

---

**Instructions for use**  
**Normetanephrine Urine ELISA**

**REF**

**DEE8500**



**IVD**



## 1. Introduction

### 1.1 Intended use and principle of the test

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of Normetanephrine in urine

During the sample preparation Normetanephrine (Normetadrenaline) is quantitatively acylated. 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 and the solid phase bound analyte 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

Metanephrine and Normetanephrine are the metabolites of the catecholamines Epinephrine and Norepinephrine, respectively. They are metabolized to Vanillylmandelic acid or excreted with the urine.

Patients with pheochromocytoma or other tumors derived from neuroendocrine cells show elevated urinary levels of total Metanephrines.

As catecholamine secretion from neuroendocrine cells might show high variations, urine samples collected over a period of 24 hours are used to average these fluctuations.

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 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) 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.
- (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

#### 24-hour urine

Please note the *sample collection and storage!* If the percentage of the final concentration of acid is too high, the buffer capacity of the Acylation Buffer is insufficient. As a consequence Normetanephrine will not be acylated adequately.

### 2.2.2 Drug interferences

There are no known substances (drugs) which ingestion interferes with the measurement of Normetanephrine 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

|                  |   |   |
|------------------|---|---|
| <b>BA D-0023</b> | <b>REAC-TUBES</b>   | <b>Reaction Tubes</b> - Ready to use              |
| Content:         | Reaction Tubes in a resealable pouch  |   |
| Volume:          | 2 x 50 tubes  |   |
| <b>BA E-0030</b> | <b>WASH-CONC 50x</b>  | <b>Wash Buffer Concentrate</b> - Concentrated 50x |
| Content:         | Buffer with a non-ionic detergent and physiological pH  |   |
| Volume:          | 1 x 20 ml/vial, light purple cap  |   |
| <b>BA E-0045</b> | <b>CONJUGATE</b>  | <b>Enzyme Conjugate</b> - Ready to use            |
| Content:         | Goat anti-rabbit immunoglobulins conjugated with peroxidase                                   |   |
| Volume:          | 1 x 12 ml/vial, red cap   |   |
| <b>BA E-0055</b> | <b>SUBSTRATE</b>  | <b>Substrate</b> - Ready to use                   |
| Content:         | Chromogenic substrate containing tetramethylbenzidine, substrate buffer and hydrogen peroxide |   |
| Volume:          | 1 x 12 ml/vial, black cap   |   |
| <b>BA E-0080</b> | <b>STOP-SOLN</b>  | <b>Stop Solution</b> - Ready to use               |
| Content:         | 0.25 M sulfuric acid  |   |
| Volume:          | 1 x 12 ml/vial, light grey cap  |   |

**BA E-0231** NAD NMN **Normetanephrine 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-8510** NMN-AS **Normetanephrine Antiserum** - Ready to use  
 Content: Rabbit anti-Normetanephrine antibody, yellow coloured  
 Volume: 1 x 12 ml/vial, yellow cap

**Standards and Controls** - Ready to use

| Cat. no.         | Component  | Colour/Cap   | Concentration   | Concentration   | Volume/<br>Vial |
|------------------|--|--------------|---|---|-----------------|
|                  |  |              | ng/ml (= µg/l)<br><span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">NMN</span> | nmol/l<br><span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">NMN</span> |                 |
| <b>BA R-8601</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD A</span> | white        | 0   | 0   | 4 ml            |
| <b>BA R-8602</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD B</span> | light yellow | 30  | 164   | 4 ml            |
| <b>BA R-8603</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD C</span> | orange       | 90  | 491   | 4 ml            |
| <b>BA R-8604</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD D</span> | dark blue    | 300   | 1 638   | 4 ml            |
| <b>BA R-8605</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD E</span> | light grey   | 900   | 4 914   | 4 ml            |
| <b>BA R-8606</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">STANDARD F</span> | black        | 3 000   | 16 380  | 4 ml            |
| <b>BA R-8651</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">CONTROL 1</span>  | light green  | Refer to QC-Report for expected value and acceptable range!                         |   | 4 ml            |
| <b>BA R-8652</b> | <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">CONTROL 2</span>  | dark red     |   |   | 4 ml            |

Conversion: Normetanephrine (ng/ml) x 5.46 = Normetanephrine (nmol/l)

Contents: Acidic buffer with non-mercury preservatives, spiked with defined quantity of Normetanephrine

**BA R-0012** ACYL-CONC **Acylation Concentrate** - Concentrated

Content: Concentrated acylation reagent

Volume: 1 x 0.5 ml/vial, white cap

Hazards identification:



H 314 Causes severe skin burns and eye damage.

**BA R-0075** ACYL-DILUENT **Acylation Diluent** - Ready to use

Content: Dimethylsulfoxide

Volume: 1 x 4 ml/vial, dark grey cap

**BA R-8611** ACYL-BUFF **Acylation Buffer** - Ready to use

Content: TRIS buffer

Volume: 1 x 30 ml/vial, white cap

**BA R-8619** HCL **Hydrochloric Acid** - Ready to use

Content: 0.25 M hydrochloric acid, yellow coloured

Volume: 1 x 30 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 – 600 µl; 1.2 – 3 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
- Absorbent material (paper towel)
- Water (deionized, distilled, or ultra-pure)
- Vortex mixer
- Temperature controlled water bath (90 °C) or similar heating device



The assay can be performed with or without shaking. If a microtiter plate shaker is used, it should have the following characteristics: shaking amplitude 3 mm; approx. 600 rpm

## 5. Sample collection and storage

Spontaneous or 24-hour urine, collected in a bottle containing 10 - 15 ml of 6 M HCl, should be used. Determine the total volume of urine excreted during a period of 24 h for calculation of the results. Storage: 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 to reach room temperature and mix thoroughly by gentle inversion before use. Number the Reaction Tubes accordingly. Duplicate determinations are recommended.

The binding of the antibodies and the enzyme conjugates and the activity of the enzyme used are temperature dependent, and the absorption values may vary if a thermostat is not used. The higher the temperature, the higher the absorption values will be. The absorption values also depend on the incubation times. 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

#### **Acylation Solution**



*Before preparing the Acylation Solution make sure that the Acylation Diluent (BA R-0075) has reached room temperature ( $\geq 20^{\circ}\text{C}$ ) and forms a homogenous, crystal-free solution.*

Dilute the Acylation Concentrate (BA R-0012) 1 + 60 with Acylation-Diluent in a glass or polypropylene-vial.

|                              |                   |                  |                  |                  |
|------------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>Acylation Concentrate</b> | 10 $\mu\text{l}$  | 20 $\mu\text{l}$ | 25 $\mu\text{l}$ | 50 $\mu\text{l}$ |
| <b>Acylation-Diluent</b>     | 600 $\mu\text{l}$ | 1.2 ml           | 1.5 ml           | 3 ml             |



*The Acylation Solution has to be prepared freshly prior to the assay (not longer than 60 minutes in advance). Discard after use!*

### 6.2 Sample preparation and acylation


#### **Hydrolysis**

1. Pipette **25  $\mu\text{l}$**  of **standards, controls,** and **urine samples** into the respective **Reaction Tubes**.
2. Add **250  $\mu\text{l}$  Hydrochloric Acid** to all tubes.
3. Mix thoroughly (vortex) and hydrolyze for **30 min** at **90 °C**.
4. Cool down the tubes to room temperature.




***For the measurement of the free Normetanephrine only, leave away step 3 and 4.***

#### **Acylation**

1. Pipette **250  $\mu\text{l}$**  of **Acylation Buffer** into all tubes.
  2. Add **25  $\mu\text{l}$**  of **Acylation Solution** (*refer to 6.1*) to all tubes.
  3. Mix thoroughly (vortex) and acylate for **15 min** at **RT** (20 – 25 °C).
  4. Add **2.5 ml water** (deionized, distilled, or ultra-pure) to all tubes.
-  Take **25  $\mu\text{l}$**  of the acylated **standards, controls and urine samples** for the **Normetanephrine ELISA**.

### 6.3 Normetanephine ELISA

The usage of a shaker is not mandatory. The alternative protocol without shaker is highlighted in italic and shaded in grey.

|     |  |
|-----|--|
| 1.  | Pipette <b>25 µl</b> of the <b>acylated standards, controls and samples</b> into the appropriate wells of the <b>Normetanephine Microtiter Strips</b> .  |
| 2.  | Pipette <b>100 µl</b> of the <b>Normetanephine Antiserum</b> into all wells.   |
| 3.  | Incubate <b>30 min at RT</b> (20 – 25 °C) on a <b>shaker</b> (approx. 600 rpm).<br><i>Without usage of a shaker: shake <b>Normetanephine Microtiter Strips</b> shortly by hand and incubate for <b>1 h at RT</b> (20 – 25 °C).</i>   |
| 4.  | Discard or aspirate the contents 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.  |
| 5.  | Pipette <b>100 µl</b> of the <b>Enzyme Conjugate</b> into all wells.   |
| 6.  | Incubate for <b>15 min at RT</b> (20 – 25 °C) on a <b>shaker</b> (approx. 600 rpm).<br><i>Without usage of a shaker: incubate for <b>15 min at RT</b> (20 – 25 °C).</i>  |
| 7.  | Discard or aspirate the contents 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.  |
| 8.  | Pipette <b>100 µl</b> of the <b>Substrate</b> into all wells.  |
| 9.  | Incubate for <b>15 ± 2 min at RT</b> (20 – 25 °C) on a <b>shaker</b> (approx. 600 rpm).<br> <i>Without usage of a shaker: incubate for <b>15 min ± 2 at RT</b> (20 – 25 °C).</i><br><b>Avoid exposure to direct sunlight!</b> |
| 10. | 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.  |
| 11. | <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

|                        |                       |
|------------------------|-----------------------|
| <b>Measuring range</b> | <b>Normetanephine</b> |
|                        | 23 – 3 000 ng/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).

The concentrations of the samples and controls can be read directly from the standard curve.

The amount of analyte excreted per day (µg/day) is calculated according to:

$$\text{concentration of the sample (in } \mu\text{g/l)} \times \text{volume of urine excreted per day (in l/day)}$$

#### Example

The concentration of the sample read from the curve is 125 µg/l. The amount of urine collected during 24 hours is 1.3 l. Then the amount of analyte excreted during one day would be:

$$125 \mu\text{g/l} \times 1.3 \text{ l/day} = 162.5 \mu\text{g/day}$$

#### Conversion

$$\text{Normetanephine (ng/ml)} \times 5.46 = \text{Normetanephine (nmol/l)}$$

#### Expected reference value

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

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using the Normetanephine Urine ELISA <sup>Fast Track</sup> the following value is observed:

|                       |
|-----------------------|
| <b>Normetanephine</b> |
| < 600 µg/day          |

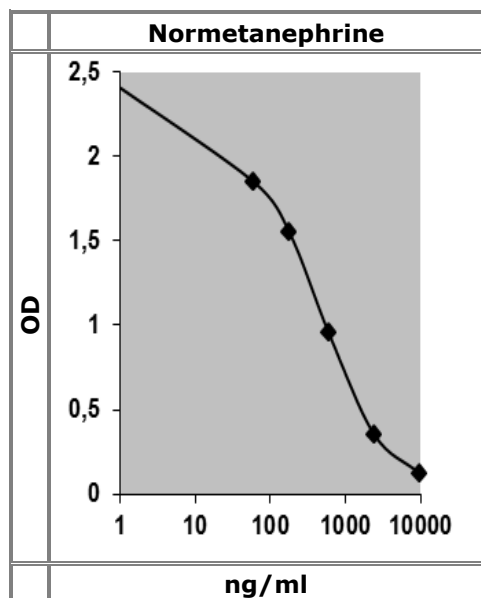
## 7.1 Quality control

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 indicated on the QC-Report.

## 7.2 Typical standard curve



Example, do not use for calculation!



## 8. Assay characteristics

| Analytical Sensitivity<br>(Limit of Detection) | Normetanephrine |          |
|--|-----------------|----------|
|  | Urine           | 23 ng/ml |

| Analytical Specificity<br>(Cross Reactivity) | Substance  | Cross Reactivity (%) |
|--|--|----------------------|
|  |  | Normetanephrine      |
|  | Derivatized Metanephrine   | 0.11                 |
|  | Derivatized Normetanephrine  | 100                  |
|  | Derivatized 3-methoxytyramine  | 0.19                 |
|  | Adrenaline   | < 0.001              |
|  | Noradrenaline  | 0.64                 |
|  | Dopamine   | < 0.01               |
|  | Vanillic mandelic acid, L-Dopa,<br>Homovanillic acid, L-Tyrosin, Tyramin | < 0.001              |

| Precision       |        |                  |        |                 |        |                  |        |
|-----------------|--------|------------------|--------|-----------------|--------|------------------|--------|
| Intra-Assay     |        |                  |        | Inter-Assay     |        |                  |        |
|                 | Sample | Range<br>(ng/ml) | CV (%) |                 | Sample | Range<br>(ng/ml) | CV (%) |
| Normetanephrine | 1      | 200 ± 34         | 17.2   | Normetanephrine | 1      | 191 ± 41         | 21.4   |
|                 | 2      | 857 ± 153        | 17.8   |                 | 2      | 682 ± 131        | 19.3   |

| Linearity |                 |       | Range            | Serial dilution up to | Mean (%) |
|-----------|-----------------|-------|------------------|-----------------------|----------|
|           | Normetanephrine | Urine | 40 – 5 200 ng/ml | 1:16                  | 93       |

| Recovery |                 |       | Mean (%) | Range (%) | % Recovery<br>after spiking |
|----------|-----------------|-------|----------|-----------|-----------------------------|
|          | Normetanephrine | Urine | 103      | 90 – 113  |                             |







|   |                 |       |                        |                  |
|---|-----------------|-------|------------------------|------------------|
| <b>Method Comparison versus HPLC*</b>   | Normetanephrine | Urine | HPLC = 0.9 ELISA + 0.6 | r = 0.99; n = 40 |
| *The concentrations were assessed using both the ELISA and the HPLC method (external QC samples from UK NEQAS). The correlation between ELISA and HPLC is excellent. Please take in mind, that the UK control values are the mean of about 40 different HPLC users, and contain always one pathological sample per sending. |                 |       |                        |                  |

## 9. References/Literature

- (1) Parrott et al. Urinary corticosterone and normetanephrine levels after voluntary wheel and forced treadmill running in the db/db mouse. *Journal of Diabetes Mellitus*, 1(4):71-78 (2011)
- (2) Petramala et al. Multiple Catecholamine-Secreting Paragangliomas: Diagnosis after Hemorrhagic Stroke in a Young Woman. *Endocrine Practice*, 14(3):340-346 (2008)
- (3) Sato et al. Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nature Medicine*, 13:1234-1240 (2007)

 **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 Normetanephrin in Urin.

Während der Probenvorbereitung wird Normetanephrin zu seinem entsprechenden N-Acyl-Derivat umgewandelt.

Der sich anschließende kompetitive ELISA basiert auf dem Mikrotiterplattenformat. Das Antigen ist an eine feste Phase gebunden. Die acylierten 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 freien Antigene und die freien Antigen-Antikörper-Komplexe durch Waschen entfernt. Der an der festen Phase gebundene Antigen-Antikörper-Komplex wird mit einem Peroxidase-markierten anti-Kaninchen Antikörper bestimmt und 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

Metanephrene und Normetanephrene sind Metaboliten der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin und werden zum Teil im Körper zu Vanillinmandelsäure metabolisiert oder direkt über den Urin ausgeschieden. Patienten mit einem Phäochromozytom oder anderen neuroendokrinen Tumoren weisen eine erhöhte Konzentration der Metanephrene bzw. Normetanephrene im Urin auf. Da die Katecholamine Sekretion aus den neuroendokrinen Zellen phasenweise stark schwankt, soll 24 Stunden Urin verwendet werden.

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 Probenart 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 Kalibrierkurve 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 das 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 Grenzen des Tests

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

### 2.2.1 Interferenzen

#### Sammelurin

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

### 2.2.2 Beeinflussung durch Medikamente

Bislang sind keine Stoffe (Medikamente) bekannt, deren Einnahme die Bestimmung des Normetanephrin-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-0023

REAC-TUBES

Reaction Tubes - Gebrauchsfertig

Inhalt: Reaktionsröhrchen in einem wiederverschließbaren Beutel

Volumen: 2 x 50 Röhrchen

#### 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-0045** **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** **Normetanephine Microtiter Strips** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 1 x 96 Well (12x8) Antigen beschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem gelben wiederverschließbaren Beutel, gelb gefärbt
- BA E-8510** **NMN-AS** **Normetanephine Antiserum** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Kaninchen Anti-Normetanephrin Antikörper, gelb gefärbt  
 Volumen: 1 x 12 ml/Fläschchen, Deckel gelb

**Standards und Controls** - Gebrauchsfertig

| Artikelnr.       | Komponente        | Deckelfarbe | Konzentration  | Konzentration | Volumen/<br>Fläschchen |
|------------------|-------------------|-------------|--|---------------|------------------------|
|                  |                   |             | ng/ml (= µg/l)   | nmol/l        |                        |
|                  |                   |             | NMN  | NMN           |                        |
| <b>BA R-8601</b> | <b>STANDARD A</b> | weiß        | 0  | 0             | 4 ml                   |
| <b>BA R-8602</b> | <b>STANDARD B</b> | hellgelb    | 30   | 164           | 4 ml                   |
| <b>BA R-8603</b> | <b>STANDARD C</b> | orange      | 90   | 491           | 4 ml                   |
| <b>BA R-8604</b> | <b>STANDARD D</b> | dunkelblau  | 300  | 1638          | 4 ml                   |
| <b>BA R-8605</b> | <b>STANDARD E</b> | hellgrau    | 900  | 4914          | 4 ml                   |
| <b>BA R-8606</b> | <b>STANDARD F</b> | schwarz     | 3000   | 16380         | 4 ml                   |
| <b>BA R-8651</b> | <b>CONTROL 1</b>  | hellgrün    | Die zu erwartenden Konzentrationen und Akzeptanzbereiche sind auf dem QC-Report angegeben. |               | 4 ml                   |
| <b>BA R-8652</b> | <b>CONTROL 2</b>  | dunkelrot   |  |               | 4 ml                   |

Umrechnung: Normetanephrin (ng/ml) x 5.46 = Normetanephrin (nmol/l)

Inhalt: Saurer Puffer mit quecksilberfreien Konservierungsmitteln, aufgestockt mit einer definierten Menge Normetanephrin

**BA R-0012** **ACYL-CONC** **Acylation Concentrate** - konzentriert

Inhalt: Konzentriertes Azylierungsreagenz

Volumen: 1 x 0,5 ml/ Fläschchen, Deckel weiß

Mögliche Gefahren:



H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

**BA R-0075** **ACYL-DILUENT** **Acylation Diluent** - Gebrauchsfertig

Inhalt: Dimethylsulfoxid

Volumen: 1 x 4 ml/ Fläschchen, Deckel dunkelgrau

**BA R-8611** **ACYL-BUFF** **Acylation Buffer** - Gebrauchsfertig

Inhalt: TRIS Puffer

Volumen: 1 x 30 ml/ Fläschchen, Deckel weiß

**BA R-8619** **HCL** **Hydrochloric Acid** - Gebrauchsfertig

Inhalt: 0,25 M Salzsäure, gelb gefärbt

Volumen: 1 x 30 ml/ Fläschchen, Deckel dunkelgrün

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

- Kalibrierte Präzisionspipetten zum Pipettieren von 10 – 600 µl; 1,2 – 3 ml
- Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten (manuell, halbautomatisch oder automatisch)
- Photometer zur Auswertung von Mikrotiterplatten mit 450 nm- und, wenn möglich, 620 – 650 nm-Filter
- Saugfähige Unterlage
- Vortex-Mischer
- Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur)
- Temperatur- kontrolliertes Wasserbad (90 °C) oder ähnliche Heizvorrichtung



Der Assay kann ohne Verwendung eines Mikrotiterplattenschüttlers durchgeführt werden. Wird jedoch ein Schüttler verwendet, sollte dieser folgende Charakteristika haben: Amplitude 3 mm; ca. 600 rpm.

## 5. Probenmaterial und Lagerung

Spontan- oder 24 Stunden Sammelurin (gesammelt in einem Behälter mit 10 - 15 ml 6 M HCl).

Für die quantitative Bestimmung der im Verlauf eines Tages ausgeschiedenen Menge an Normetanephrin ist es notwendig, das Volumen des Tagesurins zu bestimmen und für die spätere Auswertung der Ergebnisse zu notieren.

Lagerung: für längere Zeit (bis zu 6 Monate) bei -20 °C. Direktes Sonnenlicht vermeiden.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben sollte vermieden werden.

## 6. Testdurchführung

Vor dem Gebrauch müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht **und vorsichtig durchmischt** werden. Die Durchführung von Doppelbestimmungen wird empfohlen.

Die Reaktion des Antikörpers, Enzymkonjugats und die Aktivität des Enzyms sind temperaturabhängig und sollten durch ein Thermostat sichergestellt sein. Je höher die Temperatur, desto höher werden die Absorptionswerte. Entsprechende Abweichungen ergeben sich ebenfalls durch die Inkubationszeiten. Die optimale Temperatur während des Enzymimmunoassays ist zwischen 20 – 25 °C. Es wird empfohlen, dies mit einem Thermometer zu überprüfen.



Liegt die gemessene Absorption 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

#### **Azylierungslösung**



Das **ACYL-DILUENT** (BA R-0075) muss vor Verwendung auf Raumtemperatur ( $\geq 20^\circ\text{C}$ ) gebracht werden und eine homogene, kristalfreie Lösung bilden.

Das **ACYL-CONC** (BA R-0012) wird mit dem **ACYL-DILUENT** (BA R-0075) **1 + 60** in einem **Glas- oder Polypropylenröhrchen** verdünnt.

|                                 |        |        |        |       |
|---------------------------------|--------|--------|--------|-------|
| <b>ACYL-CONC (BA R-0012)</b>    | 10 µl  | 20 µl  | 25 µl  | 50 µl |
| <b>ACYL-DILUENT (BA R-0075)</b> | 600 µl | 1,2 ml | 1,5 ml | 3 ml  |



Die gebrauchsfertige Azylierungslösung erst unmittelbar vor Gebrauch ansetzen (maximal 60 Minuten vorher) und nach Gebrauch Reste verwerfen!


### 6.2 Probenvorbereitung und Azylierung **Hydrolyse**

1. Jeweils **25 µl** der **Standards, Kontrollen** und **Urinproben** in die entsprechenden **REAC-TUBES** pipettieren.
2. **250 µl HCL** in **alle REAC-TUBES** hinzufügen
3. Die **REAC-TUBES** sorgfältig mischen (Vortex) und **30 Min** bei **90 °C** inkubieren.
4. Die **REAC-TUBES** auf Raumtemperatur abkühlen lassen.



**Sollte ausschließlich das freie Normetanephrin bestimmt werden, wird keine Hydrolyse durchgeführt (d.h. Punkt 3 und 4 werden ausgelassen).**

## Azylierung

|   |  |
|---|--|
| 1.  | Jeweils <b>250 µl</b> <b>ACYL-BUFF</b> in alle <b>REAC-TUBES</b> pipettieren.  |
| 2.  | <b>25 µL Azylierungslösung</b> (siehe 6.1) in alle <b>REAC-TUBES</b> pipettieren.  |
| 3.  | Sorgfältig mischen (Vortex) und für <b>15 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) inkubieren.   |
| 4.  | <b>2,5 ml Wasser</b> (deionisiert, destilliert oder ultra-pur) in alle <b>REAC-TUBES</b> hinzufügen.   |
|  | Jeweils <b>25 µl</b> der <b>azylierten Standards, Kontrollen und Urinproben</b> werden für den nachfolgenden <b>Normetanephrin ELISA</b> benötigt. |

### 6.3 Normetanephrin ELISA

Die Verwendung eines Schüttlers ist nicht unbedingt erforderlich. Die alternativen Inkubationszeiten ohne Schüttler sind jeweils in kursiver Schreibweise vermerkt und grau hinterlegt.

|     |  |
|-----|--|
| 1.  | Jeweils <b>25 µl</b> der <b>azylierten Standards, Kontrollen</b> und <b>Proben</b> in die entsprechenden Kavitäten der <b>W NAD NMN</b> pipettieren.   |
| 2.  | Jeweils <b>100 µl</b> <b>NMN-AS</b> in alle Kavitäten pipettieren.   |
| 3.  | Platte <b>30 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) auf einem <b>Schüttler</b> (ca. 600 rpm) inkubieren.<br><i>(oder kurz per Hand schütteln und 1 Stunde bei RT (20 – 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).</i>  |
| 4.  | 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. |
| 5.  | Jeweils <b>100 µl</b> <b>CONJUGATE</b> in alle Kavitäten pipettieren.  |
| 6.  | Für <b>15 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) auf einem <b>Schüttler</b> (ca. 600 rpm) inkubieren.<br><i>(oder 15 Minuten bei RT (20 – 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).</i>   |
| 7.  | 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. |
| 8.  | Jeweils <b>100 µl</b> <b>SUBSTRATE</b> in alle Kavitäten pipettieren   |
| 9.  | Für <b>15 ± 2 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) auf einem <b>Schüttler</b> (ca. 600 rpm) inkubieren.<br><i>(oder 15 ± 2 Minuten bei RT (20 – 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).</i><br><b>Direktes Sonnenlicht vermeiden!</b>                             |
| 10. | <b>100 µl</b> <b>STOP-SOLN</b> in alle Kavitäten pipettieren und die Mikrotiterplatte kurz schütteln.  |
| 11. | <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

|                    |                        |
|--------------------|------------------------|
| <b>Messbereich</b> | <b>Normetanephrine</b> |
|                    | 23 – 3000 ng/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.

Die Konzentrationen der Proben können direkt von der Standardkurve abgelesen werden.

Die Gesamtmenge an Normetanephrin, die im Verlauf von 24 Stunden ausgeschieden wird, errechnet sich nach:

Aus der Standardkurve abgelesene Konzentration der Probe (in µg/l) **x** Tagesmenge Urin (in l/Tag)

#### Beispiel

Die abgelesene Konzentration der Probe aus der Standardkurve beträgt 125 µg/l. Die Tagesmenge an gesammeltem Urin beträgt 1,3 l. Demnach ist die Gesamtmenge, die im Verlauf von 24 Stunden ausgeschieden wurde folgende:

$$125 \mu\text{g/l} \times 1,3 \text{ l/Tag} = 162,5 \mu\text{g/Tag}$$

### Umrechnung

Normetanephrin (ng/ml) x 5,46 = Normetanephrin (nmol/l)

### Erwarteter Referenzwert

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen Referenzwert ermittelt.

In einer Studie wurden Proben von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem Normetanephrine Urine ELISA <sup>Fast Track</sup> folgender Wert:

|                                       |
|---------------------------------------|
| <b>Normetanephrin</b><br>< 600 µg/Tag |
|---------------------------------------|

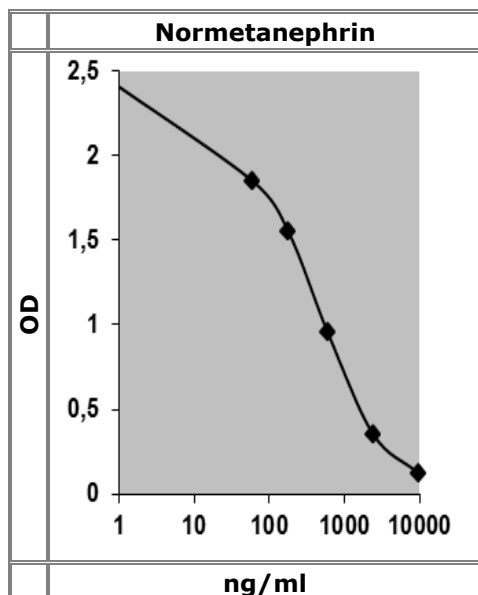
### 7.1 Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, mit jeder Testserie entweder die Kitkontrollen und/oder andere kommerzielle Kontrollproben im normalen und pathologischen Bereich mitzubestimmen, um die Leistungsfähigkeit des Tests zu überprüfen. Diese Kontrollen müssen dabei wie die unbekanntenen Proben behandelt werden. Die Kontrollproben müssen innerhalb der Vertrauensbereiche liegen. Die Vertrauensbereiche der Kitkontrollen sind im QC-Report aufgeführt.

### 7.2 Typische Standardkurve



Beispiel, bitte nicht für die Auswertung verwenden!



### 8. Testcharakteristika

|  |      |                       |
|--|------|-----------------------|
| <b>Analytische Sensitivität<br/>(Limit of Detection)</b> |      | <b>Normetanephrin</b> |
|  | Urin | 23 ng/ml              |

| <b>Spezifität<br/>(Kreuzreaktion)</b> | <b>Substanz</b>  | <b>Kreuzreaktion (%)</b> |
|---------------------------------------|--|--------------------------|
|                                       |  | Normetanephrin           |
|                                       | Derivatisiertes Metanephrin  | 0,11                     |
|                                       | Derivatisiertes Normetanephrin   | 100                      |
|                                       | Derivatisiertes 3-Methoxytyramin   | 0,19                     |
|                                       | Adrenalin  | < 0,001                  |
|                                       | Noradrenalin   | 0,64                     |
|                                       | Dopamin  | < 0,01                   |
|                                       | Vanillinmandelsäure,<br>Homovanillinsäure, L-Dopa, L-Tyrosin,<br>Tyramin | < 0,001                  |

| Präzision      |       |                 |        |                |       |                 |        |
|----------------|-------|-----------------|--------|----------------|-------|-----------------|--------|
| Intra-Assay    |       |                 |        | Inter-Assay    |       |                 |        |
|                | Probe | Bereich (ng/ml) | CV (%) |                | Probe | Bereich (ng/ml) | CV (%) |
| Normetanephrin | 1     | 200 ± 34        | 17,2   | Normetanephrin | 1     | 191 ± 41        | 21,4   |
|                | 2     | 857 ± 153       | 17,8   |                | 2     | 682 ± 131       | 19,3   |

| Linearität |  |                | Bereich | Serielle Verd. bis zu | Mittelwert (%) |
|------------|--|----------------|---------|-----------------------|----------------|
|            |  | Normetanephrin | Urin    | 40 – 5200 ng/ml       | 1:16           |

| Wiederfindung |  |                | Mittelwert (%) | Bereich (%) | % Wiederfindung nach Aufstockung |
|---------------|--|----------------|----------------|-------------|----------------------------------|
|               |  | Normetanephrin | Urin           | 103         | 90 – 113                         |

| Methodenvergleich mit HPLC* | Normetanephrin | Urin | HPLC = 0.9 ELISA + 0.6 | r = 0,99; n = 40 |
|-----------------------------|----------------|------|------------------------|------------------|
|-----------------------------|----------------|------|------------------------|------------------|













\* Die Werte wurden mit der ELISA- und HPLC-Methode (externe QC-Proben von UK-NEQUAS) bestimmt. Die Korrelation zwischen ELISA und HPLC ist ausgezeichnet. Es ist zu beachten, dass die UK-NEQUAS Kontrollwerte dem Mittelwert der von ca. 40 verschiedenen HPLC- Anwendern angegebenen Werte entsprechen und immer eine pathologische Probe pro Aussendung enthalten.

## 9. Referenzen/Literatur

- (1) Parrott et al. Urinary corticosterone and normetanephrine levels after voluntary wheel and forced treadmill running in the db/db mouse. *Journal of Diabetes Mellitus*, 1(4):71-78 (2011)
- (2) Petramala et al. Multiple Catecholamine-Secreting Paragangliomas: Diagnosis after Hemorrhagic Stroke in a Young Woman. *Endocrine Practice*, 14(3):340-346 (2008)
- (3) Sato et al. Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nature Medicine*, 13:1234-1240 (2007)

 **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                     |  | Chargennummer  |  | In vitro Diagnostikum              |
|  | Vor Gebrauch Packungsbeilage lesen |  | Inhalt         |  | CE gekennzeichnet                  |
|  | Achtung                            |  | Katalog-Nummer |  | Nur für Forschungszwecke           |