



## Instructions for Use

# Normetanephrine Urine ELISA

**IVD**

**CE**

**REF EIA-4321**



**96**



**DRG**

DRG Instruments GmbH, Germany  
Frauenbergstraße 18, 35039 Marburg  
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50  
Website: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)



**DRG**

DRG International, Inc., USA  
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081  
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556  
Website: [www.drg-international.com](http://www.drg-international.com)  
E-mail: [corp@drg-international.com](mailto:corp@drg-international.com)

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.**  
**Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.**  
**Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.**  
**Por favor, se usa solo la versión válida de la metodico técnico incluido aquí en el kit.**  
**Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

### Table of Contents / Inhaltsverzeichnis

1	INTRODUCTION .....	2
2	PROCEDURAL CAUTIONS, GUIDELINES, WARNINGS AND LIMITATIONS .....	2
3	STORAGE AND STABILITY .....	3
4	MATERIALS.....	3
5	SAMPLE COLLECTION, HANDLING AND STORAGE .....	5
6	TEST PROCEDURE.....	5
7	CALCULATION OF RESULTS.....	6
8	CONTROL SAMPLES .....	7
9	ASSAY CHARACTERISTICS.....	7
10	REFERENZEN/LITERATUR .....	16
	SYMBOLS USED.....	17

## 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 compete with the solid phase bound analytes for a fixed number of antibody binding sites. After the system is in equilibrium, free antigen and free antigen-antibody complexes are removed by washing. The antibody bound to the solid phase is detected by an anti-rabbit IgG-peroxidase conjugate using TMB as a substrate resulting in a color reaction. The reaction is monitored at a wavelength of 450 nm.

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

### 1.2 Clinical application

Metanephhrine 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 Metanephhrines.

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 these results are assessed in accordance with quality criteria of the method. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of the patient. Only in cases where the laboratory results are in an acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient it can be used for therapeutic consequences.

## 2 PROCEDURAL CAUTIONS, GUIDELINES, WARNINGS AND LIMITATIONS

### 2.1 Procedural cautions, guidelines and warnings

1. This kit is intended for professional use only. Users should have a thorough understanding of this protocol for the successful use of this kit. Only the test instruction provided with the kit is valid and must be used to run the assay. Reliable performance will only be attained by strict and careful adherence to the instructions provided.
2. This assay was validated for a certain type of sample as indicated in *Intended Use* (please refer to Chapter 1). Any off-label use of this kit is in the responsibility of the user and the manufacturer cannot be held liable.
3. The principles of Good Laboratory Practice (GLP) must be followed.
4. In order to reduce exposure to potentially harmful substances, wear lab coats, disposable protective gloves and protective glasses where necessary.
5. If serious incidents should occur in connection with this product, they should be reported to the manufacturer and the competent national authorities.
6. All kit reagents and specimens should be brought to room temperature and mixed gently but thoroughly before use. For dilution or reconstitution purposes, use deionized, distilled, or ultra-pure water. Avoid repeated freezing and thawing of reagents and specimens.
7. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch with desiccant and used in the frame provided. Microtiter strips which are removed from the frame for usage should be marked accordingly to avoid any mix-up.
8. Duplicate determination of sample is highly recommended.
9. Once the test has been started, all steps should be completed without interruption. Make sure that the required reagents, materials and devices are prepared for use at the appropriate time.
10. Incubation times do influence the results. All wells should be handled in the same order and time intervals.
11. To avoid cross-contamination of reagents, use new disposable pipette tips for dispensing each reagent, sample, standard and control.
12. A standard curve must be established for each run.
13. The controls should be included in each run and fall within established confidence limits. The confidence limits are listed in the QC-Report provided with the kit.
14. Do not mix kit components with different lot numbers within a test and do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. Avoid contact with Stop Solution containing 0.25 M 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.
16. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Rinse contaminated items before reuse.

17. For information about hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheet (SDS). The Safety Data Sheet for this product is available upon request.
18. Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed of according to national regulations.
19. The expected reference values reported in this test instruction are only indicative. It is recommended that each laboratory establishes its own reference intervals.
20. In case of any severe damage to the test kit or components, the manufacturer has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components must not be used for a test run. They must be stored properly until the manufacturer decides what to do with them. If it is decided that they are no longer suitable for measurements, they must be disposed of in accordance with national regulations.
21. The results obtained with this test kit should not be taken as the sole reason for any therapeutic consequence but must be correlated to other diagnostic tests and clinical observations.

## 2.2 Limitations

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

### 2.2.1 Interfering substances and proper handling of specimens

#### 24-hour urine

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

#### 2.2.2 Drug and food interferences

There are no known substances (drugs) which ingestion interferes with the measurement of 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 kit and reagents at 2 °C - 8 °C until expiration date.

Do not use kit and components beyond the expiry date indicated on the kit labels.

Once opened the reagents are stable for 2 months when stored at 2 °C - 8 °C.

Once the resealable pouch of the ELISA plate has been opened, care should be taken to close it tightly including the desiccant.

## 4 MATERIALS

### 4.1 Contents of the kit

	<b>WASH-CONC</b>	<b>50x Wash Buffer Concentrate</b> – concentrated 50x
Content:	Buffer with a non-ionic detergent and physiological pH	
Volume:	1 x 20 mL/vial, purple cap	
	<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	
Description:	Species is goat	
	<b>SUBSTRATE</b>	<b>Substrate</b> – ready to use
Content:	Chromogenic substrate containing 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, substrate buffer and hydrogen peroxide	
Volume:	1 x 12 mL/vial, black cap	
	<b>STOP-SOLN</b>	<b>Stop Solution</b> – ready to use
Content:	0.25 M sulfuric acid	
Volume:	1 x 12 mL/vial, grey cap	
	<b>U NAD NMN</b>	<b>Normetanephrine Microtiter Strips</b> – ready to use
Content:	1 x 96 wells (12x8) antigen precoated microwell plate in a resealable yellow pouch with desiccant	
	<b>NMN-AS</b>	<b>Normetanephrine Antiserum</b> – ready to use

Content:	Rabbit anti-normetanephrine antibody in buffer with proteins and non-mercury preservative, yellow coloured		
Volume:	1 x 12 mL/vial, yellow cap		
Description:	Species of antibody is rabbit, species of protein in buffer is bovine		
	<b>ACYL-CONC</b>	<b>Acylation Concentrate</b> – concentrated	
Content:	Concentrated acylation reagent		
Volume:	1 x 0.5 mL/vial, white cap		
Hazard pictograms:			
	GHS07		
Signal word:	Warning		
Hazard statements:	H317 May cause an allergic skin reaction.		
Precautionary statements:	P261 Avoid breathing mist/vapours/spray. P280 Wear protective gloves. P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water. P333+P313 If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. P362+P364 Take off contaminated clothing and wash it before reuse. P501 Dispose of contents/container to an authorised waste collection point.		
	<b>ACYL-DILUENT</b>	<b>Acylation Diluent</b> – ready to use	
Content:	Dimethylsulfoxide		
Volume:	1 x 3.5 mL/vial, white cap		
	<b>ACYL-BUFF</b>	<b>Acylation Buffer</b> – ready to use	
Content:	TRIS buffer		
Volume:	1 x 30 mL/vial, white cap		
	<b>HCL</b>	<b>Hydrochloric Acid</b> – ready to use	
Content:	0.25 M hydrochloric acid, yellow coloured		
Volume:	1 x 30 mL/vial, green cap		

#### 4.2 Calibration and Controls

##### Standards and Controls – ready to use

Component	Colour/Cap	Concentration	Concentration	Volume/ Vial
		[ng/ml] (= µg/L)	[nmol/L]	
<b>STANDARD A</b>	white	0	0	4 mL
<b>STANDARD B</b>	yellow	30	164	4 mL
<b>STANDARD C</b>	orange	90	491	4 mL
<b>STANDARD D</b>	blue	300	1,638	4 mL
<b>STANDARD E</b>	grey	900	4,914	4 mL
<b>STANDARD F</b>	black	3,000	16,380	4 mL
<b>CONTROL 1</b>	green	Refer to QC-Report for expected value and acceptable range.		4 mL
<b>CONTROL 2</b>	red			4 mL

Conversion: normetanephrine [ng/mL] x 5.46 = normetanephrine [nmol/L]

Content: Acidic buffer with non-mercury preservatives, spiked with defined quantity of normetanephrine.

#### 4.3 Additional materials required but not provided in the kit

- Water (deionized, distilled, or ultra-pure)
- Absorbent material (paper towel)
- Reaction tubes, at least 3 ml, Polypropylene/Polystyrol

#### 4.4 Additional 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
- 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, HANDLING AND STORAGE

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: up to 5 days at 2 °C - 8 °C, for longer periods (up to 6 months) at -20 °C.

Repeated freezing and thawing should be avoided. Avoid exposure to direct sunlight.

### 6 TEST PROCEDURE

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

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

#### 6.1 Preparation of reagents and further notes

##### Wash Buffer

Dilute the 20 mL Wash Buffer Concentrate **WASH-CONC 50X** with water to a final volume of 1000 mL.

Storage: 2 months at 2 °C - 8 °C

##### Acylation Solution

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

Dilute the **ACYL-CONC** 1 + 60 with **ACYL-DILUENT** in a glass or polypropylene-vial.

<b>ACYL-CONC</b>	10 µL	15 µL	25 µL	50 µL
<b>ACYL-DILUENT</b>	600 µL	900 µL	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!

##### Normetanephrine Microtiter Strips

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

#### 6.2 Preparation of samples

##### Hydrolysis

1. Pipette 25 µL of **standards, controls, and urine samples** into the respective reaction tubes.
2. Add 250 µL **HCl** to all tubes.
3. Mix thoroughly (vortex) and hydrolyze for **30 min at 90 °C**.
4. Cool down the tubes to room temperature.

## Acylation

1. Pipette **250 µL** of **ACYL-BUFF** into all tubes.
  2. Add **25 µL** of **Acylation Solution** (refer to 6.1) to all tubes.
  3. Mix thoroughly (vortex) and acylate for **15 min at RT** (20 °C - 25 °C).
  4. Add **2.5 mL water** (deionized, distilled, or ultra-pure) to all tubes.
- ⚠ Take 25 µL of the acylated standards, controls and urine samples for the Normetanephrine ELISA.**

## 6.3 Normetanephrine ELISA

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

1. Pipette **25 µL** of the **acylated standards, controls and samples** into the appropriate wells of the **Normetanephrine Microtiter Strips** **U NAD NMN**.
  2. Pipette **100 µL** of the **NMN-AS** into all wells.
  3. Incubate **30 min at RT** (20 °C - 25 °C) on a **shaker** (approx. 600 rpm).
- Without usage of a shaker:** shake the **Normetanephrine Microtiter Strips** **U NAD NMN** shortly by hand and incubate for **1 h at RT** (20 °C - 25 °C).
4. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate **3 x** by adding **300 µL** of **Wash Buffer**, discarding the content and **blotting dry each time** by tapping the inverted plate on absorbent material.
  5. Pipette **100 µL** of the **CONJUGATE** into all wells.
  6. Incubate for **15 min at RT** (20 °C - 25 °C) on a **shaker** (approx. 600 rpm).

**Without usage of a shaker:** incubate for **15 min at RT** (20 °C - 25 °C).

7. Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate **3 x** by adding **300 µL** of **Wash Buffer**, discarding the content and **blotting dry each time** by tapping the inverted plate on absorbent material.

8. Pipette **100 µL** of the **SUBSTRATE** into all wells.

9. Incubate for **15 ± 2 min at RT** (20 °C - 25 °C) on a **shaker** (approx. 600 rpm).

**Without usage of a shaker:** incubate for **15 min ± 2 at RT** (20 °C - 25 °C).

**Avoid exposure to direct sunlight!**

10. Add **100 µL** of the **STOP-SOLN** to all wells and shake the microtiter plate shortly.

11. **Read** the absorbance of the solution in the wells within 10 minutes, using a microplate reader set to **450 nm** (if available a reference wavelength between 620 nm and 650 nm is recommended).

## 7 CALCULATION OF RESULTS

Measuring range	Normetanephrine
	16.2 – 3,000 ng/mL

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

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

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:

concentration of the sample [in µg/L] × 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:

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

Samples found with concentrations higher than the highest standard (Standard F) should be diluted accordingly with Standard A and must be re-assayed.

**Conversion:** Normetanephrine [ng/mL] × 5.46 = Normetanephrine [nmol/L]

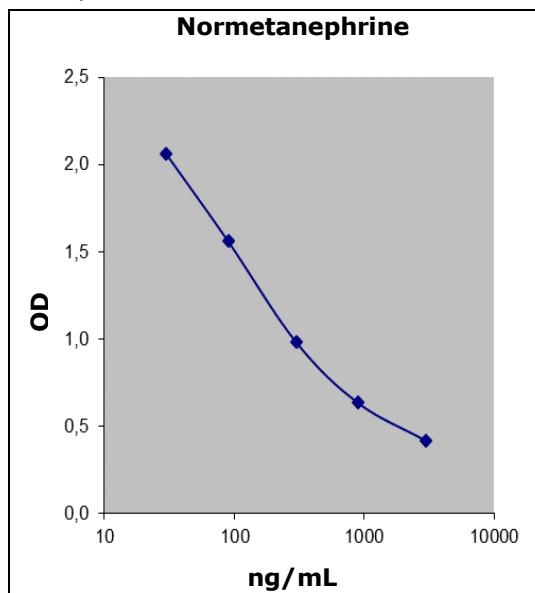
**7.1 Expected reference value**

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

	Normetanephrine
24-hour urine	< 600 µg/day

**7.2 Typical standard curve**

*Example, do not use for calculation!*

**8 CONTROL SAMPLES**

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

**9 ASSAY CHARACTERISTICS**

Analytical Sensitivity	
	Normetanephrine
Limit of Blank (LOB)	10.4 ng/mL
Limit of Detection (LOD)	14.7 ng/mL
Limit of Quantification (LOQ)	16.2 ng/mL

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

<b>Precision</b>							
<b>Intra-Assay</b>				<b>Inter-Assay</b>			
	Sample	Range [ng/mL]	CV [%]		Sampl	Range [ng/mL]	CV [%]
Normetanephrine	1	53.9 ± 7.1	13	Normetanephrine	1	52.5 ± 10.7	20
	2	116 ± 12.3	11		2	103 ± 15.2	15
	3	322 ± 28.1	9		3	276 ± 38.7	14
	4	1,121 ± 128	11		4	738 ± 83.0	11

<b>Linearity</b>		Serial dilution up to	Mean [%]	Range [%]
		Normetanephrine	101	1:64
			1:64	90 – 113

<b>Recovery</b>		Mean [%]	Range [%]	Range [ng/mL]
		Normetanephrine	100	93 – 111
			93 – 111	26.5 – 3,124

<b>Method Comparison versus HPLC*</b>	Normetanephrine	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.

## 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 die feste Phase der Mikrotiterplatte gebunden. Die acylierten Standards, Kontrollen und Proben und die an die Festphase gebundenen Analyten konkurrieren um die vorhandenen Bindungsstellen der Antikörper. Nachdem das System im Gleichgewicht ist, werden die freien Antigene und die freien Antigen-Antikörperkomplexe durch Waschen entfernt. Der an die feste Phase gebundene Antikörper wird mit einem Peroxidase-markierten anti-Kaninchchen Antikörper gebunden und mit TMB als Substrat durch eine Farbreaktion nachgewiesen. Die Reaktion wird bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen.

Die Konzentrationen der unbekannten Proben werden mit Hilfe einer Standardkurve mit bekannten Konzentrationen und Abgleich der gemessenen Absorptionswerte ermittelt. Die manuelle Abarbeitung des ELISAs wird empfohlen. Die Verwendung von automatischen Laborgeräten liegt in der Verantwortung des Anwenders. Dieses In-Vitro-Diagnostikum ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt.

### 1.2 Klinische Anwendung

Metanephrin und Normetanephrin 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.

## 2 VERFAHRENSHINWEISE, RICHTLINIEN, WARNUNGEN UND ANWENDUNGSGRENZEN

### 2.1 Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen

1. Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt. Für eine erfolgreiche Anwendung dieses Kits benötigen die Anwender ein umfassendes Verständnis dieses Protokolls. Einzig die im Kit enthaltene Gebrauchsanweisung ist gültig und bei der Durchführung des Assays zu verwenden. Für eine zuverlässige Leistung müssen die mitgelieferten Anweisungen genau und sorgfältig befolgt werden.
2. Dieser Assay wurde für die unter *Verwendungszweck* (siehe Kapitel 1) angegebene Probenart validiert. Jede nicht zugelassene Anwendung dieses Kits obliegt der Verantwortung des Anwenders und entbindet den Hersteller von jeglicher Haftung.
3. Die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) sind zu befolgen.
4. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (Kittel, Einweghandschuhe und Schutzbrille) ist zu tragen, um die Exposition gegenüber potenziell gesundheitsgefährdenden Stoffen zu reduzieren.
5. Falls in Zusammenhang mit diesem Produkt schwerwiegende Vorfälle auftreten sollten, sollen diese dem Hersteller und den zuständigen nationalen Behörden gemeldet werden.
6. Alle Reagenzien des Kits sowie die Proben sollten vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig, aber gründlich gemischt werden. Verwenden Sie für Verdünnungs- oder Rekonstitutionszwecke deionisiertes, destilliertes oder ultrareines Wasser. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Reagenzien und Proben vermeiden.
7. Die Mikrotiterplatte verfügt über einzeln herausnehmbare und abbrechbare Streifen. Ungenutzte Wells müssen bei 2 °C bis 8 °C mit Trockenmittelbeutel im verschlossenen Folienbeutel gelagert und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden. Die aus dem Rahmen entnommenen Mikrotiterstreifen müssen entsprechend gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden.
8. Proben sollten in Doppelbestimmung gemessen werden.
9. Sobald der Test begonnen wurde, sollten alle Schritte ohne Unterbrechung ausgeführt werden. Es muss dafür gesorgt werden, dass die erforderlichen Reagenzien, Materialien und Geräte zur vorgesehenen Zeit einsatzbereit sind.
10. Die Inkubationszeiten haben Einfluss auf die Ergebnisse. Alle Wells sollten in der gleichen Reihenfolge und zeitlichen Abfolge behandelt werden.
11. Zur Vermeidung einer Kontamination der Reagenzien ist bei jeder Abgabe eines Reagenzes, einer Probe, eines Standards und einer Kontrolle eine neue Einwegpipettenspitze zu verwenden.
12. Bei jeder Testanwendung muss eine Standardkurve erstellt werden.
13. Bei jeder Testanwendung sollten Kontrollen mitgetestet werden, deren Werte innerhalb der bekannten Vertrauengrenzen liegen müssen. Die gültigen Vertrauengrenzen der Kitkontrollen können dem QC-Report entnommen werden, der dem Kit beiliegt.

14. Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Chargenbezeichnungen nicht im selben Test verwenden. Reagenzien nach dem auf dem Kitetikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr benutzen.
15. Kontakt mit der Stopplösung vermeiden, da sie 0,25 M 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.
16. Das TMB-Substrat reizt die Haut und Schleimhäute. Bei möglichem Kontakt Augen mit reichlich Wasser und Haut mit Seife und reichlich Wasser aus- bzw. abspülen. Kontaminierte Gegenstände vor der erneuten Verwendung abspülen.
17. Für Informationen zu den im Kit enthaltenen gesundheitsgefährdenden Stoffen siehe das Sicherheitsdatenblatt (SDS). Das Sicherheitsdatenblatt dieses Produkts ist auf Anfrage erhältlich.
18. Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende, potentiell infektiöse Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.
19. Die in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen erwarteten Referenzwerte dienen nur als Hinweis. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwertintervalle erstellt.
20. Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss der Hersteller in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen sachgerecht gelagert werden, bis der Hersteller entscheidet, wie mit ihnen zu verfahren ist. Sollte entschieden werden, dass sie für Messungen nicht mehr geeignet sind, müssen sie entsprechend den nationalen Richtlinien entsorgt werden.
21. Therapeutische Maßnahmen dürfen sich nicht allein auf die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse stützen, sondern müssen mit anderen diagnostischen Tests und klinischen Beobachtungen abgewogen werden.

## 2.2 Grenzen des Tests

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

### 2.2.1 Interferenzen und sachgemäßer Umgang mit Proben

#### 24-Stunden Sammelurin

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

### 2.2.2 Beeinflussung durch Medikamente und Nahrungsmittel

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

Das Kit muss bei 2 °C - 8 °C bis zum Verfallsdatum gelagert werden.

Das Kit und die Reagenzien dürfen nach Überschreiten des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

Einmal geöffnet sind die Reagenzien 2 Monate stabil, wenn sie bei 2 °C - 8 °C gelagert werden.

Der einmal geöffnete Folienbeutel der ELISA-Platte sollte stets mit Trockenmittelbeutel sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

## 4 MATERIALIEN

### 4.1 Reagenzien im Kit

	<b>WASH-CONC 50x</b>	<b>Waschpufferkonzentrat – 50x konzentriert</b>
Inhalt:	Puffer mit einem nicht-ionischen Detergent und physiologischem pH	
Volumen:	1 x 20 mL/Fläschchen, Deckel lila	
	<b>CONJUGATE</b>	<b>Enzymkonjugat – gebrauchsfertig</b>
Inhalt:	Ziege anti-Kaninchen Immunoglobuline, konjugiert mit Peroxidase	
Volumen:	1 x 12 mL/Fläschchen, Deckel rot	
Beschreibung:	Spezies ist Ziege	
	<b>SUBSTRATE</b>	<b>Substrat – gebrauchsfertig</b>
Inhalt:	Chromogenes Substrat mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin, Substratpuffer und Wasserstoffperoxid	
Volumen:	1 x 12 mL/Fläschchen, Deckel schwarz	

**STOP-SOLN****Stoplösung** – gebrauchsfertig

Inhalt: 0,25 M Schwefelsäure

Volumen: 1 x 12 mL/Fläschchen, Deckel grau

**W NAD NMN****Normetanephrin Mikrotiterstreifen** – gebrauchsfertig

Inhalt: 1 x 96 Wells (12x8) Antigen vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem gelben wiederverschließbaren Beutel

**NMN-AS****Normetanephrin Antiserum** – gebrauchsfertig

Inhalt: Kaninchen anti-Normetanephrin Antikörper im Proteinpuffer mit quecksilberfreiem Konservierungsmittel, gelb gefärbt

Volumen: 1 x 12 mL/Fläschchen, Deckel gelb

Beschreibung: Spezies vom Antikörper ist Kaninchen, Spezies vom Protein im Puffer ist Rind

**ACYL-CONC****Acylatierungskonzentrat** – konzentriert

Inhalt: Konzentriertes Azylierungsreagenz

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



GHS07

Signalwort: Achtung

Gefahren-  
hinweise: H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen.Sicherheits-  
hinweise: P261 Einatmen von Nebel, Aerosol, Dampf vermeiden.

P280 Schutzhandschuhe tragen.

P302+P352 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen.

P333+P313 Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P362+P364 Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

P501 Inhalt/Behälter autorisierter Abfallsammelstelle zuführen.

**ACYL-DILUENT****Acylatierungsverdünner** – gebrauchsfertig

Inhalt: Dimethylsulfoxid

Volumen: 1 x 3,5 mL/Fläschchen, Deckel weiß

**ACYL-BUFF****Acylatierungspuffer** – gebrauchsfertig

Inhalt: TRIS-Puffer

Volumen: 1 x 30 mL/Fläschchen, Deckel weiß

**HCL****Salzsäure** – gebrauchsfertig

Inhalt: 0,25 M Salzsäure, gelb gefärbt

Volumen: 1 x 30 mL/Fläschchen, Deckel grün

## 4.2 Kalibratoren und Kontrollen

### Standards und Kontrollen – gebrauchsfertig

Komponente	Deckelfarbe	Konzentration [ng/ml] (= µg/l)	Konzentration [nmol/l]	Volumen/ Fläschchen
		NMN	NMN	
<b>STANDARD A</b>	weiß	0	0	4 mL
<b>STANDARD B</b>	gelb	30	164	4 mL
<b>STANDARD C</b>	orange	90	491	4 mL
<b>STANDARD D</b>	blau	300	1.638	4 mL
<b>STANDARD E</b>	grau	900	4.914	4 mL
<b>STANDARD F</b>	schwarz	3.000	16.380	4 mL
<b>CONTROL 1</b>	grün	Die zu erwartenden Konzentrationen und Vertrauensbereiche sind auf dem QC-Repor angegeben.		4 mL
<b>CONTROL 2</b>	rot			4 mL

Umrechnung: Normetanephrin [ng/mL] x 5,46 = Normetanephrin [nmol/L]

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

## 4.3 Nicht im Kit enthaltene, aber für die Durchführung erforderliche Materialien

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

## 4.4 Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Geräte

- 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
- Vortex-Mischer
- Temperaturkontrolliertes 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 PROBENSAMMLUNG, -BEHANDLUNG UND -LAGERUNG

Es sollte 24-Stunden Urin, der in einem Gefäß mit 10 - 15 mL 6 M HCl gesammelt wurde, verwendet werden..

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: bis zu 5 Tage bei 2 °C - 8 °C, 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. Reaktionsröhren und Mikrotiterplatten müssen beschriftet werden (die aus dem Rahmen entnommenen Mikrotiterstreifen müssen entsprechend gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden). Die Durchführung von Doppelbestimmungen wird empfohlen.

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

## 6.1 Vorbereitung der Reagenzien und weitere Hinweise

### Waschpuffer

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

Lagerung: 2 Monate bei 2 °C - 8 °C

### Azylierungslösung

**⚠ Das **ACYL-DILUENT** muss vor Verwendung auf Raumtemperatur ( $\geq 20$  °C) gebracht werden und eine homogene, kristallfreie Lösung bilden.**

Das **ACYL-CONC** wird mit dem **ACYL-DILUENT 1 + 60** in einem **Glas- oder Polypropylenröhrcchen** verdünnt.

<b>ACYL-CONC</b>	10 µL	15 µL	25 µL	50 µL
<b>ACYL-DILUENT</b>	600 µL	900 µL	1,5 mL	3 mL

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

### Normetanephrine Mikrotiterstreifen

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

## 6.2 Probenvorbereitung

### Hydrolyse

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

### Azylierung

1. Jeweils **250 µL ACYL-BUFF** in alle Reaktionsröhrcchen pipettieren.
  2. **25 µL Azylierungslösung** (siehe 6.1) in alle Reaktionsröhrcchen pipettieren.
  3. Sorgfältig mischen (Vortex) und für **15 min** bei **RT** (20 °C - 25 °C) inkubieren.
  4. **2,5 mL Wasser** (deionisiert, destilliert oder ultra-pur) in alle Reaktionsröhrcchen hinzufügen.
- ⚠** Jeweils **25 µL** der **azylierten Standards, Kontrollen und Urinproben** werden für den nachfolgenden **Normetanephrine ELISA** 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 **25 µL** der **azylierten Standards, Kontrollen** und **Proben** in die entsprechenden Wells der **W NAD NMN** pipettieren.
2. Jeweils **100 µL NMN-AS** in alle Kavitäten pipettieren.
3. Platte **30 min** bei **RT** (20 °C - 25 °C) auf einem **Schüttler** (ca. 600 rpm) inkubieren.  
*(oder kurz per Hand schütteln und 1 Stunde bei RT (20 °C - 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).*
4. Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells **3-mal** gründlich mit **300 µL Waschpuffer** waschen, **ausleeren** und die Restflüssigkeit **jedes Mal** durch **Ausklopfen** auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
5. Jeweils **100 µL CONJUGATE** in alle Wells pipettieren.
6. Für **15 min** bei **RT** (20 °C - 25 °C) auf einem **Schüttler** (ca. 600 rpm) inkubieren.  
*(oder 15 Minuten bei RT (20 °C - 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).*
7. Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells **3-mal** gründlich mit **300 µL Waschpuffer** waschen, **ausleeren** und die Restflüssigkeit **jedes Mal** durch **Ausklopfen** auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.

8. Jeweils **100 µL SUBSTRATE** in alle Wells pipettieren
9. Für  **$15 \pm 2$  min bei RT (20 °C - 25 °C)** auf einem **Schüttler** (ca. 600 rpm) inkubieren.  
*(oder 15 ± 2 Minuten bei RT (20 °C - 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).*  
⚠️ **Direktes Sonnenlicht vermeiden!**
10. **100 µL STOP-SOLN** in alle Wells pipettieren und die Mikrotiterplatte kurz schütteln.
11. **Absorption** mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei **450 nm** (falls vorhanden, gegen eine Referenzwellenlänge von 620-650 nm) innerhalb von 10 Minuten **messen**.

## 7 BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Messbereich	Normetanephrin
	16,2 – 3.000 ng/mL

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

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

Die Konzentrationen der Proben und Kontrollen 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] × 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:

$$125 \text{ µg/L} \times 1,3 \text{ L/Tag} = 162,5 \text{ µg/Tag.}$$

Proben, deren Konzentrationen oberhalb des höchsten Standards (Standard F) gefunden werden, müssen entsprechend mit Standard A verdünnt und nochmals bestimmt werden.

**Umrechnung:** Normetanephrin [ng/mL] × 5,46 = Normetanephrin [nmol/L]

### 7.1 Erwarteter Referenzwert

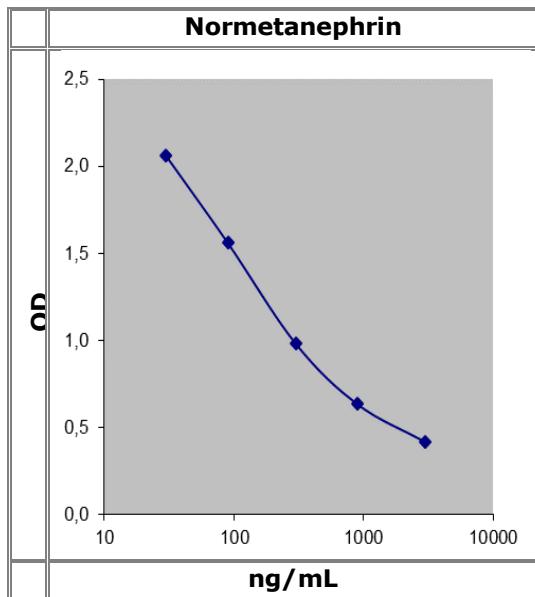
Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte ermittelt.

	Normetanephrin
Sammelurin	< 600 µg/Tag

## 7.2 Typische Standardkurve



*Beispiel: Bitte nicht für die Auswertung verwenden!*



## 8 KONTROLLPROBEN

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 unbekannten Proben behandelt werden. Die Kontrollproben müssen innerhalb der Vertrauensbereiche liegen. Die Vertrauensbereiche der Kitkontrollen sind im QC-Report aufgeführt.

## 9 TESTCHARAKTERISTIKA

Analytische Sensitivität	
	<b>Normetanephrin</b>
Limit of Blank (LOB)	10,4 ng/mL
Limit of Detection (LOD)	14,7 ng/mL
Limit of Quantification (LOQ)	16,2 ng/mL

Analytische Spezifität (Kreuzreaktionen)	
Substanz	Kreuzreaktion [%]
	Normetanephrin
Derivatisiertes Metanephrin	0,11
Derivatisiertes Normetanephrin	100
Derivatisiertes 3-Methoxytyramin	0,19
Adrenalin	< 0,01
Noradrenalin	0,64
Dopamin	< 0,01
Vanillinmandelsäure, Homovanillinsäure, L-Dopa, L-Tyrosin, Tyramin	< 0,01

Präzision							
Intra-Assay				Inter-Assay			
	Probe	Bereich [ng/ml]	CV [%]		Probe	Bereich [ng/ml]	CV [%]
Normetanephrin	1	53,9 ± 7,1	13	Normetanephrin	1	52,5 ± 10,7	20
	2	116 ± 12,3	11		2	103 ± 15,2	15
	3	322 ± 28,1	9		3	276 ± 38,7	14
	4	1.121 ± 128	11		4	738 ± 83,0	11

Linearität		Serielle Verdünnung bis	Mittelwert [%]	Bereich [%]
		Normetanephrin	101	1:64

Wiederfindung		Mittelwert [%]	Bereich [%]	Bereich [ng/mL]
		Normetanephrin	100	93 – 111

Methodenvergleich mit HPLC*	Normetanephrin	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.

## 10 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)

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

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

## SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use	Gebrauchsweisung beachten	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	In vitro diagnostic medical device	In-vitro-Diagnostikum	Dispositivo medico-diagnóstico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number	Artikelnummer	Numero di Catalogo	Número de catálogo	Référence de catalogue
	Batch code	Chargencode	Codice del lotto	Código de lote	Numéro de lot
	Contains sufficient for <n> tests	Ausreichend für <n> Prüfungen	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit	Temperaturbegrenzung	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date	Verwendbar bis	Utilizzare prima del	Estable hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Caution	Achtung			
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<b>Content</b>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
<b>Volume/No.</b>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité
<b>WASH-CONC 50x</b>	Wash Buffer Concentrate	Waschpufferkonzentrat			
<b>CONJUGATE</b>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat			
<b>SUBSTRATE</b>	Substrate	Substrat			
<b>STOP-SOLN</b>	Stop Solution	Stoplösung			
<b>W NAD NMN</b>	Normetanephrine Microtiter Strips	Normetanephrin Mikrotiterstreifen			
<b>NMN-AS</b>	Normetanephrine Antiserum	Normetanephrin Antiserum			
<b>ACYL-CONC</b>	Acylation Concentrate	Acylierungskonzentrat			
<b>ACYL-DILUENT</b>	Acylation Diluent	Acylierungsverdünner			
<b>ACYL-BUFF</b>	Acylation Buffer	Acylierungspuffer			
<b>HCL</b>	Hydrochloric Acid	Salzsäure			
<b>STANDARD A - F</b>	Standard A - F	Standard A – F			
<b>CONTROL 1</b>	Control 1	Kontrolle 1			
<b>CONTROL 2</b>	Control 2	Kontrolle 2			