

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	6
1.1	Intended use and principle of the test	6
1.2	Clinical application	6
2.	Procedural cautions, guidelines, warnings and limitations	6
2.1	Procedural cautions, guidelines and warnings	6
2.2	Limitations	7
2.2.1	Interfering substances and proper handling of specimens	7
2.2.2	Drug and food interferences	7
2.2.3	High-Dose-Hook effect	7
3.	Storage and stability	7
4.	Materials	7
4.1	Contents of the kit	7
4.2	Calibration and Controls	10
4.3	Additional materials required but not provided in the kit	10
4.4	Additional equipment required but not provided in the kit	10
5.	Sample collection, handling and storage	10
6.	Test procedure	10
6.1	Preparation of reagents and further notes	11
6.2	Sample preparation, extraction and acylation	11
6.3	Adrenaline ELISA	12
6.4	Noradrenaline ELISA	12
6.5	Dopamine ELISA	13
7.	Calculation of results	13
7.1	Expected reference value	14
7.2	Typical standard curve	14
8.	Control samples	14
9.	Assay characteristics	14
9.1	Performance data	14
10.	References/Literature	16
11.	Changes	17

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	18
1.1	Verwendungszweck und Testprinzip	18
1.2	Klinische Anwendung	18
2.	Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen	18
2.1	Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen	18
2.2	Grenzen des Tests	19
2.2.1	Interferenzen und sachgemäßer Umgang mit Proben	19
2.2.2	Beeinflussung durch Medikamente und Nahrungsmittel	19
2.2.3	High-Dose-Hook Effekt	19
3.	Lagerung und Haltbarkeit	19
4.	Materialien	20
4.1	Reagenzien im Kit	20
4.2	Kalibratoren und Kontrollen	22
4.3	Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Materialien	22
4.4	Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Geräte	22
5.	Probensammlung, -behandlung und -lagerung	22
6.	Testdurchführung	22
6.1	Vorbereitung der Reagenzien und weitere Hinweise	23
6.2	Probenvorbereitung, Extraktion und Acylierung	23
6.3	Adrenaline ELISA	24
6.4	Noradrenaline ELISA	24
6.5	Dopamine ELISA	25
7.	Berechnung der Ergebnisse	25
7.1	Erwartete Referenzbereiche	25
7.2	Typische Standardkurve	25
8.	Kontrollproben	26
9.	Assaycharakteristika	26
9.1	Leistungsdaten	26
10.	Referenzen/Literatur	28
11.	Änderungen	29
12.	Symbols used with Demeditec assays	30

Índice

1.	Introducción	31
1.1	Uso previsto y principio de la prueba	31
1.2	Aplicación clínica	31
2.	Precauciones de procedimiento, directrices, advertencias y limitaciones	31
2.1	Precauciones de procedimiento, directrices y advertencias	31
2.2	Limitaciones	32
2.2.1	Sustancias interferentes y manipulación adecuada de las muestras	32
2.2.2	Interferencias medicamentosas y alimentarias	32
2.2.3	Efecto gancho de alta dosis	32
3.	Almacenamiento y estabilidad	32
4.	Materiales	32
4.1	Contenido del kit	32
4.2	Calibración y controles	35
4.3	Material adicional necesario pero no incluido en el kit	35
4.4	Equipamiento adicional necesario pero no incluido en el kit	35
5.	Recolección, manipulación y almacenamiento de muestras	35
6.	Procedimiento de ensayo	36
6.1	Preparación de reactivos y notas adicionales	36
6.2	Preparación de la muestra, extracción y acilación	37
6.3	Adrenalina ELISA	38
6.4	Noradrenalina ELISA	38
6.5	Dopamina ELISA	39
7.	Cálculo de los resultados	39
7.1	Valor de referencia previsto	40
7.2	Curva estándar típica	40
8.	Muestras de control	40
9.	Características del ensayo	41
9.1	Datos de rendimiento	41
9.2	Trazabilidad metrológica	43
10.	Referencias/Literatura	44
11.	Cambios	44
	SÍMBOLOS UTILIZADOS CON LOS ENSAYOS DEMEDITEC	44

1.	Wprowadzenie	45
1.1.	Przeznaczenie i zasada działania testu	45
1.2	Zastosowanie kliniczne	45
2.	Środki ostrożności, wytyczne, ostrzeżenia i czynniki limitujące	45
2.1	Środki ostrożności, wytyczne i ostrzeżenia	45
2.2	Ograniczenia	46
2.2.1	Substancje zakłócające i właściwe postępowanie z próbkami	46
2.2.2	Leki i żywność powodujące zakłócenia	46
2.2.3	Efekt Wysokiej Dawki (efekt „hook”)	46
3.	Przechowywanie i stabilność	47
4.	Materiały	47
4.1	Zawartość zestawu	47
4.2	Kalibratory i kontrole	49
4.3	Dodatkowe materiały wymagane, ale niedostarczone w zestawie	50
4.4	Dodatkowy sprzęt wymagany, ale niedostarczony w zestawie	50
5.	Pobieranie, obsługa i przechowywanie próbek	50
6.	Procedura testu	50
6.1	Przygotowanie odczynników i dalsze uwagi	50
6.2	Przygotowanie próbki, ekstrakcja i acylacja	52
6.3	Adrenalina ELISA	53
6.4	Noradrenalina ELISA	53
6.5	Dopamina ELISA	54
7.	Obliczanie wyników	54
7.1	Oczekiwane wartości referencyjne	55
7.2	Typowe krzywe standardowe	55
8.	Próbki kontrolne	55
9.	Charakterystyka testu	55
9.1	Dane dotyczące wydajności	55
10.	Referencje/Literatura	58
11.	Zmiany	59
	SYMBOLE	60

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) Standards, Controls and specimen samples should be assayed in duplicate.
- (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) 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.
- (16) Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed of according to national regulations.
- (17) The expected reference values reported in this test instruction are only indicative. It is recommended that each laboratory establishes its own reference intervals.
- (18) 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.
- (19) 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

Medications such as antihypertensive drugs, antidepressants, sympathomimetics, antipsychotics and L-DOPA can affect the concentrations of catecholamines. Discontinuation of medication before the collection period must be discussed with the attending physician.

Caffeinated beverages, alcohol, nicotine, mood-enhancing drugs and catecholamine-rich foods (such as bananas, cheese, nuts, chocolate, tomatoes or beans) can also affect the concentrations of catecholamines and should be avoided from 3 days before and during the collection period (urine). Care should also be taken to avoid stress and physical strain shortly before and during the collection period.

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	Wash Buffer Concentrate – concentrated 50x
	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	

Hazard
pictograms:



GHS07

Signal word:

Warning

Hazardous

2-methyl-2H-isothiazol-3-one

ingredients:

Hazard

H317 May cause an allergic skin reaction.

statements:

Precautionary

P280 Wear protective gloves.

statements:

P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.

P333+P313 If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P501 Dispose of contents/container to an authorised waste collection point.

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

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

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

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 it 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.		
⚠	Do not decant the supernatant thereafter!		
The following volumes of the supernatant are needed for the subsequent ELISA:			
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]

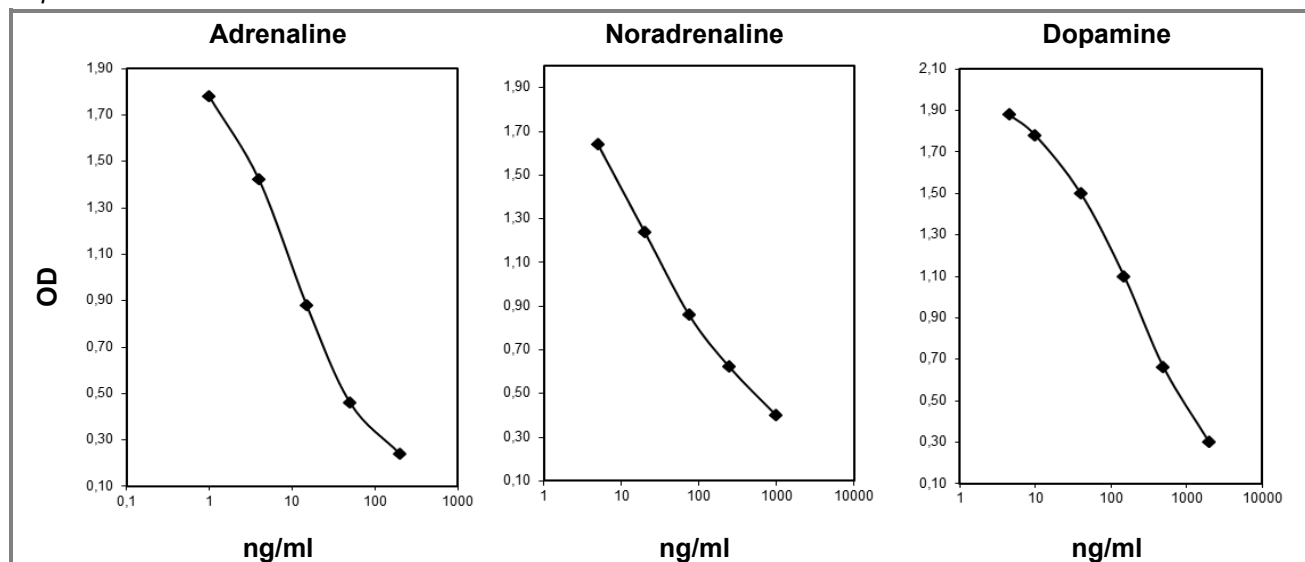
7.1 Expected reference value

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

	Adrenaline	Noradrenaline	Dopamine
24-hour urine	< 20 µg/day (110 nmol/day)	< 90 µg/day (535 nmol/day)	< 600 µg/day (3,900 nmol/day)
Plasma	< 100 pg/ml	< 600 pg/ml	< 100 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

Lot-to-Lot				
Adrenaline (n = 5)	Urine	Sample	Mean ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	6.6 ± 0.9	13.7
	Plasma	Sample	Mean ± SD [pg/ml]	CV [%]
		1	202 ± 26.7	11.8
Noradrenaline (n = 6)	Urine	Sample	Mean ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	124 ± 13.2	10.7
	Plasma	Sample	Mean ± SD [pg/ml]	CV [%]
		1	1,071 ± 97.3	5.3
Dopamine (n = 6)	Urine	Sample	Mean ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	189 ± 14.7	7.8
		2	678 ± 39.3	5.8

Recovery was determined according to the CLSI standard EP 34 1st ed.

Recovery				
Adrenaline	Urine	Range [ng/ml]	Mean [%]	Range [%]
		0.27 – 61	95	89 – 98
	Plasma	Range [pg/ml]	Mean [%]	Range [%]
		9.1 – 4,268	105	88 – 117
Noradrenaline	Urine	Range [ng/ml]	Mean [%]	Range [%]
		1.8 – 249	96	70 – 118
	Plasma	Range [pg/ml]	Mean [%]	Range [%]
		51 – 14,251	87	75 – 107
Dopamine	Urine	Range [ng/ml]	Mean [%]	Range [%]
		9.2 – 762	112	106 – 117
	Plasma	Range [pg/ml]	Mean [%]	Range [%]
		57.4 – 16,054	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

9.2 Metrological Traceability

The values assigned to the standards and controls of the 3-CAT ELISA are traceable to SI Units by weighing with quality-controlled analyte.

Standards and Controls	
	Uncertainty [%]
Adrenaline	3.5
Noradrenaline	4.1
Dopamine	2.5

3-CAT ELISA			
Adrenaline	Urine	Concentration [ng/ml]	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
		5.2	36.5
		17.8	24.4
		54.2	25.2
	Plasma	Concentration [pg/ml]	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
		76.4	29.8
Noradrenaline	Urine	Concentration [ng/ml]	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
		19.5	40.8
		80.6	27.6
		226	35.7
	Plasma	Concentration [pg/ml]	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
		445	20.1
Dopamine	Urine	Concentration [ng/ml]	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
		79.3	47.7
		222	24.7
		630	22.6
	Plasma	Concentration [pg/ml]	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
		238	56.6

* This defines an interval about the measured result that will include the true value with a probability of 95%.

10. References/Literature

- Kim, H., et al., *Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in Gulo(-/-)Vit C-Insufficient mice*. Free Radic Biol Med, 2013. **65**: p. 573-583.
- Bada, A.A., et al., *Peripheral vasodilatation determines cardiac output in exercising humans: insight from atrial pacing*. J Physiol, 2012. **590**(8): p. 2051-60.
- Parks, C.G., et al., *Employment and work schedule are related to telomere length in women*. Occup Environ Med, 2011. **68**(8): p. 582-9.
- Eisenhofer, G., C. Pamporaki, and J.W.M. Lenders, *Biochemical Assessment of Pheochromocytoma and Paraganglioma*. Endocr Rev, 2023. **44**(5): p. 862-909.

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
20.0	2025-05-20	2.1 2.2.2 4.1 9.1 9.2 10	- Updated - Drugs + foods that affect concentrations of catecholamines added - BA E-0040: Hazard labelling updated according to SDS - Lot-to-lot added; recovery urine updated - Metrological Traceability added - Updated

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 acyliert und anschließend enzymatisch umgewandelt.

Der sich anschließende kompetitive ELISA basiert auf dem Mikrotiterplattenformat. Das Antigen ist an die feste Phase der Mikrotiterplatte gebunden. Die acylierten 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 unbekannten 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) Standards, Kontrollen und 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) 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.
 - (16) Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende, potenziell infektiöse Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.
 - (17) Die in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen erwarteten Referenzwerte dienen nur als Hinweis. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwertintervalle erstellt.
 - (18) 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.
 - (19) 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

Medikamente wie blutdrucksenkende Mittel, Antidepressiva, Sympathomimetika, Antipsychotika und L-DOPA können die Konzentrationen der Katecholamine beeinflussen. Ein Absetzen der Medikamente vor der Sammelperiode muss mit dem behandelnden Arzt besprochen werden.

Auch koffeinhaltige Getränke, Alkohol, Nikotin, stimmungsaufhellende Drogen und catecholaminreiche Nahrung (wie z. B. Bananen, Käse, Nüsse, Schokolade, Tomaten oder Bohnen) können die Konzentrationen der Katecholamine beeinflussen und sollten ab 3 Tage vor und während der Sammelperiode (Urin) vermieden werden. Zudem sollte darauf geachtet werden, Stress und körperliche Belastung kurz vor und während der Sammelperiode zu vermeiden.

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	
Gefahrenpiktogramme:		
Signalwort:	Achtung	
Gefährliche Inhaltsstoffe:	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on	
Gefahrenhinweise:	H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen.	
Sicherheitshinweise:	P280 Schutzhandschuhe tragen. P302+P352 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen. P333+P313 Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. P501 Inhalt/Behälter autorisierter Abfallsammelstelle zuführen.	
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	 ADR  MN	Adrenalin Mikrotiterstreifen – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 x 96 Wells (12x8) Antigen vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem blauen wiederverschließbaren Beutel	
BA E-0231	 NAD  NMN	Noradrenalin Mikrotiterstreifen – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 x 96 Wells (12x8) Antigen vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem gelben wiederverschließbaren Beutel	
BA E-0331	 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	Acylierungsreagenz – gebrauchsfertig
Inhalt:	Acylierungsreagenz 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	Acylierungspuffer – gebrauchsfertig
Inhalt:	Leicht basischer Puffer zur Acylierung 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:	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
	48	
Inhalt:	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/Fläschchen
			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

Vereinzelte 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.

Acylierungsreagenz

Das **ACYL-REAG** (BA E-6612) hat einen Gefrierpunkt von 18,5 °C. Um sicherzustellen, 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 Acylierung

⚠ ** 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 nicht 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 WU 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 unbekannten 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 Noradrenalinkonzentrationen** müssen durch **30 dividiert** werden.

Die aus der Kurve abgelesenen **Dopaminkonzentrationen** 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]

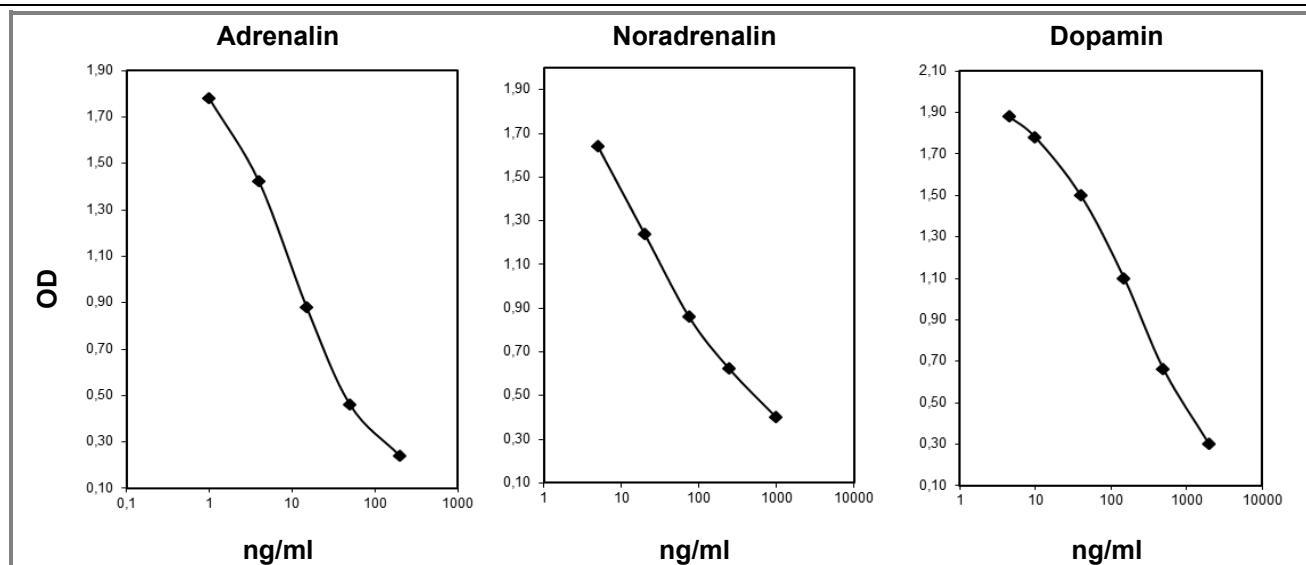
7.1 Erwartete Referenzbereiche

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 unbekannten 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)				Intra-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

Lot-zu-Lot				
Adrenalin (n = 5)	Urin	Probe	Mittelwert ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	6,6 ± 0,9	13,7
		2	23,5 ± 1,5	6,2
	Plasma	Probe	Mittelwert ± SD [pg/ml]	CV [%]
		1	202 ± 26,7	11,8
Noradrenalin (n = 6)	Urin	Probe	Mittelwert ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	124 ± 13,2	10,7
		2	29,3 ± 3,7	12,6
	Plasma	Probe	Mittelwert ± SD [pg/ml]	CV [%]
		1	1.071 ± 97,3	5,3
Dopamin (n = 6)	Urin	Probe	Mittelwert ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	189 ± 14,7	7,8
		2	678 ± 39,3	5,8

Die Wiederfindung wurde bestimmt nach dem CLSI Standard EP 34 1st ed.

Wiederfindung				
Adrenalin	Urin	Bereich [ng/ml]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		0,27 – 61	95	89 – 98
	Plasma	Bereich [pg/ml]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		9,1 – 4.268	105	88 – 117
Noradrenalin	Urin	Bereich [ng/ml]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		1,8 – 249	96	70 – 118
	Plasma	Bereich [pg/ml]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		51 – 14.251	87	75 – 107
Dopamin	Urin	Bereich [ng/ml]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		9,2 – 762	112	106 – 117
	Plasma	Bereich [pg/ml]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		57,4 – 16.054	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

9.2 Metrologische Rückführbarkeit

Die den Standards und Kontrollen des 3-CAT ELISA zugewiesenen Werte sind durch Wägung mit qualitätskontrollierten Analyten auf SI-Einheiten rückführbar.

Standards und Kontrollen	
	Unsicherheit [%]
Adrenalin	3,5
Noradrenalin	4,1
Dopamin	2,5

3-CAT ELISA			
Adrenalin	Urin	Konzentration [ng/ml]	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
		5,2	36,5
		17,8	24,4
		54,2	25,2
	Plasma	Konzentration [pg/ml]	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
		76,4	29,8
Noradrenalin	Urin	Konzentration [ng/ml]	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
		19,5	40,8
		80,6	27,6
		226	35,7
	Plasma	Konzentration [pg/ml]	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
		445	20,1
Dopamin	Urin	Konzentration [ng/ml]	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
		79,3	47,7
		222	24,7
		630	22,6
	Plasma	Konzentration [pg/ml]	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
		238	56,6

* Das Intervall der maximalen erweiterten Unsicherheit ist der Bereich, in dem der wahre Messwert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% um den gemessenen Wert liegt.

10. Referenzen/Literatur

- Kim, H., et al., *Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in Gulo(-/-)Vit C-Insufficient mice*. Free Radic Biol Med, 2013. **65**: p. 573-583.
- Bada, A.A., et al., *Peripheral vasodilatation determines cardiac output in exercising humans: insight from atrial pacing*. J Physiol, 2012. **590**(8): p. 2051-60.
- Parks, C.G., et al., *Employment and work schedule are related to telomere length in women*. Occup Environ Med, 2011. **68**(8): p. 582-9.
- Eisenhofer, G., C. Pamporaki, and J.W.M. Lenders, *Biochemical Assessment of Pheochromocytoma and Paraganglioma*. Endocr Rev, 2023. **44**(5): p. 862-909.

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
20.0	2025-05-20	2.1	- Aktualisiert
		2.2.2	- Medikamente und Nahrungsmittel ergänzt, die Konzentrationen der Katecholamine beeinflussen
		4.1	- BA E-0040: Gefahrenkennzeichnung gemäß SDS aktualisiert
		9.1	- Lot-to-Lot hinzugefügt; Wiederfindung Urin aktualisiert
		9.2	- Metrologische Rückführbarkeit hinzugefügt
		10	- Aktualisiert

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 conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeits-datum	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

Productos relacionados:

- Adrenalina ELISA
- Noradrenalina ELISA
- Dopamina ELISA
- 2-CAT ELISA

1. Introducción**1.1 Uso previsto y principio de la prueba**

Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de adrenalina (epinefrina), noradrenalina (norepinefrina) y dopamina en plasma y orina.

La adrenalina (epinefrina), la noradrenalina (norepinefrina) y la dopamina se extraen utilizando un gel de afinidad específico para el cis-diol, se acilan y se convierten enzimáticamente.

El ELISA competitivo posterior utiliza el formato de placa de microtitulación. El antígeno se une a la fase sólida de la placa de microtitulación. Los estándares acilados, los controles y las muestras compiten con los analitos unidos a la fase sólida por un número fijo de sitios de unión de anticuerpos. Una vez que el sistema está en equilibrio, el antígeno libre y los complejos antígeno-anticuerpo libres se eliminan mediante lavado. El anticuerpo unido a la fase sólida se detecta mediante un conjugado IgG-peroxidasa anti-conejo utilizando TMB como sustrato dando lugar a una reacción de color. La reacción se controla a una longitud de onda de 450 nm.

La cuantificación de muestras desconocidas se consigue comparando su absorbancia con una curva de referencia preparada con concentraciones estándar conocidas. Se recomienda el procesamiento manual del ELISA. El uso de equipos automáticos de laboratorio es responsabilidad del usuario. Este diagnóstico in vitro es sólo para uso profesional.

1.2 Aplicación clínica

En los seres humanos, las catecolaminas adrenalina (epinefrina), noradrenalina (norepinefrina) y dopamina son neurotransmisores del sistema nervioso simpático y participan en muchos procesos fisiológicos. El sistema nervioso simpático pone al organismo en un estado de alerta, también conocido como respuesta de lucha o huida.

En el cuerpo humano, las catecolaminas y sus metabolitos indican la adaptación del organismo al estrés agudo y crónico.

Junto a la metanefrina/normetanefrina, las catecolaminas son importantes para el diagnóstico y el seguimiento de tumores del sistema simpatoadrenal como el feocromocitoma. Para el diagnóstico de estos tumores se prefiere la determinación cuantitativa de catecolaminas en orina, mientras que la determinación de catecolaminas en plasma es médicamente sensata para la localización del tumor y para las pruebas de función. Los valores por encima del punto de corte pueden ser indicativos de tumores neuroendocrinos.

Sin embargo, en la literatura se describen varias enfermedades como la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares, la esquizofrenia y la depresión maníaca con niveles anormalmente bajos o altos de catecolaminas.

Las consecuencias terapéuticas nunca deben basarse únicamente en los resultados de laboratorio, aunque estos resultados se evalúen de acuerdo con los criterios de calidad del método. Cualquier resultado de laboratorio es sólo una parte del cuadro clínico total del paciente.

Sólo en los casos en que los resultados de laboratorio concuerdan de forma aceptable con el cuadro clínico general del paciente, puede utilizarse para consecuencias terapéuticas.

2. Precauciones de procedimiento, directrices, advertencias y limitaciones**2.1 Precauciones de procedimiento, directrices y advertencias**

- (20) Este kit está destinado exclusivamente a uso profesional. Los usuarios deben tener un conocimiento profundo de este protocolo para el uso exitoso de este kit. Sólo son válidas las instrucciones de ensayo suministradas con el kit y deben utilizarse para realizar el ensayo. Sólo se obtendrá un rendimiento fiable si se siguen estricta y cuidadosamente las instrucciones proporcionadas.
- (21) Este ensayo ha sido validado para un determinado tipo de muestra, tal y como se indica en Uso previsto (consulte el Capítulo 1). Cualquier uso no indicado de este kit es responsabilidad del usuario y el fabricante no se hace responsable.
- (22) Deben seguirse los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).
- (23) Para reducir la exposición a sustancias potencialmente nocivas, utilice batas de laboratorio, guantes de protección desechables y gafas protectoras cuando sea necesario.
- (24) Si se producen incidentes graves relacionados con este producto, deben comunicarse al fabricante y a las autoridades nacionales competentes.
- (25) Todos los reactivos del kit y las muestras deben llevarse a temperatura ambiente y mezclarse suavemente pero a fondo antes de su uso. Para la dilución o reconstitución, utilice agua desionizada, destilada o ultrapura. Evite congelar y descongelar repetidamente los reactivos y las muestras.
- (26) La microplaca contiene tiras a presión. Los pocillos no utilizados deben almacenarse a 2 - 8° C en la bolsa de aluminio sellada con desecante y utilizarse en el marco suministrado. Las tiras de microtitulación que se retiren del marco para su uso deben marcarse como corresponde para evitar cualquier confusión.
- (27) Las estándares, los controles y las muestras deben analizarse por duplicado.

- (28) Una vez iniciada la prueba, todos los pasos deben completarse sin interrupción. Asegúrese de que los reactivos, materiales y dispositivos necesarios están preparados para su uso en el momento adecuado.
- (29) Los tiempos de incubación influyen en los resultados. Todos los pocillos deben manipularse en el mismo orden e intervalos de tiempo.
- (30) Para evitar la contaminación cruzada de reactivos, utilice puntas de pipeta desechables nuevas para dispensar cada reactivo, muestra, estándar y control.
- (31) Debe establecerse una curva estándar para cada serie.
- (32) Los controles deben incluirse en cada serie y estar dentro de los límites de confianza establecidos. Los límites de confianza figuran en el informe de control de calidad suministrado con el kit.
- (33) No mezcle componentes del kit con números de lote diferentes dentro de una misma prueba y no utilice reactivos cuya fecha de caducidad supere la indicada en las etiquetas del kit.
- (34) Para obtener información sobre las sustancias peligrosas incluidas en el kit, consulte la ficha de datos de seguridad (FDS). La ficha de datos de seguridad de este producto está disponible directamente en el sitio web del fabricante o previa solicitud.
- (35) Los reactivos del kit deben considerarse residuos peligrosos y eliminarse de acuerdo con la normativa nacional.
- (36) Los valores de referencia esperados que se indican en estas instrucciones de ensayo son sólo indicativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.
- (37) En caso de que el kit de ensayo o sus componentes presenten daños graves, deberá informarse al fabricante por escrito, a más tardar una semana después de recibir el kit. Los componentes individuales gravemente dañados no deben utilizarse para una prueba. Deben almacenarse adecuadamente hasta que el fabricante decida qué hacer con ellos. Si se decide que ya no son adecuados para las mediciones, deben eliminarse de acuerdo con la normativa nacional.
- (38) Los resultados obtenidos con este kit de pruebas no deben tomarse como la única razón de cualquier consecuencia terapéutica, sino que deben correlacionarse con otras pruebas diagnósticas y observaciones clínicas.

2.2 Limitaciones

Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificación de esta prueba podría influir en los resultados.

2.2.1 Sustancias interferentes y manipulación adecuada de las muestras

Plasma

Las muestras que contienen precipitados o hebras de fibrina o que son hemolíticas o lipémicas pueden causar resultados inexactos. Las muestras hemolíticas (hasta 4 mg/ml de hemoglobina), ictericas (hasta 50 mg/dl de bilirrubina) y lipémicas (hasta 800 mg/dl de triglicéridos) no influyen en los resultados del ensayo.

Si no se pueden estimar las concentraciones y existen dudas sobre el cumplimiento de los valores límite anteriores para muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas, las muestras no deben utilizarse en el ensayo.

Orina de 24 horas

¡Tenga en cuenta la toma de muestras! Si el porcentaje de la concentración final de ácido es demasiado alto, se obtendrán resultados incorrectos de las muestras de orina.

2.2.2 Interferencias medicamentosas y alimentarias

Los medicamentos como los antihipertensivos, los antidepresivos, los simpaticomiméticos, los antipsicóticos y la L-DOPA pueden afectar las concentraciones de catecolaminas. La suspensión de la medicación antes del periodo de recolección debe discutirse con el médico tratante.

Las bebidas con cafeína, el alcohol, la nicotina, los fármacos que mejoran el estado de ánimo y los alimentos ricos en catecolaminas (como los plátanos, el queso, los frutos secos, el chocolate, los tomates o las judías) también pueden afectar a las concentraciones de catecolaminas y deben evitarse desde tres días antes y durante el periodo de recolección (orina). También se debe tener cuidado de evitar el estrés y el esfuerzo físico poco antes y durante el periodo de recolección.

2.2.3 Efecto gancho de alta dosis

No se observó ningún efecto gancho en esta prueba.

3. Almacenamiento y estabilidad

Conservar el kit y los reactivos a 2 - 8 °C hasta la fecha de caducidad. No utilizar el kit y los componentes después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del kit. Una vez abiertos, los reactivos son estables durante 2 meses almacenados a 2 - 8 °C. Una vez abierta la bolsa resellable de la placa ELISA, debe tenerse la precaución de volver a cerrarla herméticamente incluyendo el desecante.

4. Materiales

4.1 Contenido del kit

BA D-0090

FOILS

Lámina adhesiva - lista para usar

Contenido:	Láminas adhesivas en bolsa resellable
Número:	3 x 4 láminas
BA E-0030	WASH-CONC 50x Concentrado de tampón de lavado - concentrado 50x
Contenido:	Tampón con detergente no iónico y pH fisiológico
Volumen:	3 x 20 ml/vial, tapón morado
BA E-0040	CONJUGATE Conjugado enzimático - listo para usar
Contenido:	Inmunoglobulinas de cabra anti-conejo conjugadas con peroxidasa
Volumen:	3 x 12 ml/vial, tapón rojo
Descripción:	La especie es la cabra
Identificación de peligros:	 GHS07
Palabra clave:	Advertencia
Ingredientes peligrosos:	2-metil-2H-isotiazol-3-ona
Declaraciones de peligro:	H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel..
Consejos de precaución:	P280 Utilizar guantes de protección. P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua. P333+P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Acudir a un médico. P501 Eliminar el contenido/recipiente en un punto de recogida de residuos autorizado.
BA E-0055	SUBSTRATE Sustrato - listo para usar
Contenido:	Sustrato cromogénico que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbencidina, tampón de sustrato y peróxido de hidrógeno.
Volumen:	3 x 12 ml/vial, tapón negro
BA E-0080	STOP-SOLN Solución Stop - lista para usar
Contenido:	Ácido sulfúrico 0,25 M
Volumen:	3 x 12 ml/vial, tapón gris
BA E-0131	ADR MN Tiras de microtitulación de adrenalina - listas para usar
Contenido:	1 placa de micropocillos de 96 pocillos (12x8) precubierta de antígeno en una bolsa azul resellable con desecante
BA E-0231	ADR NMN Tiras de microtitulación de noradrenalina - listas para usar
Contenido:	1 placa de micropocillos de 96 pocillos (12x8) precubierta de antígeno en una bolsa amarilla resellable con desecante
BA E-0331	DOP Tiras de microtitulación de dopamina - listas para usar
Contenido:	1 placa de micropocillos de 96 pocillos (12x8) precubierta de antígeno en una bolsa verde resellable con desecante
BA E-6110	ADR-AS Antisuero de adrenalina - listo para usar
Contenido:	Anticuerpo anti-adrenalina de conejo en tampón con proteínas y conservante sin mercurio, de color azul
Volumen:	1 x 6 ml/vial, tapón azul
Descripción:	La especie del anticuerpo es conejo, la especie de la proteína en el tampón es bovina
BA E-6210	NAD-AS Antisuero de noradrenalina - listo para usar
Contenido:	Anticuerpo conejo anti-noradrenalina en tampón con proteínas y conservante sin mercurio, de color amarillo
Volumen:	1 x 6 ml/vial, tapón amarillo

Descripción:	La especie del anticuerpo es conejo, la especie de la proteína en el tampón es bovina	
BA E-6310	DOP-AS	Antisuero de dopamina - listo para usar
Contenido:	Anticuerpo antidopamina de conejo en tampón con proteínas y conservante sin mercurio, de color verde	
Volumen:	1 x 6 ml/vial, tapón verde	
Descripción:	La especie del anticuerpo es conejo, la especie de la proteína en el tampón es bovina	
BA E-6612	ACYL-REAG	Reactivo de acilación - listo para usar
Contenido:	Reactivo de acilación en DMSO	
Volumen:	1 x 3 ml/vial, tapón blanco	
BA R-0050	ADJUST-BUFF	Tampón de ajuste - listo para usar
Contenido:	Tampón TRIS	
Volumen:	2 x 4 ml/vial, tapón verde	
BA R-6611	ACYL-BUFF	Tampón de acilación - listo para usar
Contenido:	Tampón con pH ligeramente alcalino para la acilación	
Volumen:	1 x 20 ml/vial, tapón blanco	
BA R-6613	ASSAY-BUFF	Tampón de ensayo - listo para usar
Contenido:	Ácido clorhídrico 1 M y un conservante sin mercurio	
Volumen:	1 x 6 ml/vial, tapón gris	
Pictogramas de peligro:		
	GHS05	
Palabra clave:	Peligro	
Indicaciones de peligro:	H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.	
Consejos de prudencia:	P280 Llevar guantes de protección, ropa de protección, protección ocular. P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el cabello): Quitarse inmediatamente toda la ropa contaminada. Aclarar la piel con agua. P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si están presentes y es fácil hacerlo. Continuar enjuagando. P310 Llamar inmediatamente a un médico, a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA. P501 Eliminar el contenido/el recipiente en un punto de recogida de residuos autorizado.	
BA R-6614	COENZYME	Coenzima - listo para usar
Contenido:	S-adenosil-L-metionina	
Volumen:	1 x 4 ml/vial, tapón morado	
BA R-6615	ENZYME	Enzima - liofilizada
Contenido:	Catecol-O-metiltransferasa	
Volumen:	6 viales, tapón rosa	
Descripción:	Catecol-O-metiltransferasa de hígado de cerdo	
BA R-6617	EXTRACT-BUFF	Tampón de extracción - listo para usar
Contenido:	Tampón que contiene carbonato	
Volumen:	1 x 6 ml/vial, tapón marrón	
BA R-6618	EXTRACT-PLATE	Placa de extracción - lista para usar
	48	

Contenido: 2 placas de 48 pocillos recubiertas con gel de afinidad de boronato en una bolsa resellable

BA R-6619 **HCL** **Ácido clorhídrico** - listo para usar

Contenido: Ácido clorhídrico 0,025 M, de color amarillo

Volumen: 1 x 20 ml/vial, tapón verde

4.2 Calibración y controles

Estándares y controles: listos para usar

Nº de cat.	Componente	Color/T apa	Concentración [ng/ml]			Concentración [nmol/l]			Volumen/ Vial
			ADR	NAD	DOP	ADR	NAD	DOP	
BA E-6601	STANDARD A	blanco	0	0	0	0	0	0	4 ml
BA E-6602	STANDARD B	amarillo	1	5	10	5,5	30	65	4 ml
BA E-6603	STANDARD C	naranja	4	20	40	22	118	261	4 ml
BA E-6604	STANDARD D	azul	15	75	150	82	443	980	4 ml
BA E-6605	STANDARD E	gris	50	250	500	273	1.478	3.265	4 ml
BA E-6606	STANDARD F	negro	200	1.000	2.000	1.092	5.910	13.060	4 ml
BA E-6609	STANDARD A/B	morado	-	-	4,5	-	-	29	4 ml
BA E-6651	CONTROL 1	verde	Consulte el informe de control de calidad para conocer el valor esperado y el intervalo aceptable.						4 ml
BA E-6652	CONTROL 2	rojo							4 ml

Conversión: adrenalina [ng/ml] x 5,46 = adrenalina [nmol/l].
noradrenalina [ng/ml] x 5,91 = noradrenalina [nmol/l].
dopamina [ng/ml] x 6,53 = dopamina [nmol/l].

Contenido: Tampón ácido con estabilizador sin mercurio, enriquecido con una cantidad definida de adrenalina, noradrenalina y dopamina.

⚠ **¡Para la determinación de dopamina en plasma es obligatoria la **Norma adicional A/B!***

4.3 Material adicional necesario pero no incluido en el kit

- Agua (desionizada, destilada o ultrapura)
- Material absorbente (toalla de papel)

4.4 Equipamiento adicional necesario pero no incluido en el kit

- Pipetas de precisión calibradas para dispensar volúmenes entre 10 y 700 µl; 1 ml
- Dispositivo de lavado de placas de microtitulación (manual, semiautomático o automatizado)
- Lector ELISA capaz de leer la absorbancia a 450 nm y, si es posible, a 620 - 650 nm.
- Agitador de placas microtiter (amplitud de agitación 3 mm; aprox. 600 rpm)
- Mezclador vórtex

5. Recolección, manipulación y almacenamiento de muestras

Plasma

La sangre total debe recolectarse en tubos de centrifuga que contengan EDTA como anticoagulante y centrifugarse siguiendo las instrucciones del fabricante inmediatamente después de la recolección.

En caso de muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas, véase 2.2.1.

Almacenamiento: hasta 6 horas a 2 - 8 °C, durante más tiempo (hasta 6 meses) a -20 °C.

Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas.

Orina

Puede utilizarse orina espontánea u orina de 24 horas, recolectada en un frasco que contenga 10 - 15 ml de HCl 6 M. Si se utiliza orina de 24 horas, registre el volumen total de la orina recolectada.

Almacenamiento: hasta 48 horas a 2 - 8 °C, hasta 24 horas a temperatura ambiente, durante períodos más largos (hasta 6 meses) a -20 °C. Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas.

Evitar la exposición directa al sol.

6. Procedimiento de ensayo

Deje que todos los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente y mézclelos bien por inversión suave antes de utilizarlos. Numere la placa de extracción y las placas de micropocillos (las tiras de micropocillos que se retiren del bastidor para su uso deben marcarse en consecuencia para evitar cualquier confusión). Se recomienda realizar determinaciones por duplicado.

La unión de los antisueros y del conjugado enzimático y la actividad de la enzima dependen de la temperatura. Cuanto mayor sea la temperatura, mayores serán los valores de absorción. La variación de los tiempos de incubación tendrá una influencia similar en la absorbancia. La temperatura óptima durante el inmunoensayo enzimático se sitúa entre 20 - 25 °C.

⚠ *Es obligatorio el uso de un agitador de placas de microtitulación con las siguientes especificaciones: amplitud de agitación 3 mm; aprox. 600 rpm. La agitación con ajustes diferentes podría influir en los resultados.*

6.1 Preparación de reactivos y notas adicionales

Tampón de lavado

Diluir el tampón de lavado concentrado **WASH-CONC** **50X** de 20 ml con agua hasta un volumen final de 1000 ml.

Conservación: 2 meses a 2 - 8 °C

Solución enzimática

Reconstituir el contenido del vial **ENZYME** con 1 ml de agua (desionizada, destilada o ultrapura) y mezclar bien. Añadir 0,3 ml de **COENZYME** de 0,7 ml de **ADJUST-BUFF**. El volumen total de la Solución Enzimática es de 2,0 ml.

⚠ *La solución enzimática debe prepararse fresca antes del ensayo (no más de 10 - 15 minutos antes). Deséchela después de usarla.*

Tiras de microtitulación de adrenalina, tiras de microtitulación de noradrenalina y tiras de microtitulación de dopamina

En raras ocasiones pueden verse residuos del reactivo bloqueante y estabilizante en los pocillos en forma de pequeños puntos o líneas blancas. Estos residuos no influyen en la calidad del producto.

Reactivo de acilación

El **ACYL-REAG** (BA E-6612) tiene un punto de congelación de 18,5 °C. Para que esté líquido en el momento de su utilización, antes de utilizarlo debe asegurarse de que el reactivo de acilación haya alcanzado la temperatura ambiente y forme una solución homogénea y sin cristales.

6.2 Preparación de la muestra, extracción y acilación

⚠️ *;Para la determinación de dopamina en plasma es obligatoria la **Norma adicional A/B!**

1.	Pipetear 10 µl de estándares, controles, muestras de orina y 300 µl de muestras de plasma en los pocillos respectivos de la EXTRACT-PLATE 48 .		
2.	Añadir 250 µl de agua (desionizada, destilada o ultrapura) a los pocillos con estándares, controles y muestras de orina .		
3.	Pipetear 50 µl de ASSAY-BUFF en todos los pocillos.		
4.	Pipetear 50 µl de EXTRACT-BUFF en todos los pocillos.		
5.	Cubrir la placa con FOILS e incubar 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).		
6.	Retire la lámina. Vacíe la placa y séquela dando golpecitos con la placa invertida sobre material absorbente.		
7.	Pipetear 1 ml de tampón de lavado en todos los pocillos. Incubar la placa durante 5 minutos a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm). Vaciar la placa y secar dando golpecitos a la placa invertida sobre material absorbente.		
8.	Pipetear 1 ml más de tampón de lavado en todos los pocillos. Incubar la placa durante 5 minutos a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm). Vaciar la placa y secar dando golpecitos con la placa invertida sobre material absorbente.		
9.	Pipetear 150 µl de ACYL-BUFF en todos los pocillos.		
10.	Pipetear 25 µl de ACYL-REAG en todos los pocillos.		
11.	Incubar 15 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).		
12.	Vacíe la placa y séquela dando golpecitos con la placa invertida sobre material absorbente.		
13.	Pipetear 1 ml de tampón de lavado en todos los pocillos. Incubar la placa durante 10 minutos a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm). Vaciar la placa y secar dando golpecitos con la placa invertida sobre material absorbente.		
14.	Pipetear 175 µl de HCL en todos los pocillos.		
15.	Cubrir la placa con FOILS . Incubar 10 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm). Retire el papel de aluminio y deséchelo.		
⚠	No decantar después el sobrenadante.		
Los siguientes volúmenes del sobrenadante son necesarios para el ELISA subsiguiente:			
Adrenalina	100 µl	Noradrenalina	20 µl
Dopamina (estándares + orina)	25 µl	Dopamina (plasma)	50 µl

6.3 Adrenalina ELISA

1.	Pipetee 25 µl de la solución enzimática (consulte 6.1) en todos los pocillos de las tiras de microtitulación de adrenalina ADR MN .
2.	Pipetear 100 µl de los estándares, controles y muestras extraídos en los pocillos correspondientes.
3.	Incubar durante 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
4.	Pipetear 50 µl del ADR-AS en todos los pocillos y cubrir la placa con FOILS .
5.	Incubar durante 2 h a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
6.	Retirar la lámina. Desechar o aspirar el contenido de los pocillos. Lavar la placa 3 veces añadiendo 300 µl de tampón de lavado, desechando el contenido y secando cada vez dando golpecitos a la placa invertida sobre material absorbente.
7.	Pipetear 100 µl del CONJUGATE en todos los pocillos.
8.	Incubar durante 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
9.	Desechar o aspirar el contenido de los pocillos. Lavar la placa 3 veces añadiendo 300 µl de tampón de lavado, desechando el contenido y secar cada vez golpeando la placa invertida sobre material absorbente.
10.	Pipetear 100 µl del SUBSTRATE en todos los pocillos e incubar durante 25 ± 5 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).  Evitar la exposición directa a la luz solar.
11.	Añadir 100 µl de STOP-SOLN a todos los pocillos y agitar brevemente la placa de microtitulación.
12.	Leer la absorbancia de la solución en los pocillos en 10 minutos, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm (si se dispone de él, se recomienda una longitud de onda de referencia entre 620 nm y 650 nm).

6.4 Noradrenalina ELISA

1.	Pipetee 25 µl de la solución enzimática (consulte 6.1) en todos los pocillos de las tiras de microtitulación de noradrenalina NAD NMN .
2.	Pipetear 20 µl de los estándares, controles y muestras extraídos en los pocillos correspondientes.
3.	Incubar durante 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
4.	Pipetear 50 µl del NAD-AS en todos los pocillos y cubrir la placa con FOILS .
5.	Incubar durante 2 h a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
6.	Retirar la lámina. Desechar o aspirar el contenido de los pocillos. Lavar la placa 3 veces añadiendo 300 µl de tampón de lavado, desechando el contenido y secando cada vez dando golpecitos a la placa invertida sobre material absorbente.
7.	Pipetear 100 µl del CONJUGATE en todos los pocillos.
8.	Incubar durante 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
9.	Desechar o aspirar el contenido de los pocillos. Lavar la placa 3 veces añadiendo 300 µl de tampón de lavado, desechando el contenido y secar cada vez golpeando la placa invertida sobre material absorbente.
10.	Pipetear 100 µl del SUBSTRATE en todos los pocillos e incubar durante 25 ± 5 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).  Evitar la exposición directa a la luz solar.
11.	Añadir 100 µl de STOP-SOLN a todos los pocillos y agitar brevemente la placa de microtitulación.
12.	Leer la absorbancia de la solución en los pocillos en 10 minutos, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm (si se dispone de él, se recomienda una longitud de onda de referencia entre 620 nm y 650 nm).

6.5 Dopamina ELISA

1.	Pipetee 25 µl de la solución enzimática (consulte 6.1) en todos los pocillos de las tiras de microtitulación de dopamina [W DOP] .
2.	Pipetear 25 µl de los estándares extraídos, controles , muestras de orina y 50 µl de las muestras de plasma extraídas en los pocillos apropiados.
3.	Añadir 25 µl de [HCL] a los estándares , controles y muestras de orina .
4.	Incubar durante 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
5.	Pipetear 50 µl del [DOP-AS] en todos los pocillos y cubrir la placa con [FOILS] .
6.	Incubar durante 2 h a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
7.	Retirar la lámina. Desechar o aspirar el contenido de los pocillos. Lavar la placa 3 veces añadiendo 300 µl de tampón de lavado , desechando el contenido y secando cada vez dando golpecitos a la placa invertida sobre material absorbente.
8.	Pipetear 100 µl del [CONJUGATE] en todos los pocillos.
9.	Incubar durante 30 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).
10.	Desechar o aspirar el contenido de los pocillos. Lavar la placa 3 veces añadiendo 300 µl de tampón de lavado , desechar el contenido y secar cada vez golpeando la placa invertida sobre material absorbente.
11.	Pipetear 100 µl del [SUBSTRATE] en todos los pocillos e incubar durante 25 ± 5 min a TA (20 - 25 °C) en un agitador (aprox. 600 rpm).  Evitar la exposición directa a la luz solar.
12.	Añadir 100 µl de [STOP-SOLN] a todos los pocillos y agitar brevemente la placa de microtitulación.
13.	Leer la absorbancia de la solución en los pocillos en 10 minutos, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm (si se dispone de él, se recomienda una longitud de onda de referencia entre 620 nm y 650 nm).

7. Cálculo de los resultados

Rango de medición		Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
	Orina	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

La curva estándar, que puede utilizarse para determinar la concentración de las muestras desconocidas, se obtiene trazando las lecturas de absorbancia (calcular la absorbancia media) de los estándares (lineal, eje y) frente a las concentraciones estándar correspondientes (logarítmica, eje x) utilizando una concentración de 0,001 ng/ml para el estándar A (esta alineación es obligatoria debido a la presentación logarítmica de los datos). Utilizar la regresión no lineal para el ajuste de curvas (por ejemplo, 4 parámetros, marquardt).

 Este ensayo es un ensayo competitivo. Esto significa que los valores de DO disminuyen con el aumento de la concentración del analito. Los valores DO encontrados por debajo de la curva estándar corresponden a altas concentraciones del analito en la muestra y deben ser reportados como positivos.

Muestras de orina y controles

Las concentraciones de las **muestras de orina** y de los **Controles** pueden leerse directamente a partir de la curva estándar.

Calcular la excreción de 24 h para cada muestra de orina: $\mu\text{g}/24\text{h} = \mu\text{g}/\text{l} \times \text{l}/24\text{h}$

Muestras de plasma

Las concentraciones leídas de **Adrenalina** y **Noradrenalina** de las **muestras de plasma** deben **dividirse por 30**.

Las concentraciones de **Dopamina** leídas de las **muestras de plasma** deben **dividirse por 60**.

Conversión:

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

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

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

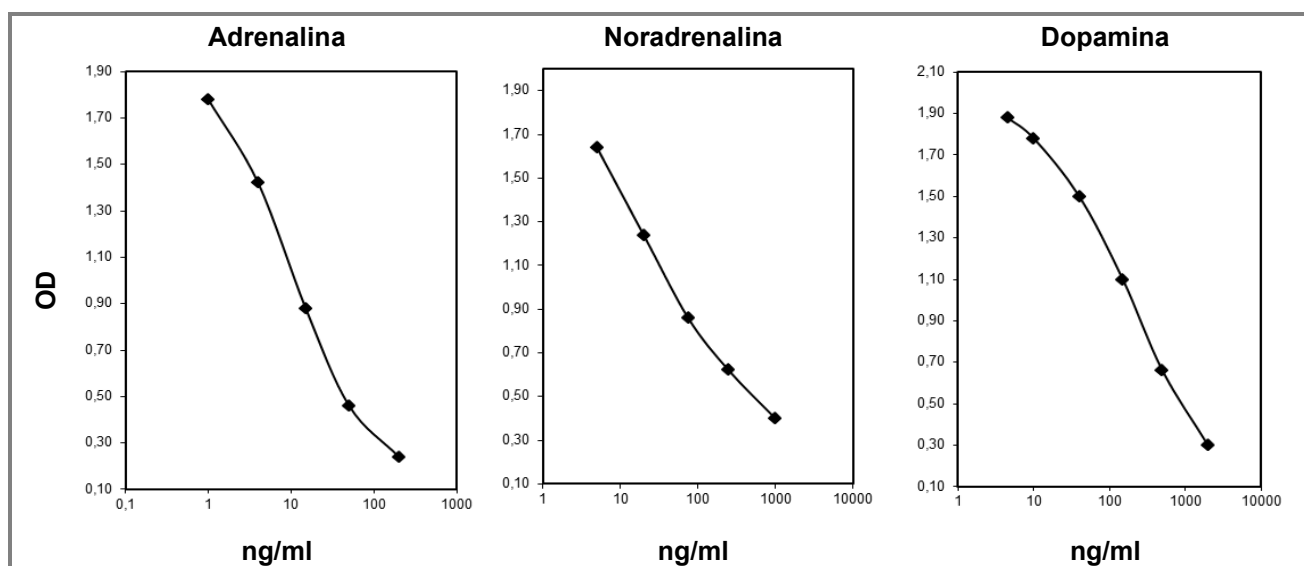
7.1 Valor de referencia previsto

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio determine sus propios valores de referencia.

	Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Orina de 24 horas	< 20 µg/día (110 nmol/día)	< 90 µg/día (535 nmol/día)	< 600 µg/día (3,900 nmol/día)
Plasma	< 100 pg/ml	< 600 pg/ml	< 100 pg/ml

7.2 Curva estándar típica

⚠ Ejemplos: ¡No utilizar para cálculos!

**8. Muestras de control**

Se recomienda utilizar muestras de control de acuerdo con la normativa nacional. Utilice controles tanto normales como patológicos. Las muestras de control obtenidas comercialmente deben tratarse como muestras desconocidas. Las muestras de control deben estar dentro de los límites de confianza establecidos. Los límites de confianza de los controles del kit se indican en el QC-Report.

9. Características del ensayo**9.1 Datos de rendimiento**

Sensibilidad analítica				
		Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Límite de blanco (LOB)	Orina [ng/ml]	0,8	1,5	2,2
	Plasma [pg/ml]	9,3	32	43
Límite de detección (LOD)	Orina [ng/ml]	0,9	1,7	2,5
	Plasma [pg/ml]	10	36	49
Límite de cuantificación (LOQ)	Orina [ng/ml]	0,7	2,5	4,8
	Plasma [pg/ml]	18	93	75

Especificidad analítica (reactividad cruzada)			
Sustancia	Reactividad cruzada [%]		
	Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Adrenalina derivatizada	100	0,08	0,02
Noradrenalina derivatizada	0,13	100	6,4
Dopamina derivatizada	< 0,01	0,03	100
Metanefrina	0,18	< 0,01	< 0,01
Normetanefrina	< 0,01	0,16	0,01
3-Metoxitiramina	< 0,01	< 0,01	0,49
3-Metoxi-4-hidroxifenilglicol	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Tiramina	< 0,01	< 0,01	0,18
Fenilalanina, ácido cafeínico, L-Dopa, ácido homovanílico, tirosina, ácido 3-metoxi-4-hidroximandélico	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Precisión							
Orina intraensayo (n = 60)				Plasma intraensayo (n = 60)			
	Muestra	Intervalo [ng/ml]	CV [%]		Muestra	Intervalo [pg/ml]	CV [%]
Adrenalina	1	6,2 ± 1,1	17,4	Adrenalina	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
Noradrenalina	1	26,1 ± 3,6	13,8	Noradrenalina	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
Dopamina	1	82 ± 16,1	19,7	Dopamina	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
Orina entre ensayos (n = 33)				Plasma entre ensayos (n = 18)			
	Muestra	Intervalo [ng/ml]	CV [%]		Muestra	Intervalo [pg/ml]	CV [%]
Adrenalina	1	5,2 ± 0,9	17,9	Adrenalina	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
Noradrenalina	1	19,5 ± 3,9	20,0	Noradrenalina	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
Dopamina	1	79,3 ± 18,8	23,7	Dopamina	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

Lote a lote				
Adrenalina (n = 5)	Orina	Muestra	Media ± DE [ng/ml]	CV [%]
		1	6,6 ± 0,9	13,7
		2	23,5 ± 1,5	6,2
	Plasma	Muestra	Media ± DE [pg/ml]	CV [%]
		1	202 ± 26,7	11,8
Noradrenalina (n = 6)	Orina	Muestra	Media ± DE [ng/ml]	CV [%]
		1	124 ± 13,2	10,7
		2	29,3 ± 3,7	12,6
	Plasma	Muestra	Media ± DE [pg/ml]	CV [%]
		1	1.071 ± 97,3	5,3
Dopamina (n = 6)	Orina	Muestra	Media ± DE [ng/ml]	CV [%]
		1	189 ± 14,7	7,8
		2	678 ± 39,3	5,8

La recuperación se determinó según la norma CLSI EP 34, 1.^a ed.

Recuperación				
Adrenalina	Orina	Gama [ng/ml]	Media [%]	Intervalo [%]
		0,27 – 61	95	89 – 98
	Plasma	Gama [pg/ml]	Media [%]	Intervalo [%]
		9,1 – 4.268	105	88 – 117
Noradrenalina	Orina	Gama [ng/ml]	Media [%]	Intervalo [%]
		1,8 – 249	96	70 – 118

Dopamina	Plasma	Gama [pg/ml]	Media [%]	Intervalo [%]
		51 – 14.251	87	75 – 107
	Orina	Gama [ng/ml]	Media [%]	Intervalo [%]
		9,2 – 762	112	106 – 117
	Plasma	Gama [pg/ml]	Media [%]	Intervalo [%]
		57,4 – 16.054	89	84 – 92

Linealidad				
		Dilución en serie hasta	Media [%]	Intervalo [%]
Adrenalina	Orina	1:512	108	92 - 123
	Plasma	1:512	105	94 - 115
Noradrenalina	Orina	1:512	112	100 - 127
	Plasma	1:512	112	102 - 125
Dopamina	Orina	1:512	104	83 - 126
	Plasma	1:512	106	85 - 132

9.2 Trazabilidad metrológica

Los valores asignados a los estándares y controles del ELISA 3-CAT son trazables a las unidades del Sistema Internacional (SI) mediante pesaje con analito de calidad controlada.

Standards and Controls	
	Incertidumbre [%]
Adrenalina	3,5
Noradrenalina	4,1
Dopamina	2,5

3-CAT ELISA			
Adrenalina	Orina	Concentración [ng/ml]	Incertidumbre ampliada [%] k = 2*
		5,2	36,5
		17,8	24,4
		54,2	25,2
	Plasma	Concentración [pg/ml]	Incertidumbre ampliada [%] k = 2*
		76,4	29,8
Noradrenalina	Orina	Concentración [ng/ml]	Incertidumbre ampliada [%] k = 2*
		19,5	40,8
		80,6	27,6
		226	35,7
	Plasma	Concentración [pg/ml]	Incertidumbre ampliada [%] k = 2*
		445	20,1
Dopamina	Orina	Concentración [ng/ml]	Incertidumbre ampliada [%] k = 2*
		79,3	47,7
		222	24,7
		630	22,6
	Plasma	Concentración [pg/ml]	Incertidumbre ampliada [%] k = 2*
		238	56,6

* Define un intervalo en torno al resultado medido que incluirá el valor verdadero con una probabilidad del 95 %.

10. Referencias/Literatura

1. Kim, H., et al., *Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in Gulo(-/-) Vit C-Insufficient mice*. Free Radic Biol Med, 2013. **65**: p. 573-583.
2. Bada, A.A., et al., *Peripheral vasodilatation determines cardiac output in exercising humans: insight from atrial pacing*. J Physiol, 2012. **590**(8): p. 2051-60.
3. Parks, C.G., et al., *Employment and work schedule are related to telomere length in women*. Occup Environ Med, 2011. **68**(8): p. 582-9.
4. Eisenhofer, G., C. Pamporaki, and J.W.M. Lenders, *Biochemical Assessment of Pheochromocytoma and Paraganglioma*. Endocr Rev, 2023. **44**(5): p. 862-909.

Para obtener documentación actualizada o cualquier otra información, póngase en contacto con su proveedor local.

11. Cambios

Versión	Fecha de publicación	Capítulo	Cambia
19.0	2023-11-28	4.1	- Etiquetado de peligros actualizado según SDS
20.0	2025-05-20	2.1 2.2.2 4.1 7.1 9.1 9.2 10	- Actualizado - Se han añadido medicamentos y alimentos que afectan a las concentraciones de catecolaminas - BA E-0040: Etiquetado de peligro actualizado según la ficha de datos de seguridad - Se ha actualizado el valor de referencia previsto - Se ha añadido lote a lote; se ha actualizado la orina de recuperación - Se ha añadido la trazabilidad metrológica - Actualizado

SÍMBOLOS UTILIZADOS CON LOS ENSAYOS DEMEDITEC

Symbol	English	Deutsch	Française	Español	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 Forschungszwecke für	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

Powiązane produkty:

- Adrenalina ELISA
- Test ELISA na noradrenalinę
- Dopamina ELISA
- 2-CAT ELISA

1. Wprowadzenie**1.1 Przeznaczenie i zasada działania testu**

Niniejszy zestaw immunoenzymatyczny służy do ilościowego oznaczania adrenaliny(epinefryny), noradrenaliny(norepinefryny) i dopaminy w osoczu oraz moczu.

W toku procedury adrenalina (epinefryna), noradrenalina (norepinefryna) i dopamina są ekstrahowane przy użyciu cis-diol-specyficznego żelu powinowactwa, następnie są acylowane i konwertowane enzymatycznie. Konkurencyjny zestaw ELISA wykorzystuje format mikroplastyki. Antygen jest związany z fazą stałą mikroplastyki. Acylowane wzorce, kontrole i próbki konkurują z analitami związanymi z fazą stałą o ustaloną liczbę miejsc wiązania przeciwciał. Po osiągnięciu równowagi systemu, wolny antygen i wolne kompleksy antygen-przeciwciała są usuwane przez płukanie. Przeciwciała związane z fazą stałą jest wykrywane przez koniugat przeciwciała króliczego IgG z peroksydazą przy użyciu TMB jako substratu, co powoduje reakcję barwną. Reakcja jest monitorowana przy długości fali 450 nm.

Ilościowe oznaczenie nieznanych próbek uzyskuje się poprzez porównanie ich absorbancji z krzywą wzorcową przygotowaną przy użyciu znanych stężeń wzorcowych. Zaleca się ręczne przeprowadzenie testu ELISA. Wykonanie testy za pomocą automatycznego sprzętu laboratoryjnego odbywa się na odpowiedzialność użytkownika. Ten test diagnostyczny in vitro jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.

1.2 Zastosowanie kliniczne

U ludzi katecholaminy - adrenalina (epinefryna), noradrenalina (norepinefryna) i dopamina są neurotransmiterami współczulnego układu nerwowego i biorą udział w wielu procesach fizjologicznych. Układ współczulny wprowadza ciało w stan podwyższonej gotowości, znanej też jako reakcja walki lub ucieczki.

Obecność katecholamin i ich metabolitów w ludzkim ciele wskazuje na adaptację organizmu do gwałtownego i chronicznego stresu.

Obok metanefryny/normetanefryny, katecholaminy odgrywają ważną rolę w diagnostyce i monitorowaniu guzów układu współczulno-nadnerczowego, takich jak guz chromochłonny. Do ich diagnostyki preferuje się ilościowe oznaczenie katecholamin w moczu. Natomiast oznaczenie katecholamin w osoczu jest medycznie uzasadnione w lokalizowaniu guza lub badania jego charakteru. Wartości powyżej poziomu cut-off mogą wskazywać na guzy neuroendokrynne.

Jednakże z danych literaturowych wynika, że wiele chorób jak np. nadciśnienie, choroby układu krążenia, schizofrenia i depresja maniackalna przebiegają również z nienaturalnie niskim bądź wysokim poziomem katecholamin.

Konsekwencje terapeutyczne nigdy nie powinny opierać się wyłącznie na wynikach laboratoryjnych, nawet jeśli wyniki te są oceniane zgodnie z kryteriami jakości metody. Wyniki pozyskane w laboratorium powinny być tylko częścią całego obrazu klinicznego pacjenta.

Tylko wtedy gdy wyniki badań laboratoryjnych są zgodne z całościowym obrazem klinicznym pacjenta mogą stanowić podstawę do wdrożenia terapii.

2. Środki ostrożności, wytyczne, ostrzeżenia i czynniki limitujące.**2.1 Środki ostrożności, wytyczne i ostrzeżenia**

- (1) Niniejszy zestaw powinien być wykonywany przez osoby do tego przeszkolone. Użytkownik powinien rozumieć cel każdego z etapów oznaczenia, aby z powodzeniem wykonać test. Tylko instrukcja testu dostarczona z zestawem jest ważna i musi być użyta do przeprowadzenia testu. Miarodajne wyniki będą osiągnięte jedynie w przypadku postępowania z uwagą i zgodnie z dostarczoną instrukcją.
- (2) Niniejszy test został zwalidowany dla określonego typu próbki, jak wskazano w rozdziale „Przeznaczenie” (patrz rozdział 1). Jakikolwiek użycie tego zestawu poza przeznaczeniem jest na odpowiedzialność użytkownika, a producent nie może być pociągnięty do odpowiedzialności.
- (3) Należy przestrzegać zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP).
- (4) W celu ograniczenia możliwości narażenia na niekorzystne działanie potencjalnie szkodliwych substancji, w razie potrzeby zaleca się nosić fartuch laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki ochronne oraz ochronne okulary.
- (5) W przypadku wystąpienia poważnych incydentów związanych z tym produktem, należy je zgłosić producentowi i właściwym organom krajowym.
- (6) Wszystkie odczynniki zestawu i próbki należy doprowadzić do temperatury pokojowej i delikatnie, ale dokładnie wymieszać przed użyciem. Do rozcieńczania lub rekonstytucji należy używać wody

dejonizowanej, destylowanej lub ultraczystej. Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania odczynników i próbek.

- (7) Płytki titracyjna jest dzielona na paski. Niewykorzystane paski należy przechowywać w temp. 2-8°C w zabezpieczonym opakowaniu foliowym zawierającym desykant, można je ponownie użyć wykorzystując do tego ramkę płytki. Użyte paski powinny zostać odpowiednio oznaczone by zapobiec omyłkowemu wymieszaniu.
- (8) Standardy, kontrole i próbki wzorcowe należy badać dwukrotnie.
- (9) Raz rozpoczętą analizę należy kontynuować bez odstępstw od procedury. Należy się upewnić czy wszystkie wymagane odczynniki, materiały i urządzenia są gotowe do użycia w odpowiednim czasie.
- (10) Czas inkubacji wpływa na wyniki. Wszystkie wykorzystywane dołki reakcyjne zestawu powinny być traktowane w tej samej kolejności i w jednakowych odstępach czasu.
- (11) Aby uniknąć krzyżowego zanieczyszczenia odczynników, do nanoszenia każdego reagenta, próbek, standardu i kontroli, należy stosować jednorazowe końcówki do pipet.
- (12) Dla każdej partii oznaczeń musi zostać wyznaczona krzywa standardowa.
- (13) W każdej partii oznaczeń, należy uwzględnić kontrole, a ich wartości muszą mieścić się w ustalonych przedziałach ufnosci. Przedziały ufnosci są wyznaczone w raporcie jakości (Raport QC)..
- (14) Nie wolno mieszać ze sobą odczynników pochodzących z różnych partii produkcyjnych, ani po upływie daty ważności oznaczonej na opakowaniu testu.
- (15) W celu uzyskania informacji na temat substancji niebezpiecznych zawartych w zestawie należy odnieść się do karty charakterystyki zestawu (MSDS). Karta charakterystyki materiału dla tego produktu jest udostępniona bezpośrednio na stronie internetowej producenta lub na żądanie.
- (16) Odczynniki zestawu muszą być traktowane jako odpady niebezpieczne i usuwane zgodnie z przepisami krajowymi.
- (17) Oczekiwane wartości referencyjne podane w niniejszej instrukcji są jedynie orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własne przedziały referencyjne.
- (18) W przypadku jakiegokolwiek poważnego uszkodzenia zestawu testowego lub jego części, producent musi zostać poinformowany na piśmie najpóźniej tydzień po otrzymaniu zestawu. Poważnie uszkodzone pojedyncze komponenty nie mogą być używane do przeprowadzenia testu. Muszą być odpowiednio przechowywane, dopóki producent nie zdecyduje, co z nimi zrobić. Jeśli zostanie stwierdzone, że nie nadają się już do pomiarów, należy je zutylizować zgodnie z przepisami krajowymi.
- (19) Wyniki uzyskane za pomocą tego zestawu testowego nie powinny być traktowane jako jedyny powód jakichkolwiek konsekwencji terapeutycznych, ale muszą być skorelowane z innymi testami diagnostycznymi i obserwacjami klinicznymi.

2.2 Ograniczenia

Wszelkie niewłaściwe obchodzenie się z materiałem do analizy lub modyfikacje tego testu, mogą wpłynąć na wyniki.

2.2.1 Substancje zakłócające i właściwe postępowanie z próbkami

Osocze

Próbki zawierające strączenia lub zwiłknienia fibryny lub które wykazują cechy hemolizy, bądź są lipemizowane, mogą dawać niemiernodajne wyniki. Próbki hemolityczne (do 4 mg/ml hemoglobiny), żółtaczkowe (do 50 mg/dl bilirubiny) i lipemiczne (do 800 mg/dl trójglicerydów) nie mają wpływu na wyniki testu.

Jeżeli nie można oszacować stężeń i istnieją wątpliwości co do przestrzegania powyższych wartości granicznych dla próbek hemolitycznych, żółtaczkowych lub lipemicznych, próbek nie należy używać w oznaczeniu.

Mocz z 24-godzinnej zbiórki

Należy zwrócić uwagę na pobieranie próbek! Jeśli procent finalnego stężenia kwasu jest zbyt wysoki, będzie to prowadziło do błędnych wyników dla próbek moczu.

2.2.2 Leki i żywność powodujące zakłócenia

Leki takie jak leki przeciwnadciśnieniowe, przeciwdepresyjne, sympatykomimetyki, leki przeciwpowietrzne i L-DOPA mogą wpływać na stężenie katecholamin. Przed okresem pobierania próbek należy omówić z lekarzem prowadzącym kwestię odstawienia leków.

Napoje zawierające kofeinę, alkohol, nikotyna, leki poprawiające nastrój i pokarmy bogate w katecholaminy (takie jak banany, ser, orzechy, czekolada, pomidory lub fasola) również mogą wpływać na stężenie katecholamin i należy ich unikać na 3 dni przed okresem pobierania próbek (mocz) oraz w trakcie tego okresu. Należy również uważać, aby uniknąć stresu i wysiłku fizycznego na krótko przed okresem pobierania próbek oraz w trakcie tego okresu.

2.2.3 Efekt Wysokiej Dawki (efekt „hook”)

Nie zaobserwowano efektu wysokiej dawki.

3. Przechowywanie i stabilność

Przechowywać zestaw i odczynniki w temperaturze 2-8°C do upływu daty ważności. Nie używać zestawu i składników po upływie daty ważności podanej na etykietach zestawu. Po otwarciu odczynniki zachowują stabilność przez 2 miesiące, gdy są przechowywane w temperaturze 2-8°C. Po otwarciu zamykanego woreczka z płytką ELISA należy zadbać o jego szczelne zamknięcie wraz ze środkiem osuszającym.

4. Materiały**4.1 Zawartość zestawu**

BA D-0090 **FOILS** **Folia Adhezyjna** – Gotowa do użycia

Zawartość: folia adhezyjna w zamykanym opakowaniu

Ilość: 3 x 4 folie

BA E-0030 **WASH-CONC** **50x** **Wash Buffer Concentrate (Koncentrat Buforu Płuczącego)** - Skoncentrowany 50x

Zawartość: Bufor zawierający niejonowy detergent, o fizjologicznym pH

Objętość: 3 x 20 ml/fiolkę, fioletowa nakrętka

BA E-0040 **CONJUGATE** **Enzyme Conjugate (Koniugat Enzymu)** - Gotowy do użycia

Zawartość: kozie anty-królicze immunoglobuliny, koniugowane z peroksydazą

Objętość: 3 x 12 ml/fiolkę, czerwona nakrętka

Opis: Gatunek koza



Piktogramy zagrożenia: GHS07

Słowo ostrzegawcze: Ostrzeżenie

Składniki niebezpieczne: 2-metylo-2H-izotiazol-3-on

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H317 Może powodować reakcję alergiczną skóry.

Zwroty wskazujące środki ostrożności: P280 Nosić rękawice ochronne.

P302+P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody.

P333+P313 W przypadku podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady lekarza/zwrócić się o pomoc medyczną.

P501 Zawartość/pojemnik dostarczyć do autoryzowanego punktu zbiórki odpadów.

BA E-0055 **SUBSTRATE** **Substrate (Substrat)** - Gotowy do użycia

Zawartość: Chromogeny substrat zawierający tetrametylobenzydynę, bufor do substratu i nadtlenu wodoru

Objętość: 3 x 12 ml/fiolkę, czarna nakrętka

BA E-0080 **STOP-SOLN** **Stop Solution (Roztwór Hamujący Reakcję)** - Gotowy do użycia

Zawartość: 0.25 M kwas siarkowy

Objętość: 3 x 12 ml/fiolkę, szara nakrętka

BA E-0131 **ADR MN** **Adrenaline Microtiter Strips (Paski płytki opłaszczane przeciwciałami Anti-Adrenalina)**- Gotowe do użycia

Zawartość: 1 x 96 dołkowa płytka (12x8) opłaszczona przeciwciałem, w niebieskim opakowaniu foliowym do wielokrotnego zamknięcia, zawierającym desykant.

BA E-0231 **NAD NMN** **Noradrenaline Microtiter Strips (Paski płytki opłaszczane przeciwciałami Anti-Noradrenalina)**- Gotowe do użycia

Zawartość: 1 x 96 dołkowa płytka (12x8) opłaszczona przeciwciałem, w żółtym opakowaniu foliowym do wielokrotnego zamknięcia, zawierającym desykant.

BA E-0331 **DOP** **Dopamine Microtiter Strips (Paski płytki opłaszczane przeciwciałami Anti-**

Zawartość :	Dopamina)- Gotowe do użycia	
	1 x 96 dołkowa płytka (12x8) opłaszczona przeciwciałem, w zielonym opakowaniu foliowym do wielokrotnego zamknięcia, zawierającym desykant.	
BA E-6110	ADR-AS	Adrenaline Antiserum - Gotowa do użycia
Zawartość:	Królicze przeciwciała anty-adrenalina, w buforze z białkami i konserwantem bez rtęci, zabarwione na niebiesko	
Objętość:	1 x 6 ml/fiolkę, niebieska nakrętka	
Opis:	Gatunek przeciwciała to królik, gatunek białka w buforze to bydło	
BA E-6210	NAD-AS	Noradrenaline Antiserum - Gotowa do użycia
Zawartość:	Królicze przeciwciała anty-noradrenalina, w buforze z białkami i konserwantem bez rtęci zabarwione na żółto	
Objętość:	1 x 6 ml/ fiolkę, żółta nakrętka	
Opis:	Gatunek przeciwciała to królik, gatunek białka w buforze to bydło	
BA E-6310	DOP-AS	Dopamine Antiserum - Gotowa do użycia
Zawartość:	Królicze przeciwciała anty-dopamina, w buforze z białkami i konserwantem bez rtęci, barwione na zielono	
Objętość:	1 x 6 ml/ fiolkę, zielona nakrętka	
Opis:	Gatunek przeciwciała to królik, gatunek białka w buforze to bydło	
BA E-6612	ACYL-REAG	Acylation Reagent (Odczynnik Acylujący) - Gotowy do użycia
Zawartość:	Odczynnik do acylacji w DMSO	
Objętość:	1 x 3 ml/fiolkę, biała nakrętka	
BA R-0050	ADJUST-BUFF	Adjustment Buffer - Gotowy do użycia
Zawartość:	bufor TRIS	
Objętość:	2 x 4 ml/fiolkę, zielona nakrętka	
BA R-6611	ACYL-BUFF	Acylation Buffer (Bufor do acylacji) - Gotowy do użycia
Zawartość:	Bufor do acylacji o lekko zasadowym pH	
Objętość:	1 x 20 ml/fiolkę, biała nakrętka	
BA R-6613	ASSAY-BUFF	Assay Buffer (Bufor testowy) – Gotowy do użycia
Zawartość:	1M kwas chlorowodorowy i konserwant nie zawierający rtęci	
Objętość:	1 x 6 ml/fiolkę, zielona nakrętka	
Piktogramy zagrożień:		
	GHS05	
Hasło ostrzegawcze:	Niebezpieczeństwo	
Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia:	H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.	
Zwroty wskazujące środki ostrożności:	P280 Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną, ochronę oczu.	

P303+P361+P353 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę wodą.

P305+P351+P338 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeśli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.

P310 Natychmiast wezwać lekarza, OŚRODEK ZATRUĆ.

P501 Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego punktu zbiórki odpadów.

BA R-6614 **COENZYME** Coenzymy (koenzym) - Gotowy do użycia

Zawartość: S -adenozyl-L-metionina

Objętość: 1 x 4 ml/fiolkę, fioletowa nakrętka

BA R-6615 **ENZYME** Enzyme (Enzym)- Liofilizowany

Zawartość: Katechol-O-metyltransferaza

Objętość: 6 fiolek, różowe nakrętki

Opis: Katecholo-O-metyltransferaza z wątroby wieprzowej

BA R-6617 **EXTRACT-BUFF** Extraction Buffer (Bufor Ekstrakcyjny)- Gotowy do użycia

Zawartość: Bufor zawierający węglan

Objętość: 1 x 6 ml/ fiolkę, brązowa nakrętka

BA R-6618 **EXTRACT-PLATE** 48 Extraction Plate (Płytki ekstrakcyjne) – Gotowa do użycia

Zawartość: 2 x 48 dołkowe płytki opłaszczane boranowym żelazem powinowactwa, w opakowaniu wielokrotnego użycia.

BA R-6619 **HCL** Hydrochloric Acid (kwas chlorowodorowy, HCl) - Gotowy do użycia

Zawartość: 0.025 M kwas chlorowodorowy, oznaczona na żółto

Objętość: 1 x 20 ml/fiolkę, zielona nakrętka

4.2. Kalibratory i kontrole

Standardy i Kontrole – Gotowe do użycia.

Nr Kat.	Komponent	Kolor nakrętki	Stężenie ng/l		Stężenie nmole/l			Obj. / fiołka	
			ADR	NAD	DOP	ADR	NAD	DOP	
BA R-6601	STANDARD A	biała	0	0	0	0	0	0	4 ml
BA R-6602	STANDARD B	żółta	1	5	10	5,5	30	65	4 ml
BA R-6603	STANDARD C	pomarańczowa	4	20	40	22	118	261	4 ml
BA R-6604	STANDARD D	niebieska	15	75	150	82	443	980	4 ml
BA R-6605	STANDARD E	szara	50	250	500	273	1478	3265	4 ml
BA R-6606	STANDARD F	czarna	200	1000	2000	1092	5910	13060	4 ml
BA R-6609	STANDARD A/B	fioletowa	-	-	4,5	-	-	29	4 ml
BA R-6651	CONTROL 1	zielona	Odniesć się do raportu QC po oczekiwanej wartości i dopuszczalnym zakresem!						
BA R-6652	CONTROL 2	czerwona							

Konwersja: Adrenalina (ng/ml) x 5,46 = Adrenalina [nmol/l]

Noradrenalina (ng/ml) x 5,91 = Noradrenalina [nmol/l]

Dopamina (ng/ml) x 6,53 = Dopamina [nmol/l]

Zawartość: Kwaśny bufor ze stabilizatorem bez dodatku rtęci, mierzony wobec znanej ilości adrenaliny, noradrenaliny i dopaminy



aby oznaczyć poziom dopaminy w osoczu **konieczne jest użycie dodatkowo **Standardu A/B**!*

4.3 Dodatkowe materiały wymagane, ale niedostarczone w zestawie

- Materiał łatwo chłonący ciecze (np. ręcznik papierowy)
- Woda (dejonizowana, destylowana lub ultra-czysta)

4.4 Dodatkowy sprzęt wymagany, ale niedostarczony w zestawie

- Skalibrowane pipety automatyczne umożliwiające pipetowanie w zakresie 10 – 700 µl; 1 ml
- Urządzenie do płukania płytek mikrotitracyjnych (manualne, pół automatyczne lub zautomatyzowane)
- Czytnik ELISA z możliwością odczytu absorbancji przy długości fali 450 nm i jeśli to możliwe również przy długościach 620 - 650 nm
- Wytrząsarka mikropłytkowa (amplituda wytrząsania 3 mm; szybkość około. 600 rpm)
- Vortex

5. Pobranie, obsługa i przechowywanie próbek

Osocze

Pełną krew pobraną do probówek wirówkowych zawierających antykoagulant - EDTA, należy zwirować zgodnie z instrukcją producenta, bezpośrednio po pobraniu. W przypadku próbek hemolitycznych, żółtaczkowych i lipemicznych patrz rozdział 2.2.1.

Przechowywanie: do 6 godzin w temp. 2 - 8 °C, w dłuższym okresie (do 6 miesięcy) w temp. -20°C. Należy unikać powtarzających się cykli rozmrażania i zamrażania.

Mocz

Do oznaczeń można użyć moczu z jednorazowej spontanicznie oddanej próbki lub z 24-godzinnej zbiórki, zebranego do pojemnika zawierającego 10-15 ml 6 M HCl.

Jeśli mocz pochodzi z 24-godzinnej zbiórki, należy odnotować całkowitą objętość zebranego moczu.

Przechowywanie: do 48 godzin w 2 - 8 °C, do 24 godzin w temperaturze pokojowej, w dłuższym okresie (do 6 miesięcy) w temp. -20°C. Należy unikać powtarzających się cykli rozmrażania i zamrażania.

Należy także unikać bezpośredniego kontaktu ze światłem słonecznym.

6. Procedura testu

Pozwolić wszystkim odczynnikom na osiągnięcie temperatury pokojowej, a następnie dokładnie je wymieszać odwracając naczynie do góry dnem. Ponumeruj płytkę ekstrakcyjną i mikropłytki (paski mikrotitracyjne, które są wyjmowane z ramki w celu użycia, powinny być odpowiednio oznaczone, aby uniknąć pomyłki). Zaleca się wykonanie podwójnych oznaczeń.

Stopień wiązania antysurowicy i koniugatu enzymu oraz aktywność samego enzymu zależą od temperatury. Im wyższa temperatura, tym wyższe będą wartości absorbancji. Różne czasy inkubacji będą mieć podobny wpływ na odczyt absorbancji. Optymalny zakres temperatury podczas wykonywania testu to 20 – 25 °C.



Obowiązkowe jest użycie wytrząsarki do mikropłytek o następujących parametrach: amplituda wytrząsania 3 mm; ok. 600 obr. Wytrząsanie z innymi ustawieniami może mieć wpływ na wyniki.

6.1 Przygotowanie odczynników i dalsze uwagi

Bufor Płuczący (Wash Buffer)

Rozcieńczyć 20 ml koncentratu buforu płuczającego **WASH-CONC** **50X** za pomocą wody (dejonizowanej, destylowanej lub ultra-czystej) do objętości 1000 ml.

Przechowywanie: 2 miesiące w temp. 2 – 8 °C

Roztwór Enzymu (Enzyme Solution)

Rozpuścić zawartość fiołki **ENZYME** w 1 ml wody (dejonizowanej, destylowanej lub ultra-czystej) i dokładnie wymieszać. Dodać 0,3 ml **COENZYME**, a następnie 0,7 ml **ADJUST-BUFF**. Końcowa objętość Roztworu Enzymu powinna wynosić 2.0 ml.

— *Roztwór Enzymu musi być przygotowany świeżo przed wykonaniem testu (nie wcześniej niż 10 – 15 minut wcześniej). Niewykorzystany bufor należy wylać!*

Paski do mikromiareczkowania adrenaliny, paski do mikromiareczkowania noradrenaliny i paski do mikromiareczkowania dopaminy.

W rzadkich przypadkach pozostałości odczynnika blokującego i stabilizującego mogą być widoczne w studzienkach jako małe, białe kropki lub linie. Pozostałości te nie mają wpływu na jakość produktu.

Odczynnik acylujący (Acylation Reagent)

Odczynnik acylujący **ACYL-REAG** (BA E-6612) ma temperaturę zamarzania 18,5 °C. Aby zapewnić płynność podczas stosowania, przed użyciem należy upewnić się, że produkt osiągnął temperaturę pokojową i utworzył jednorodny roztwór bez kryształków.

6.2 Przygotowanie próbek, ekstrakcja i acylacja

*aby oznaczyć poziom dopaminy w osoczu **konieczne** jest użycie dodatkowo **Standardu A/B!**

1.	Odpipetować po 10 µl standardów, kontroli, próbek moczu i 300 µl próbek osocza do odpowiednich dołków reakcyjnych na płytkę do ekstrakcji EXTRACT-PLATE 48 .
2.	Dodać 250 µl wody (dejonizowanej, destylowanej lub ultra-czystej) do dołków reakcyjnych ze standardami, kontrolami i próbkami moczu .
3.	Odpipetować po 50 µl ASSAY-BUFF do każdego z dołków reakcyjnych.
4.	Odpipetować po 50 µl EXTRACT-BUFF do każdego z dołków reakcyjnych.
5.	Zakleić płytkę Foil FOILS i inkubować 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
6.	Usunąć folię. Wylać zawartość i osuszyć płytkę odciskając i lekko opukując odwróconą do góry dnem płytkę na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
7.	Dodać 1 ml Wash Buffer (buforu płuczącego) do każdego z dołków reakcyjnych. Inkubować płytkę przez 5 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm). Wylać zawartość i osuszyć płytkę odciskając i lekko opukując odwróconą do góry dnem płytkę na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
8.	Odpipetować kolejny 1 ml Wash Buffer (buforu płuczącego) do każdego z dołków reakcyjnych. Inkubować płytkę przez 5 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm). Wylać zawartość i osuszyć płytkę odciskając i lekko opukując odwróconą do góry dnem płytkę na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
9.	Dodać do wszystkich dołków reakcyjnych po 150 µl ACYL-BUFF .
10.	Dodać do wszystkich dołków reakcyjnych po 25 µl ACYL-REAG .
11.	Inkubować przez 15 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
12.	Wylać zawartość i osuszyć płytkę odciskając i lekko opukując na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
13.	Dodać po 1 ml Wash Buffer (buforu płuczącego) do każdego z dołków reakcyjnych. Inkubować płytkę przez 10 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) w wytrząsarce (ok. 600 rpm). Wylać zawartość i osuszyć płytkę odciskając i lekko opukując odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
14.	Dodać po 175 µl HCL do wszystkich dołków reakcyjnych.
15.	Zakleić płytkę Foil FOILS . Inkubować przez 10 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm) Zdjąć i wyrzucić folię. ⚠ Od tej chwili nie dekantować supernatantu! ⚠ Poniższe objętości następujących supernatantów, będą potrzebne do wykonania testu ELISA:
	Adrenalina 100 µl Noradrenalina 20 µl
	Dopamina (standardy + mocz) 25 µl Dopamina (osocze) 50 µl

6.3 Adrenalina ELISA

1.	Nanieść pipetą po 25 µl Enzyme Solution (roztworu enzymu) (patrz pkt. 6.1) do wszystkich dołków reakcyjnych wykorzystywanych pasków płytki do testu Adrenaliny  ADR  .
2.	Dodać po 100 µl wyekstrahowanych standardów, kontroli i próbek do odpowiednich dołków reakcyjnych.
3.	Inkubować przez 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
4.	Odpipetować po 50 µl odpowiednio ADR-AS do wszystkich dołków reakcyjnych i zakleić płytkę FOILS .
5.	Inkubować przez 2 h w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
6.	Usunąć folię. Wylać lub odciągnąć zawartość dołków reakcyjnych. Płukać 3-krotnie dodając 300 µl Wash Buffer (buforu płuczającego) , za każdym razem wylewając zawartość i osuszając płytkę odciskając a potem lekko opukując odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku
7.	Odpipetować po 100 µl Enzyme Conjugate (koniugatu enzymu) do wszystkich dołków reakcyjnych.
8.	Inkubować przez 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
9.	Wylać lub odciągnąć zawartość dołków reakcyjnych. Płukać 3-krotnie dodając 300 µl Wash Buffer (buforu płuczającego) , za każdym razem wylewając zawartość i osuszając płytkę odciskając a potem lekko opukując płytkę odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
10.	Dodać po 100 µl SUBSTRATE do wszystkich dołków reakcyjnych i inkubować przez 25 ± 5 min w temp. pokojowej (20 – 25°C) w wytrząsarce (ok. 600 rpm).
	 Unikać kontaktu z bezpośrednim światłem słonecznym!
11.	Dodać po 100 µl roztworu hamującego reakcję - STOP-SOLN do każdego dołka reakcyjnego i i krótko wstrząsnąć płytką mikrotitracyjną.
12.	Wykonać odczyt absorbancji roztworu w dołkach reakcyjnych w ciągu 10 minut od zahamowania reakcji, za pomocą czytnika płytek mikrotitracyjnych przy długości fali 450 nm (jeśli jest możliwość rekomenduje się także wykonać pomiar przy długości fali referencyjnej tj. pomiędzy 620 nm a 650

6.4 Noradrenalina ELISA

1.	Nanieść pipetą po 25 µl Enzyme Solution (roztworu enzymu) (patrz pkt. 6.1) do wszystkich dołków reakcyjnych wykorzystywanych pasków płytki do testu Noradrenalina  NAD  .
2.	Dodać po 20 µl wyekstrahowanych standardów, kontroli i próbek do odpowiednich dołków reakcyjnych.
3.	Inkubować przez 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
4.	Odpipetować po 50 µl NAD-AS do wszystkich dołków reakcyjnych i zakleić płytkę FOILS .
5.	Inkubować przez 2 h w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
6.	Usunąć folię. Wylać lub odciągnąć zawartość dołków reakcyjnych. Płukać 3-krotnie dodając 300 µl Wash Buffer (buforu płuczającego) , za każdym razem wylewając zawartość i osuszając płytkę odciskając a potem lekko opukując odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku
7.	Odpipetować po 100 µl CONJUGATE do wszystkich dołków reakcyjnych.
8.	Inkubować przez 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) w wytrząsarce (ok. 600 rpm).
9.	Wylać lub odciągnąć zawartość dołków reakcyjnych. Płukać 3-krotnie dodając 300 µl Wash Buffer (buforu płuczającego) , za każdym razem wylewając zawartość i osuszając płytkę odciskając a potem lekko opukując płytkę odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
10.	Dodać po 100 µl SUBSTRATE do dołków reakcyjnych i inkubować przez 25 ± 5 min w temp. pokojowej (20 – 25°C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
	 Unikać kontaktu z bezpośrednim światłem słonecznym!
11.	Dodać po 100 µl roztworu hamującego reakcję - STOP-SOLN do wszystkich dołków reakcyjnych i wytrząsać na wytrząsarce aby zapewnić homogenne rozprowadzenie roztworu.
12.	Wykonać odczyt absorbancji roztworu w dołkach reakcyjnych w ciągu 10 minut od zahamowania reakcji, za pomocą czytnika płytek mikrotitracyjnych przy długości fali 450 nm (jeśli jest możliwość rekomenduje się także wykonać pomiar przy długości fali referencyjnej tj. pomiędzy 620 nm a 650 nm).

6.5 Dopamina ELISA

1.	Nanieść pipetą po 25 µl Enzyme Solution (patrz pkt. 6.1) do wszystkich dołków reakcyjnych wykorzystywanych pasków płytki do testu Dopamina W DOP .
2.	Dodać po 25 µl wyekstrahowanych standardów, kontroli i próbek moczu i 50 µl wyekstrahowanych próbek osocza do odpowiednich dołków reakcyjnych.
3.	Dodać po 25 µl HCL (kwasu chlorowodorowego) do standardów, kontroli i próbek moczu .
4.	Inkubować przez 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
5.	Odpipetować po 50 µl DOP-AS do wszystkich dołków reakcyjnych i zakleić płytkę FOILS .
6.	Inkubować przez 2 h w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
7.	Wylać lub odciągnąć zawartość dołków reakcyjnych. Płukać 3-krotnie dodając 300 µl Wash Buffer (buforu płuczającego) , za każdym razem wylewając zawartość i osuszając płytkę odciskając a potem lekko opukując płytkę odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
8.	Nanieść po 100 µl of the CONJUGATE do wszystkich dołków reakcyjnych.
9.	Inkubować przez 30 min w temp. pokojowej (20 – 25 °C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm).
10.	Wylać lub odciągnąć zawartość dołków reakcyjnych. Płukać 3-krotnie dodając 300 µl Wash Buffer (buforu płuczającego) , za każdym razem wylewając zawartość i osuszając płytkę odciskając a potem lekko opukując płytkę odwróconą do góry dnem na chłonnym materiale np. ręczniku papierowym.
11.	Dodać po 100 µl SUBSTRATE do dołków reakcyjnych i inkubować przez 25 ± 5 min w temp. pokojowej (20 – 25°C) na wytrząsarce (ok. 600 rpm). ⚠ Unikać kontaktu z bezpośrednim światłem słonecznym!
12.	Dodać po 100 µl STOP-SOLN do wszystkich studzienek i krótko wstrząsnąć płytką mikrotitracyjną.
13.	Wykonać odczyt absorbancji roztworu w dołkach reakcyjnych w ciągu 10 minut od zahamowania reakcji, za pomocą czytnika płytek mikrotitracyjnych przy długości fali 450 nm (jeśli jest możliwość rekomenduje się także wykonać pomiar przy długości fali referencyjnej tj. pomiędzy 620 nm a 650 nm).

7. Obliczanie wyników

Zakres pomiaru		Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
	Mocz	0.7 - 200 ng/ml	2.5 – 1 000 ng/ml	4.8 – 2 000 ng/ml
	Osocze	18 – 6 667 pg/ml	93 – 33 333 pg/ml	75 – 33 333 pg/ml

Krzywą wzorcową, którą można wykorzystać do określenia stężenia nieznanymi próbek, uzyskuje się poprzez wykreślenie odczytów absorbancji (obliczenie średniej absorbancji) wzorców (liniowa, oś y) względem odpowiednich stężeń wzorców (logarytmiczna, oś x) przy użyciu stężenia 0,001 ng/ml dla wzorca A (to wyrównanie jest obowiązkowe ze względu na logarytmiczną prezentację danych). Do dopasowania krzywej należy użyć regresji nieliniowej (np. 4-parametrowej, Marquardt).

 *Ten test jest testem konkurencyjnym. Oznacza to, że wartości OD zmniejszają się wraz ze wzrostem stężenia analitu. Wartości OD znalezione poniżej krzywej standardowej odpowiadają wysokim stężeniom analitu w próbce i muszą być zgłaszane jako pozytywne.*

Próbki moczu i kontrole

Stężenie **Próbek moczu** i **Kontroli** można odczytać bezpośrednio z krzywej standardowej. Należy skalkulować 24-godzinna ekstrakcję dla każdej próbki moczu: **µg/24h = µg/l x l/24h**

Próbki osocza

Aby odczytać wartości stężenia dla **Adrenaliny** i **Noradrenaliny**, stężenia **próbek osocza** muszą być **podzielone przez 30**.

Aby odczytać wartości stężenia **Dopaminy**, stężenia **próbek osocza** muszą być **podzielone przez 60**.

Konwersja:

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

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

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

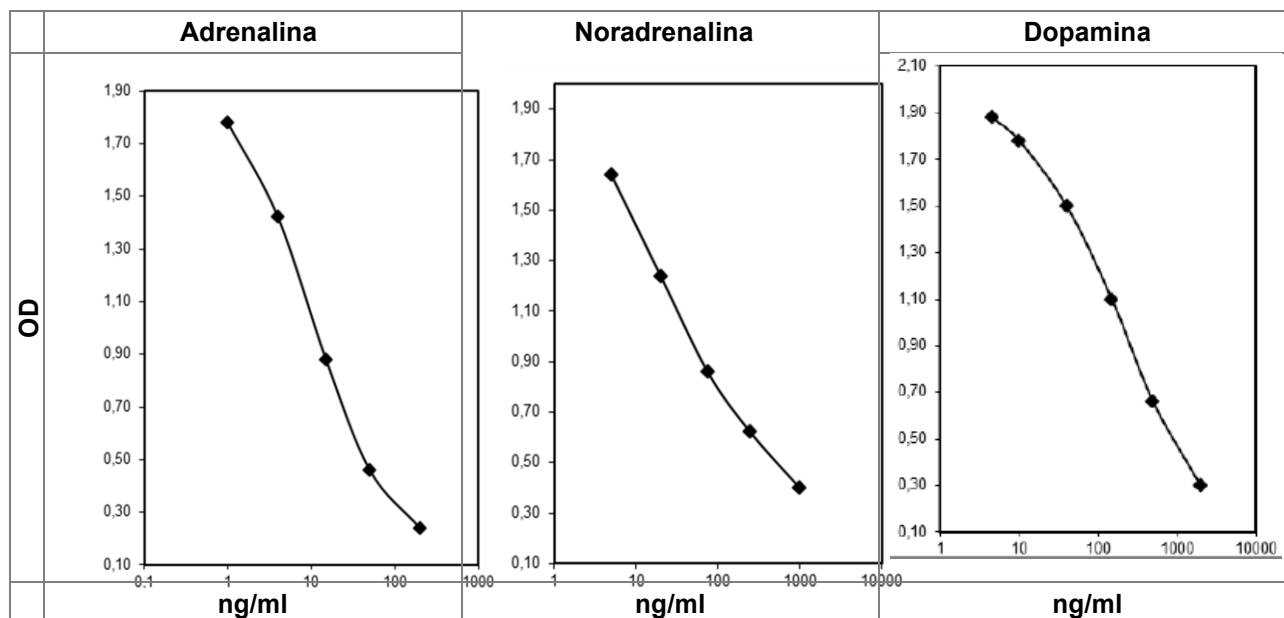
7.1 Oczekiwane wartości referencyjne

Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne wartości referencyjne.

	Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Mocz z 24-h	< 20 µg/dzień (110 nmol/dzień)	< 90 µg/dzień (535 nmol/dzień)	< 600 µg/ dzień (3900 nmol/ dzień)
Osocze	< 100 pg/ml	< 600 pg/ml	< 100 pg/ml

7.2 Typowe krzywe standardowe

Przykłady, nie stosować do kalkulacji!

**8. Próbkki kontrolne**

Zaleca się aby użyć próbek kontrolne zgodnie z krajowymi przepisami. Stosować kontrole na poziomie zarówno normalnych, jak i wartości patologicznych. Niniejszy zestaw lub inne dostępne na rynku kontrole powinny mieścić się w ustalonych przedziałach ufnosci. Granice ufnosci kontroli zestawu są wymienione w raporcie kontroli jakości (Raport –QC).

9. Charakterystyka testu**9.1. Dane dotyczące wydajności**

Czułość analityczna		Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Granica próby ślepej (LOB)	Mocz (ng/ml)	0.8	1.50	2.2
	Osocze (pg/ml)	9.3	32	43
Granica wykrywalności (LOD)	Mocz (ng/ml)	0.9	1.7	2.5
	Osocze (pg/ml)	10	36	49
Granica oznaczalności (LOQ)	Mocz (ng/ml)	0.7	2.5	4.8
	Osocze (pg/ml)	18	93	75

Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa)

Substancja	Reaktywność krzyżowa (%)		
	Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Derywatyzowana Adrenalina	100	0.08	0.02
Derywatyzowana Noradrenalina	0.13	100	6.4
Derywatyzowana Dopamina	< 0.01	0.03	100
Metanefryna	0.18	< 0.01	< 0.01
Normetanefryna	< 0.01	0.16	0.01
3-Metoksytyramina	< 0.01	< 0.01	0.49
3-Metoksy-4-hydroksyfenylglikol	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Tyramina	< 0.01	< 0.01	0.18
Feniloalanina, Kwas kawowy, L-Dopa, kwas homowanilinowy, Tyrozyna, kwas 3-Metoksy-4-hydroksymigdałowy	< 0.01	< 0.01	< 0.01

Precyzja

W obrębie zestawu dla Moczu (n = 60)				W obrębie zestawu dla Osocza (n = 60)			
	Próbka	Zakres [ng/ml]	CV [%]		Próbka	Zakres [pg/ml]	CV [%]
Adrenalina	1	6.2 ± 1.1	17.4	Adrenalina	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
Noradrenalina	1	26.1 ± 3.6	13.8	Noradrenalina	1	510 ± 65	12.8
	2	97 ± 12.8	13.4		2	1358 ± 194	14.3
	3	267 ± 35	13.1		3	3363 ± 374	11.1
Dopamina	1	82 ± 16.1	19.7	Dopamina	1	75 ± 22	29.8
	2	253 ± 41.1	16.3		2	353 ± 86	24.4
	3	714 ± 67	9.4		3	1187 ± 293	24.9
W obrębie partii dla Moczu (n = 33)				W obrębie partii dla Osocza (n = 18)			
	Próbka	Zakres (ng/ml)	CV [%]		Próbka	Zakres [pg/ml]	CV [%]
Adrenalina	1	5.2 ± 0.9	17.9	Adrenalina	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
Noradrenalina	1	19.5 ± 3.9	20.0	Noradrenalina	1	445 ± 40.9	9.2
	2	80.6 ± 10.6	13.2		2	1232 ± 134	10.9
	3	226 ± 39.5	17.4		3	3283 ± 302	9.2
Dopamina	1	79.3 ± 18.8	23.7	Dopamina	1	238 ± 67.0	28.2
	2	222 ± 27.0	12.1		2	1072 ± 201	18.8
	3	630 ± 69.0	11.0		3	3449 ± 491	14.2

Porównanie spójności Lot-to-Lot				
Adrenalina (n = 5)	Mocz	Próbka	Mean ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	6.6 ± 0.9	13.7
	Osocze	Próbka	Mean ± SD [pg/ml]	CV [%]
		1	202 ± 26.7	11.8
Noradrenalina (n = 6)	Mocz	Próbka	Mean ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	124 ± 13.2	10.7
	Osocze	Próbka	Mean ± SD [pg/ml]	CV [%]
		1	1,071 ± 97.3	5.3
Dopamina (n = 6)	Mocz	Próbka	Mean ± SD [ng/ml]	CV [%]
		1	189 ± 14.7	7.8
		2	678 ± 39.3	5.8

Odzyskiwalność została określona zgodnie z normą CLSI EP 34, wydanie pierwsze.

Odzyskiwalność				
Adrenalina	Mocz	Zakres [ng/ml]	Mean [%]	Zakres [%]
		0.27 – 61	95	89 – 98
	Osocze	Zakres [pg/ml]	Mean [%]	Zakres [%]
		9.1 – 4,268	105	88 – 117
Noradrenalina	Mocz	Zakres [ng/ml]	Mean [%]	Zakres [%]
		1.8 – 249	96	70 – 118
	Osocze	Zakres [pg/ml]	Mean [%]	Zakres [%]
		51 – 14,251	87	75 – 107
Dopamina	Mocz	Zakres [ng/ml]	Mean [%]	Zakres [%]
		9.2 – 762	112	106 – 117
	Osocze	Zakres [pg/ml]	Mean [%]	Zakres [%]
		57.4 – 16,054	89	84 – 92

Liniowość				
		Seria rozcieńczeń do	Średnia [%]	Zakres [%]
Adrenalina	Mocz	1:512	108	92 - 123
	Osocze	1:512	105	94 - 115
Noradrenalina	Mocz	1:512	112	100 - 127
	Osocze	1:512	112	102 - 125
Dopamina	Mocz	1:512	104	83 - 126
	Osocze	1:512	106	85 - 132

9.2 Identyfikowalność metrologiczna

Wartości przypisane do standardów i kontroli testu 3-CAT ELISA ^{Fast Track} są identyfikowalne względem jednostek SI poprzez ważenie za pomocą analitu o kontrolowanej jakości.

Standardy i kontrole	
	Niepewność [%]
Adrenalina	3.5
Noradrenalina	4.1
Dopamina	2.5

3-CAT ELISA			
Adrenalina	Mocz	Stężenie [ng/ml]	Niepewność rozszerzona [%] k = 2*
		5.2	36.5
		17.8	24.4
		54.2	25.2
	Osocze	Stężenie [pg/ml]	Niepewność rozszerzona [%] k = 2*
		76.4	29.8
Noradrenalina	Mocz	Stężenie [ng/ml]	Niepewność rozszerzona [%] k = 2*
		19.5	40.8
		80.6	27.6
		226	35.7
	Osocze	Stężenie [pg/ml]	Niepewność rozszerzona [%] k = 2*
		445	20.1
Dopamina	Mocz	Stężenie [ng/ml]	Niepewność rozszerzona [%] k = 2*
		79.3	47.7
		222	24.7
		630	22.6
	Osocze	Stężenie [pg/ml]	Niepewność rozszerzona [%] k = 2*
		238	56.6

* Określa to przedział wokół zmierzonego wyniku, który będzie zawierał prawdziwą wartość z prawdopodobieństwem 95%.

10. Referencje/Literatura

1. Kim, H., et al., *Vitamin C prevents stress-induced damage on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α , and ROS production in Gulo(-/-)Vit C-Insufficient mice*. Free Radic Biol Med, 2013. **65**: p. 573-583.
2. Bada, A.A., et al., *Peripheral vasodilatation determines cardiac output in exercising humans: insight from atrial pacing*. J Physiol, 2012. **590**(8): p. 2051-60.
3. Parks, C.G., et al., *Employment and work schedule are related to telomere length in women*. Occup Environ Med, 2011. **68**(8): p. 582-9.
4. Eisenhofer, G., C. Pamporaki, and J.W.M. Lenders, *Biochemical Assessment of Pheochromocytoma and Paraganglioma*. Endocr Rev, 2023. **44**(5): p. 862-909.

Aby uzyskać więcej informacji na temat najnowszych danych literaturowych, należy skontaktować się z lokalnym dostawcą.

11. Zmiany

Wersja	Data aktualizacji	Rozdział	Zamiana
19.0	28-11-2023	4.1	Oznakowanie zagrożeń zaktualizowane zgodnie z SDS
19.1	02-04-2024	6.5	Symbol surowicy odpornościowej korygującej
20.0	2025-05-20	2.1 2.2.2 4.1 9.1 9.2 10	- Zaktualizowano - Dodano leki + pokarmy wpływające na stężenie katecholamin - BA E-0040: Zaktualizowano oznaczenia zagrożeń zgodnie z kartą charakterystyki - Dodano informacje o partiach; zaktualizowano informacje o odzysku moczu - Dodano informacje o identyfikowalności metrologicznej - Zaktualizowano

Symbole:

Symbol	English	Polski	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	Deklaracja CE	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Zapoznaj się z instrukcją użytkowania	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
IVD	In vitro diagnostic device	Urządzenie do diagnostyki in vitro	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
RUO	For research use only	Tylko do celów badawczych	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
REF	Catalogue number	Numer katalogowy	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
LOT	Lot. No. / Batch code	Nr serii	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Zawiera wystarczającą ilość dla <n> testów/	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Zwróć uwagę na ostrzeżenia i środki ostrożności	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Temperatura przechowywania	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Data ważności	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Producent prawny	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Dystrybuowane przez	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
V<x>	Version	Wersja	Version	Versión	Versione
	Single-use	Jednorazowego użytku	À usage unique	Uso único	Uso una volta