

---

**Instructions for use**  
**Noradrenaline ELISA**

**REF**

**DEE6200**



**IVD**



## 1. Introduction

### 1.1 Intended use and principle of the test

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

Noradrenaline (norepinephrine) is extracted by using a cis-diol-specific affinity gel, acylated and then converted enzymatically.

The competitive ELISA kit uses the microtiter plate format. The antigen is bound to the solid phase of the microtiter plate. The derivatized standards, controls and samples and the solid phase bound analytes compete 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. The reaction is monitored at 450 nm.

Quantification of unknown samples is achieved by comparing their absorbance with a reference curve prepared with known standard concentrations.

### 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 all test results are in agreement with the items as under point "Procedural cautions, guidelines and warnings". 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.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any 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 has to 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 certain types of samples 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) Reagents of this kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
- (4) The principles of Good Laboratory Practice (GLP) have to be followed.
- (5) In order to reduce exposure to potentially harmful substances, wear lab coats, disposable protective gloves and protective glasses where necessary.
- (6) All kit reagents and specimens should be brought to room temperature and mixed gently but thoroughly before use. Avoid repeated freezing and thawing of reagents and specimens.
- (7) For dilution or reconstitution purposes, use deionized, distilled, or ultra-pure water.
- (8) The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch with desiccant and used in the frame provided.
- (9) Duplicate determination of sample is highly recommended to be able to identify potential pipetting errors.
- (10) Once the test has been started, all steps should be completed without interruption. Make sure that the required reagents, materials and devices are prepared ready at the appropriate time.

- (11) Incubation times do influence the results. All wells should be handled in the same order and time intervals.
- (12) To avoid cross-contamination of reagents, use new disposable pipette tips for dispensing each reagent, sample, standard and control.
- (13) A standard curve must be established for each run.
- (14) 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.
- (15) 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.
- (16) Avoid contact with Stop Solution containing 0.25 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns. In case of contact with eyes or skin, rinse off immediately with water.
- (17) Some reagents contain sodium azide (NaN<sub>3</sub>) as preservative. In case of contact with eyes or skin, rinse off immediately with water. NaN<sub>3</sub> may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. When disposing reagents, flush with a large volume of water to avoid azide build-up.
- (18) TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them.
- (19) For information on hazardous substances included in the kit please refer to Material Safety Data Sheet (MSDS). The Material Safety Data Sheet for this product is made available directly on the website of the manufacturer or upon request.
- (20) The expected reference values reported in this test instruction are only indicative. It is recommended that each laboratory establishes its own reference intervals.
- (21) The results obtained with this test kit should not be taken as the sole reason for any therapeutic consequence but have to be correlated to other diagnostic tests and clinical observations.
- (22) Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed according to national regulations.

## 2.2 Limitations

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

### 2.2.1 Interfering substances

#### Plasma

Samples containing precipitates or fibrin strands or which are haemolytic or lipemic might cause inaccurate results.

#### 24-hour urine

Please note the *sample preparation and storage!* If the percentage of the final concentration of acid is too high, the buffer capacity of the Extraction Buffer is insufficient. As a consequence noradrenaline will not be extracted adequately.

### 2.2.2 Drug interferences

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

### 2.2.3 High-Dose-Hook effect

No hook effect was observed in this test.

## 3. Storage and stability

Store the unopened reagents at 2 - 8 °C until expiration date. Do not use components beyond the expiry date indicated on the kit labels. Once opened the reagents are stable for 1 month when stored at 2 - 8 °C. Once the resealable pouch has been opened, care should be taken to close it tightly with desiccant again.

## 4. Materials

### 4.1 Content of the kit

**BA D-0090** FOILS **Adhesive Foil** - Ready to use

Content: Adhesive Foils in a resealable pouch

Volume: 1 x 4 foils

**BA E-0030** WASH-CONC 50x **Wash Buffer Concentrate** - Concentrated 50x

Content: Buffer with a non-ionic detergent and physiological pH

Volume: 1 x 20 ml/vial, light purple cap

- BA E-0040** **CONJUGATE** **Enzyme Conjugate** - Ready to use  
 Content: Goat anti-rabbit immunoglobulins, conjugated with peroxidase  
 Volume: 1 x 12 ml/vial, red cap
- BA E-0055** **SUBSTRATE** **Substrate** - Ready to use  
 Content: Chromogenic substrate containing tetramethylbenzidine, substrate buffer and hydrogen peroxide  
 Volume: 1 x 12 ml/vial, black cap
- BA E-0080** **STOP-SOLN** **Stop Solution** - Ready to use  
 Content: 0.25 M sulfuric acid  
 Volume: 1 x 12 ml/vial, light grey cap
- BA E-0231** **NAD NMN** **Noradrenaline Microtiter Strips**- Ready to use  
 Content: 1 x 96 well (12x8) antigen precoated microwell plate in a resealable yellow pouch with desiccant, yellow coloured
- BA E-6210** **NAD-AS** **Noradrenaline Antiserum** - Ready to use  
 Content: Rabbit anti-noradrenaline antibody, yellow coloured  
 Volume: 1 x 6 ml/vial, yellow cap
- BA R-0050** **ADJUST-BUFF** **Adjustment Buffer** - Ready to use  
 Content: TRIS buffer  
 Volume: 1 x 4 ml/vial, green cap

**Standards and Controls** - Ready to use

Cat. no.	Component	Colour/ Cap	Concentration ng/ml	Concentration nmol/l	Volume/ Vial
			NAD	NAD	
<b>BA R-6601</b>	STANDARD A	white	0	0	4 ml
<b>BA R-6602</b>	STANDARD B	light yellow	5	30	4 ml
<b>BA R-6603</b>	STANDARD C	orange	20	118	4 ml
<b>BA R-6604</b>	STANDARD D	dark blue	75	443	4 ml
<b>BA R-6605</b>	STANDARD E	light grey	250	1 478	4 ml
<b>BA R-6606</b>	STANDARD F	black	1 000	5 910	4 ml
<b>BA R-6651</b>	CONTROL 1	light green	Refer to QC report for expected value and acceptable range!		4 ml
<b>BA R-6652</b>	CONTROL 2	dark red			4 ml

Conversion: Noradrenaline (ng/ml) x 5.91 = Noradrenaline (nmol/l)

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

- 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-6612** **ACYL-REAG** **Acylation Reagent** - Ready to use  
 Content: Acylation reagent in DMF and DMSO  
 Volume: 1 x 3 ml/vial, light red cap

Hazards identification:



H225 Highly flammable liquid and vapour.  
 H360 May damage fertility or the unborn child.  
 H319 Causes serious eye irritation.

- BA R-6613** **ASSAY-BUFF** **Assay Buffer** - Ready to use  
 Content: 1M hydrochloric acid and a non-mercury preservative  
 Volume: 1 x 6 ml/vial, light grey cap

<b>BA R-6614</b>	<b>COENZYME</b>	<b>Coenzyme</b> - Ready to use
Content:	S-adenosyl-L-methionine	
Volume:	1 x 4 ml/vial, purple cap	
<b>BA R-6615</b>	<b>ENZYME</b>	<b>Enzyme</b> - Lyophilized
Content:	Catechol-O-methyltransferase	
Volume:	2 vials, pink cap	
<b>BA R-6617</b>	<b>EXTRACT-BUFF</b>	<b>Extraction Buffer</b> - Ready to use
Content:	Buffer containing carbonate	
Volume:	1 x 6 ml/vial, brown cap	
<b>BA R-6618</b>	<b>EXTRACT-PLATE 48</b>	<b>Extraction Plate</b> - Ready to use
Content:	2 x 48 well plates coated with boronate affinity gel in a resealable pouch	
<b>BA R-6619</b>	<b>HCL</b>	<b>Hydrochloric Acid</b> - Ready to use
Content:	0.025 M Hydrochloric Acid, yellow coloured	
Volume:	1 x 20 ml/vial, dark green cap	

#### 4.2 Additional materials and 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)
- Absorbent material (paper towel)
- Water (deionized, distilled, or ultra-pure)
- Vortex mixer

#### 5. Sample collection and storage

##### **Plasma**

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing EDTA as anti-coagulant (Monovette™ or Vacuette™ for plasma) and centrifuged according to manufacturer's instructions immediately after collection.

Haemolytic and lipemic samples should not be used for the assay.

Storage: up to 6 hours at 2 - 8 °C, for longer period (up to 6 month) 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 month) at -20 °C. Repeated freezing and thawing should be avoided.

Avoid exposure to direct sunlight.

#### 6. Test procedure

Allow all reagents to reach room temperature and mix thoroughly by gentle inversion before use. Duplicate determinations are recommended.

The binding of the antiserum and the enzyme conjugate and the activity of the enzyme are temperature dependent, and the absorbance may vary if a thermostat is not used. The higher the temperature, the higher the absorbance will be. Varying incubation times will have a similar influence on the absorbance. The optimal temperature during the Enzyme Immunoassay is between 20 – 25 °C.

 *In case of overflow, read the absorbance of the solution in the wells within 10 minutes, using a microplate reader set to 405 nm*

## 6.1 Preparation of reagents


### Wash Buffer

Dilute the 20 ml Wash Buffer Concentrate with water (deionized, distilled, or ultra-pure) to a final volume of 1000 ml.


Storage: 1 month at 2 – 8 °C

### Enzyme Solution

Reconstitute the content of the vial labelled '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 Adjustment Buffer. 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!*

## 6.2 Sample preparation, extraction and acylation

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

### 6.3 Noradrenaline ELISA

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

### 7. Calculation of results

Measuring range	Noradrenaline	
	Urine	2.5 - 1000 ng/ml
Plasma	93 - 33 333 pg/ml	

The standard curve 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). Use a non-linear regression for curve fitting (e.g. spline, 4- parameter, akima).

#### Urine samples and controls

The concentrations of the **urine samples** and the **Controls 1 and 2** 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 concentrations of the **plasma samples** have to be **divided by 30**.

#### Conversion

Noradrenaline (ng/ml)  $\times$  5.91 = Noradrenaline (nmol/l)

#### Expected reference values

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

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using the Noradrenaline ELISA <sup>Fast Track</sup> the following values are observed:

	Noradrenaline
Urine	< 90 µg/day (535 nmol/day)
Plasma	< 600 pg/ml

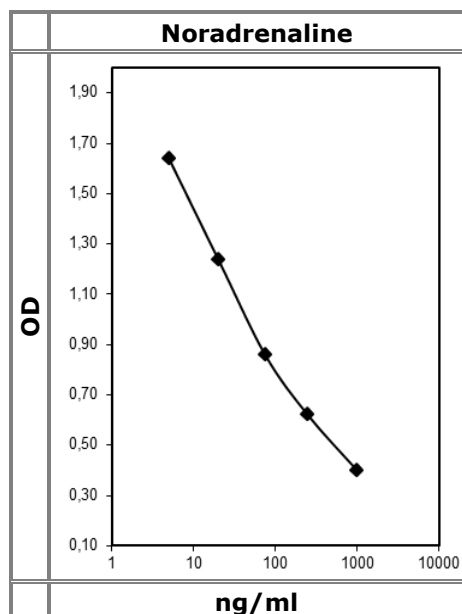
### 7.1 Quality control

It is recommended to use control samples according to national regulations. Use controls at both normal and pathological levels. The kit or other commercial controls should fall within established confidence limits. The confidence limits of the kit controls are printed on the QC-Report.

## 7.2 Typical standard curve



Example, do not use for calculation!



## 8. Assay characteristics

Analytical Sensitivity	LOD	Noradrenaline	
		Urine (ng/ml)	1.7
	Plasma (pg/ml)	0.04	
	LOQ	Urine (ng/ml)	2.5
Plasma (pg/ml)		93	

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

Precision							
Intra-Assay Urine (n = 60)				Intra-Assay Plasma (n = 60)			
	Sample	Range (ng/ml)	CV (%)		Sample	Range (pg/ml)	CV (%)
Noradrenaline	1	26.1 ± 3.6	13.8	Noradrenaline	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
Inter-Assay Urine (n = 33)				Inter-Assay Plasma (n = 18)			
	Sample	Range (ng/ml)	CV (%)		Sample	Range (pg/ml)	CV (%)
Noradrenaline	1	19.5 ± 3.9	20.0	Noradrenaline	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



Linearity			Serial dilution up to	Range (%)	Mean (%)
	Noradrenaline	Urine		1:512	100 - 127
Plasma			1:512	102 - 125	112







Recovery			Mean (%)	Range (%)	Range
	Noradrenaline	Urine		103	91 - 113
Plasma			87	75 - 107	51 – 16 735 pg/ml

## 9. References/Literature

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

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

### Symbols:

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

## 1. Einleitung

### 1.1 Verwendungszweck und Testprinzip

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Noradrenalin (Norepinephrin) in Plasma und Urin. Noradrenalin wird mittels eines cis-diolspezifischen Boronat-Affinitätsgels aus der Probe extrahiert, danach azyliert und anschließend enzymatisch umgewandelt. Der sich anschließende kompetitive ELISA basiert auf dem Mikrotiterplattenformat. Das Antigen ist als feste Phase an die Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Die derivatisierten Standards, Kontrollen und Proben und die an die Festphase gebundenen Antigene konkurrieren um die vorhandenen Bindungsstellen der Antikörper. Nachdem das System im Gleichgewicht ist, werden die ungebundenen Antigene und Antigen-Antikörper-Komplexe durch Waschen entfernt. Der an die Festphase gebundene Antikörper wird mit einem Peroxidase konjugierten Antikörper erkannt und anschließend mit TMB als Substrat durch eine Farbreaktion nachgewiesen. Die Reaktion wird bei 450 nm gemessen.

Die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden mit Hilfe einer Standardkurve und Abgleich der gemessenen Absorption ermittelt.

### 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.

Die Laborwerte selbst dürfen niemals der alleinige Grund für daraus abgeleitete therapeutische Konsequenzen sein.

## 2. Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen

### 2.1 Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen

- (1) Dieses Kit ist nur für den gewerblichen Gebrauch. Für eine erfolgreiche Anwendung dieses Kits benötigen die Anwender ein umfassendes Verständnis dieses Protokolls. Einzig die im Kit enthaltene Testanleitung 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 Probenarten validiert. Jede nicht zugelassene Anwendung dieses Kits obliegt der Verantwortung des Anwenders und entbindet den Hersteller von jeglicher Haftung.
- (3) Die humanes Serum oder Plasma enthaltenden Reagenzien des Kits wurden mit geprüften Verfahren auf HIV I/II, HBsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Dennoch sollten sämtliche Reagenzien bei der Handhabung und Entsorgung als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandelt werden.
- (4) Die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) sind zu befolgen.
- (5) Bei Bedarf Laborkittel, geeignete Einweghandschuhe und Schutzbrille tragen, um die Exposition gegenüber potenziell gesundheitsgefährdenden Stoffen zu reduzieren.
- (6) Alle Reagenzien des Kits sowie die Proben sollten vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig aber gründlich gemischt werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Reagenzien und Proben vermeiden.
- (7) Wenn die Verdünnung oder Rekonstitution mit Wasser erfolgen soll, hierfür deionisiertes, destilliertes oder ultra pures Wasser verwenden.

- (8) Die Mikrotiterplatte verfügt über abbrechbare Streifen. Ungenutzte Vertiefungen müssen bei 2 °C bis 8 °C mit Trockenmittelbeutel im verschlossenen Folienbeutel gelagert und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden.
- (9) Es ist sehr empfehlenswert, eine Doppelbestimmung der Proben durchzuführen, um mögliche Pipettierfehler erkennen zu können.
- (10) 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.
- (11) Die Inkubationszeiten haben Einfluss auf die Ergebnisse. Alle Vertiefungen sollten in der gleichen Reihenfolge und zeitlichen Abfolge behandelt werden.
- (12) Zur Vermeidung einer Kontamination der Reagenzien ist bei jeder Abgabe eines Reagenzes, einer Probe, eines Standards und einer Kontrolle eine neue Einwegpipettenspitze zu verwenden.
- (13) Bei jeder Testanwendung muss eine Standardkurve erstellt werden.
- (14) Bei jeder Testanwendung sollten Kontrollen mitgetestet werden, deren Werte innerhalb der bekannten Vertrauensgrenzen liegen müssen. Die gültigen Vertrauensgrenzen können dem QC-Report entnommen werden, der dem Kit beiliegt.
- (15) Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Chargenbezeichnungen nicht im selben Test verwenden. Reagenzien nach dem auf dem Kitetikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr benutzen.
- (16) Kontakt mit der Stopplösung vermeiden, da sie 0,25 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthält. Die Lösung kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen. Bei Berührung mit den Augen oder der Haut sofort mit Wasser aus- bzw. abspülen.
- (17) Einige Reagenzien enthalten Natriumazid (NaN<sub>3</sub>) als Konservierungsmittel. Bei Berührung mit den Augen oder der Haut sofort mit Wasser aus- bzw. abspülen. NaN<sub>3</sub> kann mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung der Reagenzien mit reichlich Wasser spülen, um die Ansammlung von Azid zu vermeiden.
- (18) Das TMB-Substrat reizt die Haut und Schleimhäute. Bei möglichem Kontakt Augen mit reichlich Wasser und Haut mit Seife und reichlich Wasser aus- bzw. abspülen. Kontaminierte Gegenstände vor der erneuten Verwendung abspülen.
- (19) Für Informationen zu den im Kit enthaltenen gesundheitsgefährdenden Stoffen siehe Sicherheitsdatenblatt (MSDS). Das Sicherheitsdatenblatt dieses Produkts ist direkt auf der Webseite des Herstellers abrufbar oder auf Anfrage erhältlich.
- (20) Die in dieser Testanleitung angegebenen erwarteten Referenzwerte dienen nur als Hinweis. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwertintervalle erstellt.
- (21) Therapeutische Maßnahmen dürfen sich nicht allein auf die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse stützen, sondern müssen mit anderen diagnostischen Tests und klinischen Beobachtungen abgewogen werden.
- (22) Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.

## 2.2 Anwendungsgrenzen

### 2.2 Grenzen des Tests

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

#### 2.2.1 Interferenzen

##### Plasma

Proben, die Präzipitate oder Fibrinfäden enthalten oder die hämolytisch oder lipämisch sind, können zu ungenauen Ergebnissen führen.

##### Sammelurin

Hinweise unter *Probenmaterial und Lagerung* beachten! Ist der Säuregehalt des 24h-Sammelurins zu hoch, reicht die Pufferkapazität des Extraktionspuffers nicht aus. In der Folge wird Noradrenalin nicht mehr ausreichend extrahiert.

#### 2.2.2 Beeinflussung durch Medikamente

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

#### 2.2.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test nicht auf.

## 3. Lagerung und Haltbarkeit

Die ungeöffneten Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum Verfallsdatum aufzubewahren. Die Reagenzien dürfen nach Überschreiten des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden. Einmal geöffnet sind die Reagenzien 1 Monat stabil, wenn sie bei 2 - 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Beutel der Mikrotiterplatte sollte stets mit Trockenmittelbeutel sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

## 4. Materialien

### 4.1 Reagenzien im Kit

- BA D-0090** FOILS **Adhesive Foil** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 4 Klebefolien in einem wiederverschließbaren Beutel  
 Volumen: 1 x 4 Folien
- BA E-0030** WASH-CONC 50x **Wash Buffer Concentrate** - 50x konzentriert  
 Inhalt: Puffer mit einem nicht-ionischen Detergenz und physiologischem pH  
 Volumen: 1 x 20 ml/Fläschchen, Deckel helllila
- BA E-0040** CONJUGATE **Enzyme Conjugate** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Ziege Anti-Kaninchen Immunglobuline konjugiert mit Peroxidase  
 Volumen: 1 x 12 ml/ Fläschchen, Deckel rot
- BA E-0055** SUBSTRATE **Substrate** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Chromogenes Substrat mit Tetramethylbenzidin, Substratpuffer und Wasserstoffperoxid  
 Volumen: 1 x 12 ml/ Fläschchen, Deckel schwarz
- BA E-0080** STOP-SOLN **Stop Solution** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 0,25 M Schwefelsäure  
 Volumen: 1 x 12 ml/ Fläschchen, Deckel hellgrau
- BA E-0231** NAD NMN **Noradrenaline Microtiter Strips** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 1 x 96 Well (12x8) Antigen beschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem gelben wiederverschließbaren Beutel, gelb gefärbt
- BA E-6210** NAD-AS **Noradrenaline Antiserum** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Kaninchen Anti-Noradrenalin Antikörper, gelb gefärbt  
 Volumen: 1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel gelb
- BA R-0050** ADJUST-BUFF **Adjustment Buffer** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: TRIS Puffer zur pH-Wert Einstellung  
 Volumen: 1 x 4 ml/ Fläschchen, Deckel grün

**Standards und Controls** - Gebrauchsfertig

Artikelnr.	Komponente	Deckel-farbe	Konzentration	Konzentration	Volumen/ Fläschchen
			ng/ml	nmol/l	
			NAD	NAD	
<b>BA R-6601</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD A</span>	weiß	0	0	4 ml
<b>BA R-6602</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD B</span>	hellgelb	5	30	4 ml
<b>BA R-6603</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD C</span>	orange	20	118	4 ml
<b>BA R-6604</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD D</span>	dunkelblau	75	443	4 ml
<b>BA R-6605</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD E</span>	hellgrau	250	1478	4 ml
<b>BA R-6606</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD F</span>	schwarz	1000	5910	4 ml
<b>BA R-6651</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">CONTROL 1</span>	hellgrün	Die zu erwartenden Konzentrationen und		4 ml
<b>BA R-6652</b>	<span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">CONTROL 2</span>	dunkelrot	Akzeptanzbereiche sind auf dem QC Report angegeben.		4 ml

Umrechnung: Noradrenalin (ng/ml) x 5,91 = Noradrenalin (nmol/l)

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

- BA R-6611** ACYL-BUFF **Acylation Buffer** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Leicht basischer Puffer zur Azylierung mit quecksilberfreien Stabilisatoren  
 Volumen: 1 x 20 ml/ Fläschchen, Deckel weiß

- BA R-6612** ACYL-REAG **Acylation Reagent** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Azylierungsreagenz in DMF und DMSO  
 Volumen: 1 x 3 ml/ Fläschchen, Deckel hellrot  
 Mögliche Gefahren:   
 H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.  
 H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.  
 H319 Verursacht schwere Augenreizung.
- BA R-6613** ASSAY-BUFF **Assay Buffer** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 1M Salzsäure mit quecksilberfreien Stabilisatoren  
 Volumen: 1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel hellgrau
- BA R-6614** COENZYME **Coenzyme** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: S-adenosyl-L-methionine  
 Volumen: 1 x 4 ml/ Fläschchen, Deckel lila
- BA R-6615** ENZYME **Enzyme** - Lyophilisat  
 Inhalt: Catechol-O-methyltransferase  
 Volumen: 2 Fläschchen, Deckel hellrosa
- BA R-6617** EXTRACT-BUFF **Extraction Buffer** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Carbonatpuffer  
 Volumen: 1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel braun
- BA R-6618** EXTRACT-PLATE 48 **Extraction Plate** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 2 x 48 Well Platte beschichtet mit Boronat Affinitäts gel 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 dunkelgrün

#### 4.2 Nicht im Kit enthaltene aber zur Durchführung erforderliche Geräte und Reagenzien

- Kalibrierte Präzisionspipetten zum Pipettieren von 10 – 700 µl; 1 ml
- Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten (manuell, halbautomatisch oder automatisch)
- Photometer zur Auswertung von Mikrotiterplatten mit 450 nm- und, wenn möglich, 620 - 650 nm-Filter
- Mikrotiterplattenschüttler (ca. 600 rpm mit Amplitude 3 mm)
- saugfähige Unterlage
- Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur)
- Vortex-Mischer

#### 5. Probenmaterial und Lagerung

##### **Plasma**

Das durch Venenpunktion entnommene Vollblut in einem für EDTA-Plasma vorgesehenen Blutentnahmeröhrchen(Plasma Monovette™ oder Vacuette™) 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.

Hämolytische und lipämische Plasmen sollten nicht eingesetzt werden.

##### **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

Alle Reagenzien und Proben müssen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig durchmischt werden. Die Durchführung von Doppelbestimmungen wird empfohlen. Die Reaktion des Antiserums, Enzymkonjugats und die Aktivität des Enzyms sind temperaturabhängig. Je höher die Temperatur desto höher die Absorption. Entsprechende Abweichungen ergeben sich ebenfalls durch variierende Inkubationszeiten. Die optimale Temperatur während des Enzymimmunoassay liegt zwischen 20 – 25 °C. Es wird empfohlen, dies mit einem Thermometer zu überprüfen.



Liegt die gemessene Extinktion außerhalb des Messbereichs, so muss innerhalb von 10 Minuten die Absorption mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei 405 nm gemessen werden.

### 6.1 Vorbereitung der Reagenzien Waschpuffer

20 ml **WASH-CONC 50X** mit Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur) auf ein Endvolumen von 1000 ml verdünnen.

Lagerung: 1 Monat 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!

### 6.2 Probenvorbereitung, Extraktion und Azylierung

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

**Überstand anschließend nicht verwerfen bzw. Platte nicht ausleeren!**  
Von den Extrakten werden für den nachfolgenden ELISA folgende Volumina benötigt:

<b>Noradrenalin</b>	<b>20 µl</b>
---------------------	--------------

### 6.3 Noradrenalin ELISA

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

### 7. Berechnung der Ergebnisse

Messbereich	Noradrenalin	
	Urin	2,5 - 1000 ng/ml
Plasma	93 - 33333 pg/ml	

Eine Standardkurve, mit deren Hilfe die Konzentration der unbekanntenen Proben ermittelt werden kann, wird durch Auftragen der gemessenen Standard-Absorptionen (linearer Maßstab auf der y-Achse) gegen die entsprechenden Standardkonzentrationen (logarithmischer Maßstab auf der x-Achse) erstellt. Für die Auswertung wird eine nicht-lineare Regression (z.B.: spline, 4- parameter, akima) verwendet.

#### 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 Konzentrationen müssen durch **30 dividiert** werden.

#### Umrechnung

Noradrenalin (ng/ml) x 5.91 = Noradrenalin (nmol/l)

#### Erwartete Referenzwerte

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

In einer Studie wurden Proben von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem Noradrenaline ELISA <sup>Fast Track</sup> folgende Werte:

	Noradrenalin
Urin	< 90 µg/Tag (535 nmol/Tag)
Plasma	< 600 pg/ml

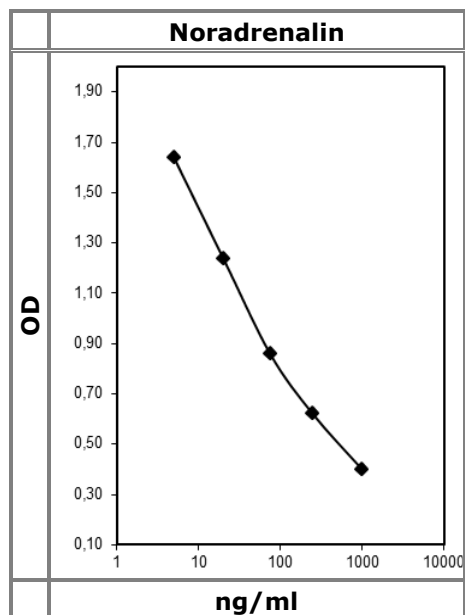
### 7.1 Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, mit jeder Testserie die Kitkontrollen und/oder andere kommerzielle Kontrollproben im normalen und pathologischen Bereich mitzubestimmen, um die Leistungsfähigkeit des Tests zu überprüfen. Die Kontrollproben müssen dabei innerhalb der angegebenen Bereiche liegen. Die Vertrauensbereiche der Kitkontrollen sind im QC-Report aufgeführt.

## 7.2 Typische Standardkurve



Beispiel: bitte nicht für die Auswertung verwenden!



## 8. Testcharakteristika

Analytische Sensitivität	LOD	Noradrenalin	
		Urine (ng/ml)	1,7
	Plasma (pg/ml)	0,04	
	LOQ	Urine (ng/ml)	2,5
Plasma (pg/ml)		93	

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

Präzision							
Intra-Assay Urin (n = 60)				Intra-Assay Plasma (n = 60)			
	Probe	Bereich (ng/ml)	CV (%)		Probe	Bereich (pg/ml)	CV (%)
Noradrenalin	1	26,1 ± 3,6	13,8	Noradrenalin	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
Inter-Assay Urin (n = 33)				Inter-Assay Plasma (n = 18)			
	Probe	Bereich (ng/ml)	CV (%)		Probe	Bereich (pg/ml)	CV (%)
Noradrenalin	1	19,5 ± 3,9	20,0	Noradrenalin	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



Linearität			Serielle Verdünnung bis	Bereich (%)	Mittelwert (%)
	Noradrenalin	Urin		1:512	100 - 127
Plasma			1:512	102 - 125	112







Wiederfindung			Mittelwert (%)	Bereich (%)	Bereich
	Noradrenalin	Urin		103	91 - 113
Plasma			87	75 - 107	51 – 16 735 pg/ml

## 9. Referenzen/Literatur

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

**⚠ Aktuelle Literatur oder weitere Informationen zum Test werden Ihnen auf Anforderung von Ihrem Anbieter gerne zu Verfügung gestellt.**

### Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Teste
	Verwendbar bis	<b>LOT</b>	Chargennummer	<b>IVD</b>	In vitro Diagnostikum
	Vor Gebrauch Packungsbeilage lesen	<b>CONT</b>	Inhalt	<b>CE</b>	CE gekennzeichnet
	Achtung	<b>REF</b>	Katalog-Nummer	<b>RUO</b>	Nur für Forschungszwecke