mix-up). Duplicate determinations are recommended.

The binding of the antisera and of the enzyme conjugate and the activity of the enzyme are temperature dependent. The higher the temperature, the higher the absorption values will be. Varying incubation times will have similar influences on the absorbance. The optimal temperature during the enzyme immunoassay is between 20 – 25 °C.

⚠ *The use of a microtiter plate shaker with the following specifications is mandatory: shaking amplitude 3 mm; approx. 600 rpm. Shaking with differing settings might influence the results.*

6.1 Preparation of reagents and further notes

Wash Buffer

Dilute the 20 ml Wash Buffer Concentrate **WASH-CONC 50X** with water to a final volume of 1000 ml. Storage: 2 months at 2 – 8 °C

Enzyme Solution

Reconstitute the content of the vial **ENZYME** with 1 ml water (deionized, distilled, or ultra-pure) and mix thoroughly. Add 0.3 ml of **COENZYME** followed by 0.7 ml of **ADJUST-BUFF**. The total volume of the Enzyme Solution is 2.0 ml.

⚠ *The Enzyme Solution has to be prepared freshly prior to the assay (not longer than 10 – 15 minutes in advance). Discard after use!*

Adrenaline Microtiter Strips, Noradrenaline Microtiter Strips and Dopamine Microtiter Strips

In rare cases residues of the blocking and stabilizing reagent can be seen in the wells as small, white dots or lines. These residues do not influence the quality of the product.

Acylation Reagent

The **ACYL-REAG** (BA E-6612) has a freezing point of 18.5 °C. To ensure that it is liquid when being used, it must be ensured that the Acylation Reagent has reached room temperature and forms a homogeneous, crystal-free solution before being used.

6.2 Sample preparation, extraction and acylation

⚠ **for the determination of dopamine in plasma the additional **Standard A/B** is mandatory!*

1.	Pipette 10 µl of standards, controls, urine samples and 300 µl of plasma samples into the respective wells of the EXTRACT-PLATE 48 .								
2.	Add 250 µl of water (deionized, distilled, or ultra-pure) to the wells with standards, controls and urine samples .								
3.	Pipette 50 µl of ASSAY-BUFF into all wells.								
4.	Pipette 50 µl of EXTRACT-BUFF into all wells.								
5.	Cover plate with FOILS and incubate 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).								
6.	Remove the foil. Empty plate and blot dry by tapping the inverted plate on absorbent material.								
7.	Pipette 1 ml of Wash Buffer into all wells. Incubate the plate for 5 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). Empty plate and blot dry by tapping the inverted plate on absorbent material.								
8.	Pipette another 1 ml of Wash Buffer into all wells. Incubate the plate for 5 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). Empty plate and blot dry by tapping the inverted plate on absorbent material.								
9.	Pipette 150 µl of ACYL-BUFF into all wells.								
10.	Pipette 25 µl of ACYL-REAG into all wells.								
11.	Incubate 15 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).								
12.	Empty plate and blot dry by tapping the inverted plate on absorbent material.								
13.	Pipette 1 ml of Wash Buffer into all wells. Incubate the plate for 10 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). Empty plate and blot dry by tapping the inverted plate on absorbent material.								
14.	Pipette 175 µl of HCL into all wells.								
15.	Cover plate with FOILS . Incubate 10 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). Remove the foil and discard.								
⚠	<i>Do not decant the supernatant thereafter!</i>								
	The following volumes of the supernatant are needed for the subsequent ELISA:								
	<table border="1"> <tr> <td>Adrenaline</td> <td>100 µl</td> <td>Noradrenaline</td> <td>20 µl</td> </tr> <tr> <td>Dopamine (standards + urine)</td> <td>25 µl</td> <td>Dopamine (plasma)</td> <td>50 µl</td> </tr> </table>	Adrenaline	100 µl	Noradrenaline	20 µl	Dopamine (standards + urine)	25 µl	Dopamine (plasma)	50 µl
Adrenaline	100 µl	Noradrenaline	20 µl						
Dopamine (standards + urine)	25 µl	Dopamine (plasma)	50 µl						

6.3 Adrenaline ELISA

1. Pipette 25 µl of the Enzyme Solution (refer to 6.1) into all wells of the Adrenaline Microtiter Strips ADR MN .
2. Pipette 100 µl of the extracted standards, controls and samples into the appropriate wells.
3. Incubate for 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
4. Pipette 50 µl of the ADR-AS into all wells and cover plate with FOILS .
5. Incubate for 2 h at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
6. Remove the foil. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate 3 x by adding 300 µl of Wash Buffer , discarding the content and blotting dry each time by tapping the inverted plate on absorbent material.
7. Pipette 100 µl of the CONJUGATE into all wells.
8. Incubate for 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
9. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate 3 x by adding 300 µl of Wash Buffer , discarding the content and blotting dry each time by tapping the inverted plate on absorbent material.
10. Pipette 100 µl of the SUBSTRATE into all wells and incubate for 25 ± 5 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). ⚠ Avoid exposure to direct sunlight!
11. Add 100 µl of the STOP-SOLN to all wells and shake the microtiter plate shortly.
12. Read the absorbance of the solution in the wells within 10 minutes, using a microplate reader set to 450 nm (if available a reference wavelength between 620 nm and 650 nm is recommended).

6.4 Noradrenaline ELISA

1. Pipette 25 µl of the Enzyme Solution (refer to 6.1) into all wells of the Noradrenaline Microtiter Strips NAD NMN .
2. Pipette 20 µl of the extracted standards, controls and samples into the appropriate wells.
3. Incubate for 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
4. Pipette 50 µl of the NAD-AS into all wells and cover plate with FOILS .
5. Incubate for 2 h at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
6. Remove the foil. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate 3 x by adding 300 µl of Wash Buffer , discarding the content and blotting dry each time by tapping the inverted plate on absorbent material.
7. Pipette 100 µl of the CONJUGATE into all wells.
8. Incubate for 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
9. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate 3 x by adding 300 µl of Wash Buffer , discarding the content and blotting dry each time by tapping the inverted plate on absorbent material.
10. Pipette 100 µl of the SUBSTRATE into all wells and incubate for 25 ± 5 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). ⚠ Avoid exposure to direct sunlight!
11. Add 100 µl of the STOP-SOLN to all wells and shake the microtiter plate shortly.
12. Read the absorbance of the solution in the wells within 10 minutes, using a microplate reader set to 450 nm (if available a reference wavelength between 620 nm and 650 nm is recommended).

6.5 Dopamine ELISA

1. Pipette 25 µl of the Enzyme Solution (refer to 6.1) into all wells of the Dopamine Microtiter Strips W DOP .
2. Pipette 25 µl of the extracted standards, controls, urine samples and 50 µl of the extracted plasma samples into the appropriate wells.
3. Add 25 µl of HCL to the standards, controls and urine samples .
4. Incubate for 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
5. Pipette 50 µl of the DOP-AS into all wells and cover plate with FOILS .
6. Incubate for 2 h at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
7. Remove the foil. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate 3 x by adding 300 µl of Wash Buffer , discarding the content and blotting dry each time by tapping the inverted plate on absorbent material.
8. Pipette 100 µl of the CONJUGATE into all wells.
9. Incubate for 30 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm).
10. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate 3 x by adding 300 µl of Wash Buffer , discarding the content and blotting dry each time by tapping the inverted plate on absorbent material.
11. Pipette 100 µl of the SUBSTRATE into all wells and incubate for 25 ± 5 min at RT (20 – 25 °C) on a shaker (approx. 600 rpm). ⚠ Avoid exposure to direct sunlight!
12. Add 100 µl of the STOP-SOLN to all wells and shake the microtiter plate shortly.
13. Read the absorbance of the solution in the wells within 10 minutes, using a microplate reader set to 450 nm (if available a reference wavelength between 620 nm and 650 nm is recommended).

7. Calculation of results

Measuring range		Adrenaline	Noradrenaline	Dopamine
	Urine	0.7 – 200 ng/ml	2.5 – 1,000 ng/ml	4.8 – 2,000 ng/ml
	Plasma	18 – 6,667 pg/ml	93 – 33,333 pg/ml	75 – 33,333 pg/ml

The standard curve, which can be used to determine the concentration of the unknown samples, is obtained by plotting the absorbance readings (calculate the mean absorbance) of the standards (linear, y-axis) against the corresponding standard concentrations (logarithmic, x-axis) using a concentration of 0.001 ng/ml for Standard A (this alignment is mandatory because of the logarithmic presentation of the data). Use non-linear regression for curve fitting (e. g. 4-parameter, marquardt).

⚠ This assay is a competitive assay. This means: the OD-values are decreasing with increasing concentrations of the analyte. OD-values found below the standard curve correspond to high concentrations of the analyte in the sample and have to be reported as being positive.

Urine samples and controls

The concentrations of the **urine samples** and the **Controls** can be read directly from the standard curve.

Calculate the 24 h excretion for each urine sample: $\mu\text{g}/24\text{h} = \mu\text{g}/\text{l} \times \text{l}/24\text{h}$

Plasma samples

The read **Adrenaline** and **Noradrenaline** concentrations of the **plasma samples** have to be **divided by 30**.

The read **Dopamine** concentrations of the **plasma samples** have to be **divided by 60**.

Conversion:

Adrenaline [ng/ml] x 5.46 = Adrenaline [nmol/l]

Noradrenaline [ng/ml] x 5.91 = Noradrenaline [nmol/l]

Dopamine [ng/ml] x 6.53 = Dopamine [nmol/l]

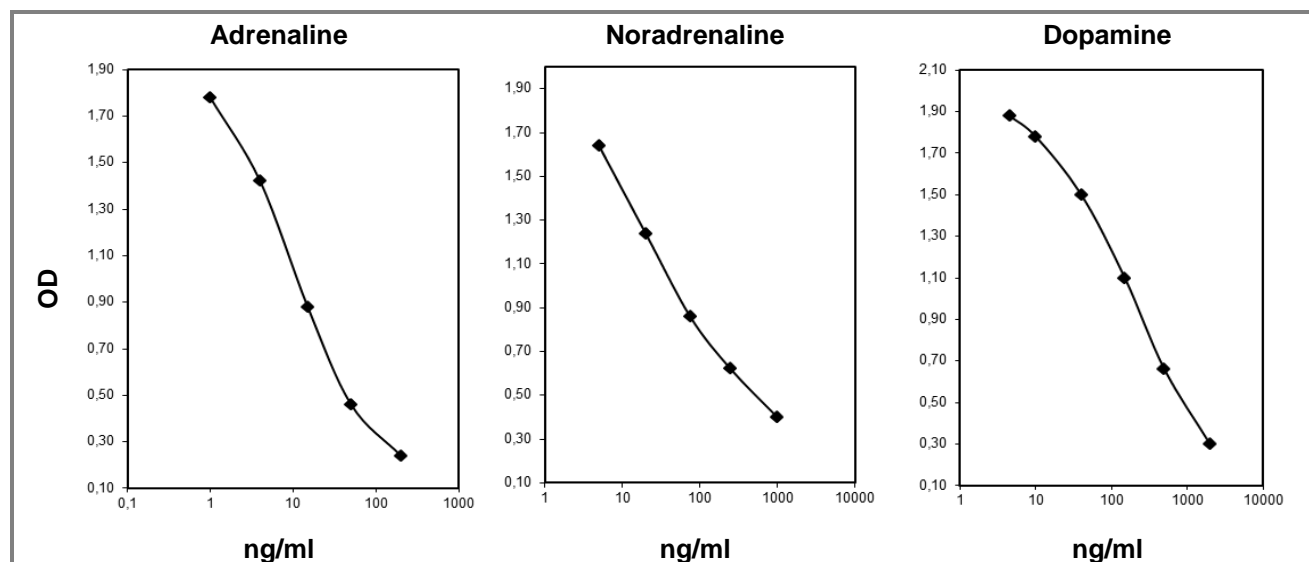
7.1 Expected reference value

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own reference values.

	Adrenaline	Noradrenaline
24-hour urine	< 20 µg/day (110 nmol/day)	< 90 µg/day (535 nmol/day)
Plasma	< 100 pg/ml	< 600 pg/ml

7.2 Typical standard curve

⚠ *Examples: Do not use for calculation!*

**8. Control samples**

It is recommended to use control samples according to national regulations. Use controls at both normal and pathological levels. Commercially obtained control samples should be treated like unknown samples. Control samples should fall within established confidence limits. The confidence limits of the kit controls are indicated on the QC-Report.

9. Assay characteristics**9.1 Performance data**

Analytical Sensitivity				
		Adrenaline	Noradrenaline	Dopamine
Limit of Blank (LOB)	Urine [ng/ml]	0.8	1.5	2.2
	Plasma [pg/ml]	9.3	32	43
Limit of Detection (LOD)	Urine [ng/ml]	0.9	1.7	2.5
	Plasma [pg/ml]	10	36	49
Limit of Quantification (LOQ)	Urine [ng/ml]	0.7	2.5	4.8
	Plasma [pg/ml]	18	93	75

Analytical Specificity (Cross Reactivity)			
Substance	Cross Reactivity [%]		
	Adrenaline	Noradrenaline	Dopamine
Derivatized Adrenaline	100	0.08	0.02
Derivatized Noradrenaline	0.13	100	6.4
Derivatized Dopamine	< 0.01	0.03	100
Metanephrine	0.18	< 0.01	< 0.01
Normetanephrine	< 0.01	0.16	0.01
3-Methoxytyramine	< 0.01	< 0.01	0.49
3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Tyramine	< 0.01	< 0.01	0.18
Phenylalanine, Caffeinic acid, L-Dopa, Homovanillic acid, Tyrosine, 3-Methoxy-4-hydroxymandelic acid	< 0.01	< 0.01	< 0.01

Precision							
Intra-Assay Urine (n = 60)				Intra-Assay Plasma (n = 60)			
	Sample	Range [ng/ml]	CV [%]		Sample	Range [pg/ml]	CV [%]
Adrenaline	1	6.2 ± 1.1	17.4	Adrenaline	1	64.7 ± 15.9	24.7
	2	21.4 ± 2.7	12.4		2	258 ± 32.5	12.7
	3	59.4 ± 7.8	13.1		3	948 ± 105	11.0
Noradrenaline	1	26.1 ± 3.6	13.8	Noradrenaline	1	510 ± 65	12.8
	2	97 ± 12.8	13.4		2	1,358 ± 194	14.3
	3	267 ± 35	13.1		3	3,363 ± 374	11.1
Dopamine	1	82 ± 16.1	19.7	Dopamine	1	75 ± 22	29.8
	2	253 ± 41.1	16.3		2	353 ± 86	24.4
	3	714 ± 67	9.4		3	1,187 ± 293	24.9
Inter-Assay Urine (n = 33)				Inter-Assay Plasma (n = 18)			
	Sample	Range [ng/ml]	CV [%]		Sample	Range [pg/ml]	CV [%]
Adrenaline	1	5.2 ± 0.9	17.9	Adrenaline	1	76.4 ± 11.1	14.5
	2	17.8 ± 2.1	11.7		2	247 ± 27.5	11.1
	3	54.2 ± 6.6	12.1		3	771 ± 101	13.1
Noradrenaline	1	19.5 ± 3.9	20.0	Noradrenaline	1	445 ± 40.9	9.2
	2	80.6 ± 10.6	13.2		2	1,232 ± 134	10.9
	3	226 ± 39.5	17.4		3	3,283 ± 302	9.2
Dopamine	1	79.3 ± 18.8	23.7	Dopamine	1	238 ± 67.0	28.2
	2	222 ± 27.0	12.1		2	1,072 ± 201	18.8
	3	630 ± 69.0	11.0		3	3,449 ± 491	14.2

Recovery				
		Range	Mean [%]	Range [%]
Adrenaline	Urine	4.5 – 53.5 ng/ml	106	94 – 120
	Plasma	9.1 – 4,268 pg/ml	105	88 – 117
Noradrenaline	Urine	58.6 – 260 ng/ml	103	91 – 113
	Plasma	51 – 14,251 pg/ml	87	75 – 107
Dopamine	Urine	225 – 1,306 ng/ml	110	101 – 124
	Plasma	57.4 – 16,054 pg/ml	89	84 – 92

Linearity				
		Serial dilution up to	Mean [%]	Range [%]
Adrenaline	Urine	1:512	108	92 – 123
	Plasma	1:512	105	94 – 115
Noradrenaline	Urine	1:512	112	100 – 127
	Plasma	1:512	112	102 – 125
Dopamine	Urine	1:512	104	83 – 126
	Plasma	1:512	106	85 – 132

10. References/Literature














- (1) Kim et al. Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through the down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in GULO(-/-) Vit C-Insufficient mice. Free Radical Biology and Medicine, 65:573-583 (2013)
- (2) Bada et al. Peripheral vasodilatation determines cardiac output in exercising humans: insight from atrial pacing. The Journal of Physiology, 590(8):2051-2060 (2012)
- (3) Parks et al. Employment and work schedule are related to telomere length in women. Occupational & Environmental Medicine 68(8):582-589 (2011)

For updated literature or any other information please contact your local supplier.

11. Changes

Version	Release Date	Chapter	Change
19.0	2023-11-28	4.1	- Hazard labelling updated according to SDS
19.1	2024-04-02	6.5	- Correction antiserum symbol

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta y advertencias precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta

Zugehörige Produkte:

- Adrenaline ELISA
- Noradrenaline ELISA
- Dopamine ELISA
- 3-CAT ELISA

1. Einleitung**1.1 Verwendungszweck und Testprinzip**

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Adrenalin (Epinephrin), Noradrenalin (Norepinephrin) und Dopamin in Plasma und Urin.

Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin werden mittels eines cis-diolspezifischen Boronat-Affinitätsgels aus der Probe extrahiert, danach azyliert und anschließend enzymatisch umgewandelt.

Der sich anschließende kompetitive ELISA basiert auf dem Mikrotiterplattenformat. Das Antigen ist an die feste Phase der Mikrotiterplatte gebunden. Die azylierten Standards, Kontrollen und Proben und die an die Festphase gebundenen Analyten konkurrieren um die vorhandenen Bindungsstellen der Antikörper. Nachdem das System im Gleichgewicht ist, werden die freien Antigene und die freien Antigen-Antikörperkomplexe durch Waschen entfernt. Der an die feste Phase gebundene Antikörper wird mit einem Peroxidase-markierten anti-Kaninchen-Antikörper gebunden und mit TMB als Substrat durch eine Farbreaktion nachgewiesen. Die Reaktion wird bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden mit Hilfe einer Standardkurve mit bekannten Konzentrationen und Abgleich der gemessenen Absorptionen ermittelt. Die manuelle Abarbeitung des ELISAs wird empfohlen. Die Verwendung von automatischen Laborgeräten liegt in der Verantwortung des Anwenders. Dieses In-Vitro-Diagnostikum ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt.

1.2 Klinische Anwendung

Die Katecholamine Adrenalin (Epinephrin), Noradrenalin (Norepinephrin) und Dopamin sind Neurotransmitter des sympathischen Nervensystems und bewirken zahlreiche physiologische Prozesse im Menschen. Der Sympathikus versetzt den Körper in eine erhöhte Alarmbereitschaft. Folglich ist über die sekretierte Menge der Katecholamine und deren Abbauprodukte im Menschen die Adaption des Körpers an akuten und chronischen Stress bestimmbar.

In der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung von Tumoren des sympathico-adrenalen Systems wie z. B. dem Phäochromozytom, spielen die Katecholamine neben den Metanephrinen/Normetanephrinen eine entscheidende Rolle. Während für die Diagnosestellung die quantitative Bestimmung der Urinausscheidung bevorzugt wird, ist bei klinischen Funktionstesten sowie zur Lokalisation eines Tumors die Katecholaminbestimmung im Plasma sinnvoll. Werte oberhalb der Normalbereiche können ein Hinweis auf neuroendokrine Tumore sein.

Des Weiteren werden in der Literatur noch zahlreiche Krankheitsbilder wie z. B. Hypertonie, degenerative Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems, Schizophrenie und manische Depression mit erhöhten oder erniedrigten Sekretionslevel der Katecholamine beschrieben.

Therapeutische Konsequenzen dürfen niemals allein auf Grund von Laborwerten herangezogen werden, auch wenn diese Werte in Übereinstimmung mit den Qualitätskriterien der Methode beurteilt werden. Jedes Laborergebnis trägt immer nur zu einem Teil des klinischen Bildes bei.

Nur wenn die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem klinischen Gesamtbild stehen, dürfen daraus therapeutische Konsequenzen abgeleitet werden.

2. Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen**2.1 Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen**

- (1) Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt. Für eine erfolgreiche Anwendung dieses Kits benötigen die Anwender ein umfassendes Verständnis dieses Protokolls. Einzig die im Kit enthaltene Gebrauchsanweisung ist gültig und bei der Durchführung des Assays zu verwenden. Für eine zuverlässige Leistung müssen die mitgelieferten Anweisungen genau und sorgfältig befolgt werden.
- (2) Dieser Assay wurde für die unter Verwendungszweck (siehe Kapitel 1) angegebene Probenart validiert. Jede nicht zugelassene Anwendung dieses Kits obliegt der Verantwortung des Anwenders und entbindet den Hersteller von jeglicher Haftung.
- (3) Die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) sind zu befolgen.
- (4) Geeignete persönliche Schutzausrüstung (Kittel, Einweghandschuhe und Schutzbrille) ist zu tragen, um die Exposition gegenüber potenziell gesundheitsgefährdenden Stoffen zu reduzieren.
- (5) Falls in Zusammenhang mit diesem Produkt schwerwiegende Vorfälle auftreten sollten, sollen diese dem Hersteller und den zuständigen nationalen Behörden gemeldet werden.
- (6) Alle Reagenzien des Kits sowie die Proben sollten vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig, aber gründlich gemischt werden. Verwenden Sie für Verdünnungs- oder

- Rekonstitutionszwecke deionisiertes, destilliertes oder ultrareines Wasser. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Reagenzien und Proben vermeiden.
- (7) Die Mikrotiterplatte verfügt über einzeln herausnehmbare und abbrechbare Streifen. Ungenutzte Wells müssen bei 2 – 8 °C mit Trockenmittelbeutel im verschlossenen Folienbeutel gelagert und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden. Die aus dem Rahmen entnommenen Mikrotiterstreifen müssen entsprechend gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden.
 - (8) Proben sollten in Doppelbestimmung gemessen werden.
 - (9) Sobald der Test begonnen wurde, sollten alle Schritte ohne Unterbrechung ausgeführt werden. Es muss dafür gesorgt werden, dass die erforderlichen Reagenzien, Materialien und Geräte zur vorgesehenen Zeit einsatzbereit sind.
 - (10) Die Inkubationszeiten haben Einfluss auf die Ergebnisse. Alle Wells sollten in der gleichen Reihenfolge und zeitlichen Abfolge behandelt werden.
 - (11) Zur Vermeidung einer Kontamination der Reagenzien ist bei jeder Abgabe eines Reagenzes, einer Probe, eines Standards und einer Kontrolle eine neue Einwegpipettenspitze zu verwenden.
 - (12) Bei jeder Testanwendung muss eine Standardkurve erstellt werden.
 - (13) Bei jeder Testanwendung sollten Kontrollen mitgetestet werden, deren Werte innerhalb der bekannten Vertrauensgrenzen liegen müssen. Die gültigen Vertrauensgrenzen der Kitkontrollen können dem QC-Report entnommen werden, der dem Kit beiliegt.
 - (14) Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Chargenbezeichnungen nicht im selben Test verwenden. Reagenzien nach dem auf dem Kitetikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr benutzen.
 - (15) Kontakt mit der Stopplösung vermeiden, da sie 0,25 M H₂SO₄ enthält. Die Lösung kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen. Bei Berührung mit den Augen oder der Haut sofort mit Wasser aus- bzw. abspülen.
 - (16) Das TMB-Substrat reizt die Haut und Schleimhäute. Bei möglichem Kontakt Augen mit reichlich Wasser und Haut mit Seife und reichlich Wasser aus- bzw. abspülen. Kontaminierte Gegenstände vor der erneuten Verwendung abspülen.
 - (17) Für Informationen zu den im Kit enthaltenen gesundheitsgefährdenden Stoffen siehe das Sicherheitsdatenblatt (SDS). Das Sicherheitsdatenblatt dieses Produkts ist direkt auf der Webseite des Herstellers abrufbar oder auf Anfrage erhältlich.
 - (18) Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende, potentiell infektiöse Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.
 - (19) Die in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen erwarteten Referenzwerte dienen nur als Hinweis. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwertintervalle erstellt.
 - (20) 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 dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen sachgerecht gelagert werden, bis der Hersteller entscheidet, wie mit ihnen zu verfahren ist. Sollte entschieden werden, dass sie für Messungen nicht mehr geeignet sind, müssen sie entsprechend den nationalen Richtlinien entsorgt werden.
 - (21) Therapeutische Maßnahmen dürfen sich nicht allein auf die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse stützen, sondern müssen mit anderen diagnostischen Tests und klinischen Beobachtungen abgewogen werden.

2.2 Grenzen des Tests

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

2.2.1 Interferenzen und sachgemäßer Umgang mit Proben

Plasma

Proben, die Präzipitate oder Fibrinfäden enthalten oder die hämolytisch oder lipämisch sind, können zu ungenauen Ergebnissen führen. Hämolytische Proben (bis zu 4 mg/ml Hämoglobin), ikterische Proben (bis zu 50 mg/dl Bilirubin) und lipämische Proben (bis zu 800 mg/dl Triglyceride) haben keinen Einfluss auf die Assayergebnisse.

Sollten die Konzentrationen nicht abzuschätzen sein und Zweifel bestehen, ob die oben genannten Grenzwerte für hämolytische, ikterische oder lipämische Proben eingehalten werden, sollten die Proben nicht im Assay eingesetzt werden.

Sammelurin

Probensammlung beachten! Ist der Säuregehalt des 24-Stunden Sammelurins zu hoch, führt dies zu falschen Ergebnissen der Urinproben.

2.2.2 Beeinflussung durch Medikamente und Nahrungsmittel

Bislang sind keine Stoffe (Medikamente) bekannt, deren Einnahme die Bestimmung des Katecholamin-Gehaltes in der Probe beeinflusst.

2.2.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test nicht auf.


3. Lagerung und Haltbarkeit

Das Kit muss bei 2 – 8 °C bis zum Verfalldatum gelagert werden. Das Kit und die Reagenzien dürfen nach Überschreiten des Verfalldatums nicht mehr verwendet werden. Einmal geöffnet sind die Reagenzien 2 Monate stabil, wenn sie bei 2 – 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel der ELISA-Platte sollte stets mit Trockenmittelbeutel sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

4. Materialien

4.1 Reagenzien im Kit

BA D-0090	FOILS	Selbstklebende Folie – gebrauchsfertig
Inhalt:	Klebefolien in einem wiederverschließbaren Beutel	
Anzahl:	3 x 4 Folien	
BA E-0030	WASH-CONC 50x	Waschpufferkonzentrat – 50x konzentriert
Inhalt:	Puffer mit einem nicht-ionischen Detergenz und physiologischem pH	
Volumen:	3 x 20 ml/Fläschchen, Deckel lila	
BA E-0040	CONJUGATE	Enzymkonjugat – gebrauchsfertig
Inhalt:	Ziege anti-Kaninchen Immunoglobuline, konjugiert mit Peroxidase	
Volumen:	3 x 12 ml/Fläschchen, Deckel rot	
Beschreibung:	Spezies ist Ziege	
BA E-0055	SUBSTRATE	Substrat – gebrauchsfertig
Inhalt:	Chromogenes Substrat mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin, Substratpuffer und Wasserstoffperoxid	
Volumen:	3 x 12 ml/Fläschchen, Deckel schwarz	
BA E-0080	STOP-SOLN	Stopplösung – gebrauchsfertig
Inhalt:	0,25 M Schwefelsäure	
Volumen:	3 x 12 ml/Fläschchen, Deckel grau	
BA E-0131	W ADR MN	Adrenalin Mikrotiterstreifen – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 x 96 Wells (12x8) Antigen vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem blauen wiederverschließbaren Beutel	
BA E-0231	W NAD NMN	Noradrenalin Mikrotiterstreifen – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 x 96 Wells (12x8) Antigen vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem gelben wiederverschließbaren Beutel	
BA E-0331	W DOP	Dopamin Mikrotiterstreifen – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 x 96 Wells (12x8) Antigen vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem grünen wiederverschließbaren Beutel	
BA E-6110	ADR-AS	Adrenalin Antiserum – gebrauchsfertig
Inhalt:	Kaninchen anti-Adrenalin Antikörper im Proteinpuffer mit quecksilberfreiem Konservierungsmittel, blau gefärbt	
Volumen:	1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel blau	
Beschreibung:	Spezies vom Antikörper ist Kaninchen, Spezies vom Protein im Puffer ist Rind	
BA E-6210	NAD-AS	Noradrenalin Antiserum – gebrauchsfertig
Inhalt:	Kaninchen anti-Noradrenalin Antikörper im Proteinpuffer mit quecksilberfreiem Konservierungsmittel, gelb gefärbt	
Volumen:	1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel gelb	
Beschreibung:	Spezies vom Antikörper ist Kaninchen, Spezies vom Protein im Puffer ist Rind	
BA E-6310	DOP-AS	Dopamin Antiserum – gebrauchsfertig
Inhalt:	Kaninchen anti-Dopamin Antikörper im Proteinpuffer mit quecksilberfreiem Konservierungsmittel, grün gefärbt	
Volumen:	1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel grün	
Beschreibung:	Spezies vom Antikörper ist Kaninchen, Spezies vom Protein im Puffer ist Rind	
BA E-6612	ACYL-REAG	Azylierungsreagenz – gebrauchsfertig
Inhalt:	Azylierungsreagenz in DMSO	
Volumen:	1 x 3 ml/Fläschchen, Deckel weiß	
BA R-0050	ADJUST-BUFF	Adjustment Buffer – gebrauchsfertig
Inhalt:	TRIS-Puffer zur pH-Wert-Einstellung	

Volumen:	2 x 4 ml/Fläschchen, Deckel grün	
BA R-6611	ACYL-BUFF	Acylation Buffer – gebrauchsfertig
Inhalt:	Leicht basischer Puffer zur Azylierung mit quecksilberfreien Stabilisatoren	
Volumen:	1 x 20 ml/Fläschchen, Deckel weiß	
BA R-6613	ASSAY-BUFF	Assaypuffer – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 M Salzsäure mit quecksilberfreien Stabilisatoren	
Volumen:	1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel grau	
Gefahrenpiktogramme:		
Signalwort:	GHS05 Gefahr	
Gefahrenhinweise:	H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.	
Sicherheitshinweise:	P280 Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augenschutz tragen. P303+P361+P353 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen. P305+P351+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt anrufen. P501 Inhalt/Behälter autorisierter Abfallsammelstelle zuführen.	
BA R-6614	COENZYME	Coenzym – gebrauchsfertig
Inhalt:	S-adenosyl-L-methionine	
Volumen:	1 x 4 ml/Fläschchen, Deckel lila	
BA R-6615	ENZYME	Enzym – lyophilisiert
Inhalt:	Catechol-O-Methyltransferase	
Volumen:	6 Fläschchen, Deckel rosa	
Beschreibung:	Catechol-O-Methyltransferase aus Schweineleber	
BA R-6617	EXTRACT-BUFF	Extraktionspuffer – gebrauchsfertig
Inhalt:	Carbonatpuffer	
Volumen:	1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel braun	
BA R-6618	EXTRACT-PLATE	Extraktionsplatte – gebrauchsfertig
Inhalt:	48 2 x 48-Well-Platte, beschichtet mit Boronat-Affinitätsgel in einem wiederverschließbaren Beutel	
BA R-6619	HCL	Hydrochloric Acid – gebrauchsfertig
Inhalt:	0,025 M Salzsäure, gelb gefärbt	
Volumen:	1 x 20 ml/Fläschchen, Deckel grün	


4.2 Kalibratoren und Kontrollen

Standards und Kontrollen – gebrauchsfertig

Artikelnr.	Komponente	Deckel- farbe	Konzentration [ng/ml]			Konzentration [nmol/l]			Volumen/ Fläsch- chen
			ADR	NAD	DOP	ADR	NAD	DOP	
BA E-6601	STANDARD A	weiß	0	0	0	0	0	0	4 ml
BA E-6602	STANDARD B	gelb	1	5	10	5,5	30	65	4 ml
BA E-6603	STANDARD C	orange	4	20	40	22	118	261	4 ml
BA E-6604	STANDARD D	blau	15	75	150	82	443	980	4 ml
BA E-6605	STANDARD E	grau	50	250	500	273	1.478	3.265	4 ml
BA E-6606	STANDARD F	schwarz	200	1.000	2.000	1.092	5.910	13.060	4 ml
BA E-6609	STANDARD A/B	lila	–	–	4,5	–	–	29	4 ml
BA E-6651	CONTROL 1	grün	Die zu erwartenden Konzentrationen und Vertrauensbereiche sind auf dem QC-Report angegeben.						4 ml
BA E-6652	CONTROL 2	rot							4 ml

Umrechnung: Adrenalin [ng/ml] x 5,46 = Adrenalin [nmol/l]
 Noradrenalin [ng/ml] x 5,91 = Noradrenalin [nmol/l]
 Dopamin [ng/ml] x 6,53 = Dopamin [nmol/l]

Inhalt: Saurer Puffer mit quecksilberfreien Stabilisatoren, aufgestockt mit definierten Mengen Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin

 *Zur Bestimmung des Dopamins im Plasma muss der zusätzliche **Standard A/B** verwendet werden!

4.3 Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Materialien

- Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur)
- saugfähige Unterlage

4.4 Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Geräte

- Kalibrierte Präzisionspipetten zum Pipettieren von 10 – 700 µl; 1 ml
- Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten (manuell, halbautomatisch oder automatisch)
- Photometer mit 450 nm und, wenn möglich, 620 – 650 nm Filter zur Auswertung von Mikrotiterplatten
- Mikrotiterplattenschüttler (Schüttelamplitude 3 mm; ungefähr 600 rpm)
- Vortex-Mischer

5. Probensammlung, -behandlung und -lagerung

Plasma

Das durch Venenpunktion entnommene Vollblut in einem für EDTA-Plasma vorgesehenen Blutentnahmeröhrchen sammeln und das EDTA-Plasma direkt durch Zentrifugation (nach Angaben des Herstellers) von den übrigen Blutbestandteilen trennen.

Lagerung: bis zu 6 Stunden bei 2 – 8 °C; für längere Zeit (bis zu 6 Monate) bei -20 °C

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben sollte vermieden werden.

Im Falle von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben siehe 2.2.1.

Urin

Es kann Spontanurin oder 24-Stunden Sammelurin verwendet werden (im Sammelbehälter werden zur Stabilisierung des Sammelurins 10 – 15 ml 6 M HCl vorgelegt). Wird 24 Stunden-Sammelurin verwendet, ist es notwendig, das Volumen zu notieren.

Lagerung: bis zu 48 Stunden bei 2 – 8 °C, bis zu 24 Stunden bei Raumtemperatur und für längere Zeit (bis zu 6 Monate) bei -20 °C.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben, sowie direktes Sonnenlicht sind zu vermeiden.

6. Testdurchführung

Vor dem Gebrauch müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig durchmischt werden. Extraktions- und Mikrotiterplatten müssen beschriftet werden (die aus dem Rahmen entnommenen Mikrotiterstreifen müssen entsprechend gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden). Die Durchführung von Doppelbestimmungen wird empfohlen.

Die Bindung des Antikörpers, Enzymkonjugats und die Aktivität des Enzyms sind temperaturabhängig. Je höher die Temperatur ist, desto größer werden die Absorptionswerte. Entsprechende Abweichungen ergeben sich ebenfalls durch die Inkubationszeiten. Die optimale Temperatur während des Enzymimmunoassays liegt zwischen 20 – 25 °C.

⚠ *Der verwendete Mikrotiterplattenschüttler muss folgende Spezifikationen haben: Schüttelamplitude 3 mm; ungefähr 600 rpm. Schütteln mit abweichenden Einstellungen kann die Ergebnisse beeinflussen.*

6.1 Vorbereitung der Reagenzien und weitere Hinweise

Waschpuffer

20 ml **WASH-CONC** **50X** mit Wasser auf ein Endvolumen von 1000 ml verdünnen.

Lagerung: 2 Monate bei 2 – 8 °C

Enzymlösung

Den Inhalt des Fläschchens **ENZYME** in 1 ml Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur) auflösen und gut mischen. Anschließend 0,3 ml **COENZYME** und 0,7 ml **ADJUST-BUFF** dazu pipettieren (Endvolumen 2,0 ml).

⚠ *Die Enzymlösung darf erst 10 – 15 Minuten vor Gebrauch angesetzt werden! Nach Gebrauch verwerfen!*

Adrenalin Mikrotiterstreifen, Noradrenalin Mikrotiterstreifen und Dopamin Mikrotiterstreifen

Vereinzelt können Rückstände der Blockier- und Stabilisierlösung in den Wells zu sehen sein (kleine weiße Punkte oder Linien). Diese stellen keine Beeinträchtigung der Qualität des Produktes dar.

Azylierungsreagenz

Das **ACYL-REAG** (BA E-6612) hat einen Gefrierpunkt von 18,5 °C. Um sicher zu stellen, dass es bei Gebrauch flüssig ist, muss es vor Verwendung auf Raumtemperatur gebracht werden und danach eine homogene, kristallfreie Lösung bilden.

6.2 Probenvorbereitung, Extraktion und Azylierung

⚠ **Zur Bestimmung des Dopamins im Plasma muss der zusätzliche **Standard A/B** verwendet werden!*

1.	Jeweils 10 µl Standards, Kontrollen, Urinproben und 300 µl Plasmaproben in die entsprechenden Wells der EXTRACT-PLATE 48 pipettieren.
2.	250 µl Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur) in alle Wells der Standards, Kontrollen und Urinproben pipettieren.
3.	50 µl ASSAY-BUFF in alle Wells pipettieren.
4.	50 µl EXTRACT-BUFF in alle Wells pipettieren.
5.	EXTRACT-PLATE 48 mit FOILS abdecken und für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) schütteln.
6.	FOILS entfernen. Die EXTRACT-PLATE 48 ausleeren und Restflüssigkeit durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
7.	1 ml Waschpuffer in alle Wells pipettieren. 5 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren. Platte ausleeren und Restflüssigkeit durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
8.	Ein weiteres Mal 1 ml Waschpuffer in alle Wells pipettieren. 5 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren. Platte ausleeren und Restflüssigkeit durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
9.	150 µl ACYL-BUFF in alle Wells pipettieren.
10.	25 µl ACYL-REAG in alle Wells pipettieren.
11.	15 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
12.	Platte ausleeren und Restflüssigkeit durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
13.	1 ml Waschpuffer in alle Wells pipettieren. 10 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren. Platte ausleeren und Restflüssigkeit durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.

14.	175 µl HCL in alle Wells pipettieren.		
15.	EXTRACT-PLATE 48 mit FOILS abdecken und für 10 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) schütteln.		
⚠	Überstand anschließend <u>nicht</u> verwerfen bzw. Platte nicht ausleeren!		
	Von den Extrakten werden für den nachfolgenden ELISA folgende Volumina benötigt:		
	Adrenalin	100 µl	Noradrenalin 20 µl
	Dopamin (Standards + Urin)	25 µl	Dopamin (Plasma) 50 µl

6.3 Adrenaline ELISA

1.	25 µl Enzymlösung (siehe 6.1) in die entsprechenden Wells der U ADR MN pipettieren.
2.	Jeweils 100 µl der extrahierten Standards , Kontrollen und Proben in die Wells pipettieren.
3.	Für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
4.	50 µl ADR-AS in alle Wells pipettieren und Platte mit FOILS abdecken.
5.	2 Stunden bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
6.	FOILS entfernen und den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells 3-mal gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
7.	100 µl CONJUGATE in alle Wells pipettieren.
8.	Für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
9.	Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells 3-mal gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
10.	100 µl SUBSTRATE in alle Wells pipettieren und für 25 ± 5 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren. ⚠ Direktes Sonnenlicht vermeiden!
11.	100 µl STOP-SOLN in alle Wells pipettieren und die Mikrotiterplatte kurz schütteln.
12.	Absorption mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei 450 nm innerhalb von 10 Min messen (falls vorhanden, wird eine Referenzwellenlänge zwischen 620 und 650 nm empfohlen).

6.4 Noradrenaline ELISA

1.	25 µl Enzymlösung (siehe 6.1) in die entsprechenden Wells der U NAD NMN pipettieren.
2.	Jeweils 20 µl der extrahierten Standards , Kontrollen und Proben in die Wells pipettieren.
3.	Für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
4.	50 µl NAD-AS in alle Wells pipettieren und Platte mit FOILS abdecken.
5.	2 Stunden bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
6.	FOILS entfernen und den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells 3-mal gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
7.	100 µl CONJUGATE in alle Wells pipettieren.
8.	Für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
9.	Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells 3-mal gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
10.	100 µl SUBSTRATE in alle Wells pipettieren und für 25 ± 5 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren. ⚠ Direktes Sonnenlicht vermeiden!
11.	100 µl STOP-SOLN in alle Wells pipettieren und die Mikrotiterplatte kurz schütteln.
12.	Absorption mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei 450 nm innerhalb von 10 Min messen (falls vorhanden, wird eine Referenzwellenlänge zwischen 620 und 650 nm empfohlen).

6.5 Dopamine ELISA

1.	25 µl Enzymlösung (siehe 6.1) in die entsprechenden Wells der LI DOP pipettieren.
2.	Jeweils 25 µl der extrahierten Standards, Kontrollen und Urinproben und 50 µl der extrahierten Plasmaproben in die Wells pipettieren.
3.	25 µl HCL zu den extrahierten Standards, Kontrollen und Urinproben hinzugeben.
3.	Für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
4.	50 µl DOP-AS in alle Wells pipettieren und Platte mit FOILS abdecken.
5.	2 Stunden bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
6.	FOILS entfernen und den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells 3-mal gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
7.	100 µl CONJUGATE in alle Wells pipettieren.
8.	Für 30 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
9.	Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells 3-mal gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
10.	100 µl SUBSTRATE in alle Wells pipettieren und für 25 ± 5 Min bei RT (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren. ⚠ Direktes Sonnenlicht vermeiden!
11.	100 µl STOP-SOLN in alle Wells pipettieren und die Mikrotiterplatte kurz schütteln.
12.	Absorption mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei 450 nm innerhalb von 10 Min messen (falls vorhanden, wird eine Referenzwellenlänge zwischen 620 und 650 nm empfohlen).

7. Berechnung der Ergebnisse

Messbereich		Adrenalin	Noradrenalin	Dopamin
	Urin	0,7 – 200 ng/ml	2,5 – 1.000 ng/ml	4,8 – 2.000 ng/ml
	Plasma	18 – 6.667 pg/ml	93 – 33.333 pg/ml	75 – 33.333 pg/ml

Die Standardkurve, mit deren Hilfe die Konzentration der unbekanntes Proben ermittelt werden kann, wird durch Auftragen der gemessenen Standardabsorptionen (Berechnung der mittleren Absorption, linearer Maßstab auf der y-Achse) gegen die entsprechenden Standardkonzentrationen (logarithmischer Maßstab auf der x-Achse) mit einer Konzentration von 0,001 ng/ml für Standard A (diese Ausrichtung ist aufgrund der logarithmischen Darstellung der Daten erforderlich) erstellt. Für die Auswertung wird eine nicht-lineare Regression (z. B.: 4-parameter, marquardt) verwendet.

⚠ Dieser Assay ist ein kompetitiver Assay. Das bedeutet, dass die OD-Werte mit zunehmender Konzentration des Analyten sinken. OD-Signale, die unterhalb der Standardkurve liegen, entsprechen einer sehr hohen Konzentration des Analyten in der gemessenen Probe und müssen als positiv gewertet werden.

Urinproben und Kontrollen

Die Konzentrationen der Urinproben und Kontrollen können direkt von der Standardkurve abgelesen werden.

Berechnung der 24-Stunden Urinproben: $\mu\text{g}/24\text{h} = \mu\text{g}/\text{l} \times \text{l}/24\text{h}$

Plasmaproben

Die aus der Kurve abgelesenen **Adrenalin- und Noradrenalin**konzentrationen müssen durch **30 dividiert** werden.

Die aus der Kurve abgelesenen **Dopamin**konzentrationen müssen durch **60 dividiert** werden.

Umrechnung:

Adrenalin [ng/ml] x 5,46 = Adrenalin [nmol/l]

Noradrenalin [ng/ml] x 5,91 = Noradrenalin [nmol/l]

Dopamin [ng/ml] x 6,53 = Dopamin [nmol/l]

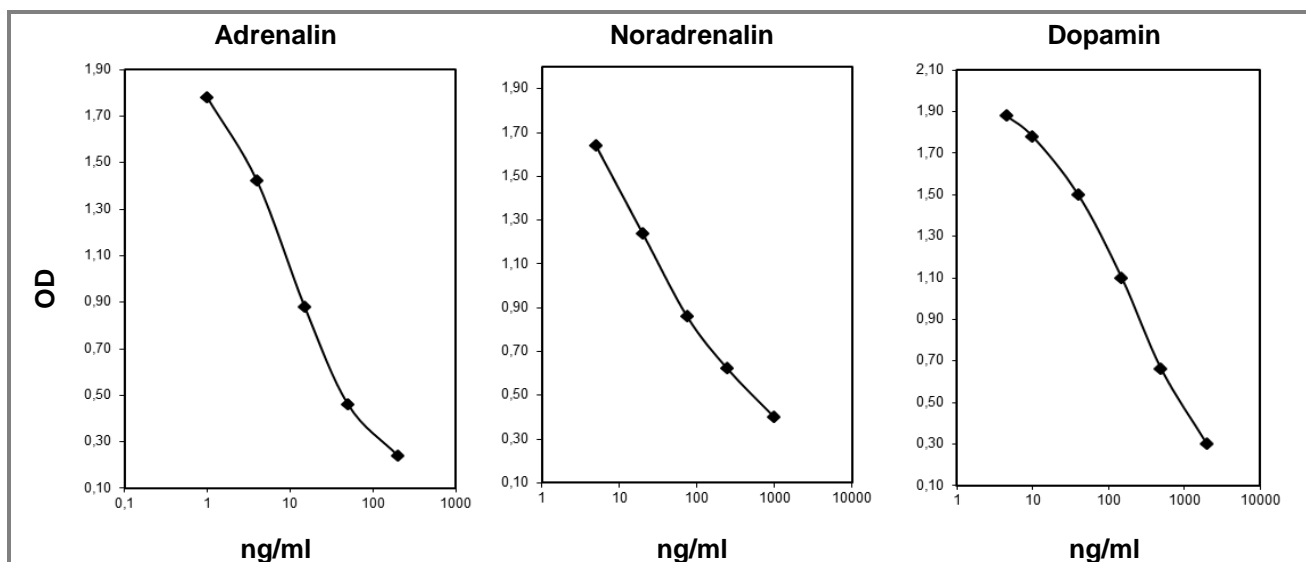
7.1 Erwartete Referenzbereiche

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte ermittelt.

	Adrenalin	Noradrenalin	Dopamin
Sammelurin	< 20 µg/Tag (110 nmol/Tag)	< 90 µg/Tag (535 nmol/Tag)	< 600 µg/Tag (3.900 nmol/Tag)
Plasma	< 100 pg/ml	< 600 pg/ml	< 100 pg/ml

7.2 Typische Standardkurve

⚠ *Beispiele: Bitte nicht für die Auswertung verwenden!*



8. Kontrollproben

Es wird empfohlen, Kontrollproben gemäß den nationalen Vorschriften zu verwenden. Verwenden Sie Kontrollen im normalen und pathologischen Bereich. Kommerzielle Kontrollproben müssen dabei wie die unbekanntes Proben behandelt werden. Kontrollproben sollten innerhalb der festgelegten Vertrauensbereiche liegen. Die Vertrauensbereiche der Kitkontrollen sind im QC-Report angegeben.

9. Assaycharakteristika

9.1 Leistungsdaten

Analytische Sensitivität		Adrenalin	Noradrenalin	Dopamin
Limit of Blank (LOB)	Urin [ng/ml]	0,8	1,5	2,2
	Plasma [pg/ml]	9,3	32	43
Limit of Detection (LOD)	Urin [ng/ml]	0,9	1,7	2,5
	Plasma [pg/ml]	10	36	49
Limit of Quantification (LOQ)	Urin [ng/ml]	0,7	2,5	4,8
	Plasma [pg/ml]	18	93	75

Analytische Spezifität (Kreuzreaktionen)			
Substanz	Kreuzreaktion [%]		
	Adrenalin	Noradrenalin	Dopamin
Derivatisiertes Adrenalin	100	0,08	0,02
Derivatisiertes Noradrenalin	0,13	100	6,4
Derivatisiertes Dopamin	< 0,01	0,03	100
Metanephrin	0,18	< 0,01	< 0,01
Normetanephrin	< 0,01	0,16	0,01
3-Methoxytyramin	< 0,01	< 0,01	0,49
3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Tyramin	< 0,01	< 0,01	0,18
Phenylalanin, Coffeinsäure, L-Dopa, Homovanillinsäure, Tyrosin, 3-Methoxy-4-hydroxymandelsäure	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Präzision							
Intra-Assay Urin (n = 60)				Inter-Assay Plasma (n = 60)			
	Probe	Bereich [ng/ml]	CV [%]		Probe	Bereich [pg/ml]	CV [%]
Adrenalin	1	6,2 ± 1,1	17,4	Adrenalin	1	64,7 ± 15,9	24,7
	2	21,4 ± 2,7	12,4		2	258 ± 32,5	12,7
	3	59,4 ± 7,8	13,1		3	948 ± 105	11,0
Noradrenalin	1	26,1 ± 3,6	13,8	Noradrenalin	1	510 ± 65	12,8
	2	97 ± 12,8	13,4		2	1.358 ± 194	14,3
	3	267 ± 35	13,1		3	3.363 ± 374	11,1
Dopamin	1	82 ± 16,1	19,7	Dopamin	1	75 ± 22	29,8
	2	253 ± 41,1	16,3		2	353 ± 86	24,4
	3	714 ± 67	9,4		3	1.187 ± 293	24,9
Inter-Assay Urin (n = 33)				Inter-Assay Plasma (n = 18)			
	Probe	Bereich [ng/ml]	CV [%]		Probe	Bereich [pg/ml]	CV [%]
Adrenalin	1	5,2 ± 0,9	17,9	Adrenalin	1	76,4 ± 11,1	14,5
	2	17,8 ± 2,1	11,7		2	247 ± 27,5	11,1
	3	54,2 ± 6,6	12,1		3	771 ± 101	13,1
Noradrenalin	1	19,5 ± 3,9	20,0	Noradrenalin	1	445 ± 40,9	9,2
	2	80,6 ± 10,6	13,2		2	1.232 ± 134	10,9
	3	226 ± 39,5	17,4		3	3.283 ± 302	9,2
Dopamin	1	79,3 ± 18,8	23,7	Dopamin	1	238 ± 67,0	28,2
	2	222 ± 27,0	12,1		2	1.072 ± 201	18,8
	3	630 ± 69,0	11,0		3	3.449 ± 491	14,2

Wiederfindung				
		Bereich	Mittelwert [%]	Bereich [%]
Adrenalin	Urin	4,5 – 53,5 ng/ml	106	94 – 120
	Plasma	9,1 – 4.268 pg/ml	105	88 – 117
Noradrenalin	Urin	58,6 – 260 ng/ml	103	91 – 113
	Plasma	51 – 14.251 pg/ml	87	75 – 107
Dopamin	Urin	225 – 1.306 ng/ml	110	101 – 124
	Plasma	57,4 – 16.054 pg/ml	89	84 – 92

Linearität				
		Serielle Verd. bis	Mittelwert [%]	Bereich [%]
Adrenalin	Urin	1:512	108	92 – 123
	Plasma	1:512	105	94 – 115
Noradrenalin	Urin	1:512	112	100 – 127
	Plasma	1:512	112	102 – 125
Dopamin	Urin	1:512	104	83 – 126
	Plasma	1:512	106	85 – 132

10. Referenzen/Literatur














- (1) Kim et al. Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through the down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in GULO(-/-) Vit C-Insufficient mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 65:573-583 (2013)
- (2) Bada et al. Peripheral vasodilatation determines cardiac output in exercising humans: insight from atrial pacing. *The Journal of Physiology*, 590(8):2051-2060 (2012)
- (3) Parks et al. Employment and work schedule are related to telomere length in women. *Occupational & Environmental Medicine* 68(8):582-589 (2011)

Aktuelle Literatur oder weitere Informationen zum Test werden Ihnen auf Anfrage von Ihrem Anbieter gerne zur Verfügung gestellt.

11. Änderungen

Version	Freigabedatum	Kapitel	Änderung
19.0	2023-11-28	4.1	- Gefahrenkennzeichnung gemäß SDS aktualisiert
19.1	2024-04-02	6.5	- Korrektur Antiserum Symbol

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta