Instructions for Use

Aldosterone ELISA

IVD

CE

REF **EIA-5298**

Σ **96**

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
E-mail: drg@drg-diagnostics.de

DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: 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, use sólo la versión válida de las instrucciones de uso que se suministran con el kit.
Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.

Introduced modifications / Durchgeführte Änderungen / Modifiche introdotte / Modificaciones introducidas / Modifications apportées / Modificações introduzidas

The following changes have been made in comparison to the previous version:
Im Vergleich zur Vorgängerversion wurden folgende Änderungen vorgenommen:
Rispetto alla versione precedente, sono state apportate le seguenti modifiche:
Se han introducido los siguientes cambios en comparación con la versión anterior:
Les modifications suivantes ont été apportées par rapport à la version précédente :

Detailed editorial revision. Changed wording in several chapters.
Ausführliche redaktionelle Überarbeitung. Geänderter Wortlaut in mehreren Kapiteln.
Revisione editoriale dettagliata. Modificato il testo in diversi capitoli.
Revisión editorial detallada. Se ha cambiado la redacción de algunos capítulos.
Révision éditoriale détaillée. Modification de la formulation dans plusieurs chapitres.

10.2 Detection Capability	Addition of LLLI
10.4 Recovery; 10.5 Linearity	Addition of latest data; inclusion of sample type
11.1. Interfering Substances	Addition of further matrix interference data, heterophilic antibodies, autoantibodies and listing of drugs. Addition of Trueness (Bias) data
13 Literature	Addition of references 17-19

ENGLISH 2
DEUTSCH 13
ITALIANO 21
ESPAÑOL 29
FRANÇAIS 36

LITERATURE 43
SYMBOLS USED 44

1 INTENDED USE

The **DRG Aldosterone ELISA** is a manual enzyme immunoassay for the quantitative measurement of Aldosterone in human serum or plasma (K_2 EDTA, K_3 EDTA, Li-heparin or citrate plasma 3.2 %) and urine.

For *in vitro* diagnostic use only. For laboratory professional use.

The device is **intended to be used** as an aid to diagnosis of primary and secondary aldosteronism.

The device is **not intended** for the diagnosis of adenomas.

2 SCIENTIFIC VALIDITY REPORT

The steroid hormone aldosterone is a potent mineral corticoid that is produced by the zona glomerulosa of the adrenal cortex in the adrenal gland. The synthesis and release are controlled by the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS)[1], as well as by plasma potassium concentration [2,12], the pituitary peptide ACTH, and by the blood pressure via pressure sensitive baroreceptors in the vessel walls of nearly all large arteries of the body [3,12]. Aldosterone binds to mineralocorticoid receptors (MR) and triggers the transcription of hormone-responsive genes. In consequence, aldosterone increases the blood pressure by reabsorption of sodium and water from the distal tubules of the kidney into the blood, secretion of potassium into the urine, and elevation of circulating blood volume. Chronic overproduction and secretion of aldosterone leads to hypertension. Aldosterone activity is reduced in Addison's disease and increased in Conn's syndrome.

Primary hyperaldosteronism, which may be caused by aldosterone-secreting adrenal adenoma/carcinomas or adrenal cortex hyperplasia, is characterized by hypertension accompanied by increased aldosterone levels, hypernatremia, and hypokalemia. Secondary hyperaldosteronism (e.g. in response to renovascular disease, salt depletion, potassium loading, cardiac failure with ascites, pregnancy, Bartter's syndrome) is characterized by increased aldosterone levels and increased plasma renin activity. [4,5,8,9,10,11,13].

Condition	Serum Aldosterone	Plasma Renin
Primary Aldosteronism	High	Low
Secondary Aldosteronism	High	High

This differentiation is vital in the treatment and management of the disease. The adrenal adenomas respond well to surgery whereas hyperplastic disease of the adrenals is generally better managed medically [6].

In addition, pharmacological modulation of nuclear hormone receptors is a common strategy for the treatment of cardiovascular disease [7]. Therefore, determining the effects of such treatments on the RAAS is of increasing value in evaluating the safety and efficacy of new therapeutics.

In addition, obese subjects often exhibit hyperaldosteronism, with increased salt sensitivity of blood pressure (BP). Systemic RAS, and aldosterone/MR activation plays a key role in the development of hypertension and organ damage in obesity[14].
In summary, the precise and accurate measurement of serum aldosterone by enzyme immunoassay can be an important adjunct to a diagnostic laboratory battery for the differential diagnosis of hypertensive disease.

3 PRINCIPLE OF THE TEST

The DRG Aldosterone ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the principle of competitive binding.

The microtiter wells are coated with a monoclonal antibody (mouse) directed towards a unique antigenic site of the Aldosterone molecule.

During the first incubation, the Aldosterone in the added sample competes with the added enzyme conjugate, which is Aldosterone conjugated to horseradish peroxidase, for binding to the coated antibody.

After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of color is inversely proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

4 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This kit is for *in vitro* diagnostic use only. For laboratory professional use only.
- Before starting the assay, read the instructions for use completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to interchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- Do not reuse microtiter wells.
- Reagents of other manufacturers must not be used together with the reagents of this test kit.
- All reagents in this kit are clear liquids, substrate solution is clear and colorless. Changes in its appearance may affect the performance of the test. In that case, contact DRG.
- Microbial contamination of reagents or samples may give false results.
- Allow the reagents to reach room temperature (20 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay.
- Wash Buffer may appear slightly yellow in color, however, this does not affect the performance of the assay.

- All indicated volumes must be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
- Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution coloured. Do not pour reagents back into original vials as reagent contamination may occur.

General Precautions

- Follow laboratory quality assurance and laboratory safety guidelines.
- Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and samples with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink, or apply cosmetics in areas where samples or kit reagents are handled.
- Wear lab coats and disposable latex gloves when handling samples and reagents and where necessary safety glasses.

Biohazard Information

- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. However, no known test method can offer total assurance that no infectious agent is present.
- The device contains material of animal origin, which is certified apparently free of infectious or contagious diseases and injurious parasites.
- Bovine components originate from countries where BSE (Bovine spongiform encephalopathy) has not been reported.
- All materials and samples of human or animal origin must be handled as if capable of transmitting infectious diseases.
- Handling must be done in accordance with the procedures defined by appropriate national biohazard and safety guideline or regulation. Waste must be discarded according to local rules and regulations.

Information to Chemical Hazards and Hazard Classification

- Some reagents contain preservatives in non-declarable concentrations. Nevertheless, in case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
- Substrate Solution contains an ingredient in non-declarable concentrations which causes serious eye irritation. In case of possible contact with eyes, rinse immediately carefully and thoroughly with eye wash or water. After contact with skin, wash with plenty of water. Take-off contaminated clothing and wash it before reuse.
- Avoid contact with Stop Solution containing < 5 % H_2SO_4. It may cause skin irritation and burns.
- Chemicals and prepared or used reagents must be treated as hazardous waste according to the national safety guideline or regulation.
- This product does not contain substances which have carcinogenic, mutagenic or toxic for reproduction (CMR) properties.

The following kit components are classified as hazardous: Enzyme Conjugate, Standard 0 – 5, Control low & Control high, Wash Solution.

Warning	**Hazard statement(s):** H317 - May cause an allergic skin reaction. EUH071 - Corrosive to the respiratory tract
	Precautionary statement(s): P261 - Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/ spray. P280 - Wear protective gloves. 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 approved waste disposal plant

For detailed information, please refer to the Safety Data Sheet, which is available upon request directly from DRG.

5 MATERIALS

5.1 Materials Provided with the Kit

Symbol	Quantity	Description	Preparation
Microtiterwells	12 x 8 wells (break apart)	**Microtiter plate** Coated with anti-aldosterone antibody (monoclonal).	Ready to use
Standard (Standard 0 – 5)	6 x 1.0 mL	**Standards*** Concentrations: 0 – 20 – 80 – 200 – 500 – 1000 pg/mL Conversion: 1 pg/mL corresponds to 2.77 pmol/L The standards are calibrated against the following reference material: Certified reference material Cerilliant A-096	Lyophilized *See "Reagent Preparation".*
Control Low & Control High	2 x 1.0 mL	**Controls*** *For control values and ranges please refer to vial label or Certificate of Analysis.*	Lyophilized *See "Reagent Preparation".*
Enzyme Conjugate	1 x 14 mL	**Enzyme Conjugate*** aldosterone conjugated to horseradish	Ready to use

Symbol	Quantity	Description	Preparation
Substrate Solution	1 x 14 mL	**Substrate Solution** Contains 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). *Keep away from direct sun light.*	Ready to use
Stop Solution	1 x 14 mL	**Stop Solution** Contains < 5 % H_2SO_4. *Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.*	Ready to use
Wash Solution	1 x 30 mL	**Wash Solution, 40X concentrate***	*See "Reagent Preparation".*
	1 x	**Instructions for Use**	
	1 x	**Certificate of Analysis (CoA)**	

* Contain(s) 0.0108 % CMIT/ MIT (3:1).

Abbreviations:
CMIT: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one
MIT: 2-methylisothiazol-3(2H)-one

5.2 Materials Required But Not Provided

- A calibrated microtiter plate reader (450 nm, with reference wavelength at 620 nm to 630 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Manual or automatic equipment for rinsing microtiter plate wells
- Absorbent paper
- Distilled water
- Timer
- Graph paper or software for data reduction
- **Optional**: Reagents for determination of **Aldosterone in urine** (REF EIA-5298-URIN)
  Contents:
  1) ***Release Reagent***, 1 vial, 3 mL, ready to use. Containing 1 M HCl.
     Avoid contact with *Release Reagent*. It may cause skin irritation.
  2) ***Neutralization Buffer***, 1 vial, 3 mL, ready to use. Containing Tris buffer, pH 8.5.
  3) ***Dilution Buffer***, 2 vials, 25 mL each, ready to use. Containing PBS.
- Optional: Plastic tubes (e.g. 0.5 - 1.5 mL) for pre-treatment of urine samples

5.3 Storage and Stability of the Kit

Unopened kits and reagents as well as **opened reagents** must be stored at 2 °C to 8 °C.

The microplate must always be stored in the resealable aluminum pouch containing a desiccant. Do not open the pouch until it has reached room temperature. The microtiter plate consists of 12 individual strips. Each strip can be divided into 8 individual wells. Unused wells must be immediately returned to the aluminum pouch with the desiccant and stored again tightly resealed at 2 °C to 8 °C.

Once opened, reagent vials must be closed tightly again.

	Storage Temperature	Stability
Unopened kits and unopened reagents	2 °C to 8 °C	Until the expiration date printed on the label. Do not use reagents beyond this date!
Opened kit	2 °C to 8 °C	8 weeks (For reconstituted reagents refer to "4.4 Reagent Preparation".)

5.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature (20 °C to 26 °C) prior to use.

Standards

Reconstitute the lyophilized contents of each standard vial with 1.0 mL distilled water and let stand for at least 10 minutes at room temperature. Mix several times before use.

Stability after reconstitution:	at 2 °C to 8 °C	8 weeks
	at -20 °C (in aliquots)	12 months

Controls

Reconstitute the lyophilized content of each control vial with 1.0 mL distilled water and let stand for at least 10 minutes at room temperature. Mix several times before use.

Stability after reconstitution:	at 2 °C to 8 °C	8 weeks
	at -20 °C (in aliquots)	12 months

Wash Solution

Add distilled water to the 40X concentrated Wash Solution.
Dilute 30 mL of concentrated *Wash Solution* with 1170 mL distilled water to a final volume of 1200 mL.

Stability after dilution:	at 20 °C to 26 °C	1 week

5.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit and all used materials/reagents must be performed according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, section 13.

5.6 Damaged Test Kits

In case of any damage to the test kit or components, DRG must be informed in writing, at the latest one week after receiving the kit. Damaged single components must not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they must be disposed of according to the official regulations.

6 SAMPLE COLLTECTION, STORAGE AND PREPARATION

The following sample material can be used in this test:

Human serum or plasma (K_2 EDTA, K_3 EDTA, lithium heparin or citrate plasma 3.2 %) and **urine**.

Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

In general, it should be avoided to use hemolytic, icteric, or lipemic samples. For further information refer to chapter "*Interfering Substances*".

6.1 Human serum or plasma samples

6.1.1 Sample Collection

Serum: Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma: Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anticoagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

Whole blood should not be frozen before centrifugation.

Stability of whole blood [18]	at 20 °C to 26 °C	up to 4 days

6.1.2 Samples Storage

Samples must be stored tightly capped prior to performing the assay. If stored frozen, freeze only once. Thawed samples must be inverted several times prior to testing.

Stability	at 2 °C to 8 °C	5 days
	at -20 °C (in aliquots)	up to 12 months

6.1.3 Sample Preparation

Samples can be assayed without additional preparation.

6.2 Human urine samples

Aldosterone concentration can also be determined from urine samples. However, urine samples must be pre-treated before analysis. This will need additional reagents that are not included in this kit but can be ordered separately (REF EIA-5298-URIN).

6.2.1 Sample Collection and Storage

First clean genital area with mild disinfectant to prevent contamination. Then collect clean-catch midstream urine in an appropriate sterile container.

Since Aldosterone secretion follows a circadian rhythm, urine collection is recommended in a special cooled container over a full 24-hour period (24-hour urine).

Directly after collection, the urine should be centrifuged for 5 - 10 minutes (e.g. at 2,000 g) to remove cellular debris. Use supernatant for analyte quantification.

Urine supernatant held for a longer time (up to 7 days) should be stored at 2-8°C or frozen at -20 °C. Thawed supernatant should be inverted several times prior to testing.

6.2.2 Protocol for Urine Sample Pre-treatment

To pre-treat urine samples, it is recommended to use the DRG Aldosterone Reagent Set Urine (EIA-5298-URIN).

1. Secure the desired number of vials (e.g. 0.5 - 1.5 mL plastic tubes; not included in this kit).
2. Dispense **25 µL** of **urine** with new disposable tips into appropriate tubes.
3. Dispense **25 µL *Release Reagent*** into each tube.
   Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
4. Incubate overnight at 2 °C to 8 °C.
5. Add **25 µL *Neutralization Reagent*** to each tube and mix thoroughly.
6. Add **400 µL *Dilution Buffer*** to each tube and mix thoroughly
   (This pre-treatment leads to a 1:19 dilution. Therefore, the dilution factor 19 must be taken into account to calculate the final concentration of the urine sample.)
7. Transfer **100 µL of pre-treated and diluted urine samples** directly to the microtiter well and continue with step 3 of Test Procedure (Chapter 7.2).

6.2.3 Storage of pre-treated Urine Samples

Pre-treated and diluted urine samples should be capped and may be stored for up to 7 days at 2 °C to 8 °C or frozen at -20 °C prior to assaying. Samples should be frozen only once at -20 °C prior to assay.

Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

6.2.4 Urine Sample Dilution

If in an initial assay, a urine sample is found to contain more than the highest standard, the pre-treated and diluted urine sample can be further diluted with *Dilution Buffer* and re-assayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor must be taken into account, too.

Example:

dilution 1:10: 10 µL pre-treated and diluted urine sample + 90 µL *Dilution Buffer* (mix thoroughly)
(final dilution factor = 19 x 10 = 190)

7 ASSAY PROCEDURE

7.1 Procedural Notes

- All reagents and samples must be allowed to come to room temperature (20 °C to 26 °C) before use.
- All reagents must be mixed without foaming.
- Do not interchange caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control, or sample in order to avoid carry-over.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- Mix the contents of the microtiter plate wells thoroughly to ensure good test results.
- Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
- Once the test has been started, all steps must be completed without interruption and in the same sequence for each step.
- The enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Optical density is a function of the incubation time and temperature. Respect the incubations times and temperatures as given in chapter “Test Procedure”.
- Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- **Important note to wash procedure:**
  Washing is critical. Improperly washed wells will give erroneous results. The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
- **Test performance using fully automated analysis devices:**
  Automated test performance using fully automated, open-system analysis devices is possible. However, the combination must be validated by the user.

7.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

The controls serve as internal controls for the reliability of the test procedure. They must be assayed with each test run.

The given test procedure describes manual processing.

Important note: The accuracy of this assay is markedly influenced by the correct incubation temperature.

1. Secure the desired number of microtiter wells in the frame holder.
2. Pipette **100 µL** of each ***Standard, Control,*** and **sample** with new disposable tips into appropriate wells.
   For urine samples dispense **100 µL** of the pre-treated and diluted urine samples (see chapter 5.2.2 *Protocol for Urine Sample Pre-treatment*, step 7).
3. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
4. Add **100 µL *Enzyme Conjugate*** into each well.
   Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
5. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
6. Wash the wells as follows:
   If the wash step is performed manually:
   Briskly shake out the contents of the wells.
   Rinse the wells **3 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well.

   If an automated plate washer is used:
   Rinse the wells **3 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well.

   At the end of the washing step, always strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets!
7. Pipette **100 µL** of ***Substrate Solution*** to each well.
8. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
9. Stop the enzymatic reaction by adding **50 µL** of ***Stop Solution*** to each well.
10. Measure the optical density (OD) of the solution in each well at **450 nm (reading) and at 620 nm to 630 nm (background subtraction, recommended)** with a microtiter plate reader.
    It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

7.3 Calculation of Results

1. The concentration of the **serum / plasma samples** can be read **directly** from the standard curve.
   For **urine samples** the concentration read from the standard curve, has to be **multiplied** with the **dilution factor 19** (see chapter 6.2.4).
2. For duplicate determinations, the mean of the two optical density (OD) values for each standard, control, and patient sample must be taken. If the two values deviate substantially from one another, DRG recommends retesting the samples.
3. Samples with concentrations exceeding the highest standard can be further diluted and re-assayed as described in “Test Procedure”, or must be reported as > 1000 pg/mL. For the calculation of the concentrations, this dilution factor must be considered.
4. Automated method:
   The results in the instructions for use have been calculated automatically using a four-parameter logistic (4PL) curve fit. (4PL Rodbard or 4PL Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
5. Manual method:
   Using linear or semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the (mean) OD obtained from each standard against its concentration with OD value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
   Determine the corresponding sample concentration from the standard curve by using the (mean) OD value for each sample.

7.4 Final Calculation for Urine Samples

Calculate the 24 hours excretion for each urine sample: µg/24 h = **µg/L x L/24 h**

Example:

Concentration for urine sample read from the standard curve = 500 pg/mL

Result after correction with the dilution factor 19 = 9500 pg/mL

9500 pg/mL / 1000 = 9.5 µg/L

Total volume of 24 h-urine = 1.3 L (example)

9.5 µg/L × 1.3 L/24 h = **12.35 µg/24 h**

7.4.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard		Optical Density (450 nm)
Standard 0	(0 pg/mL)	2.040
Standard 1	(20 pg/mL)	1.634
Standard 2	(80 pg/mL)	0.966
Standard 3	(200 pg/mL)	0.516
Standard 4	(500 pg/mL)	0.223
Standard 5	(1000 pg/mL)	0.130

8 REFERENCE VALUES

The values are only for user's guidance.

It is strongly recommended for each laboratory to establish its own specific values that take into consideration a population indigenous to the area where the laboratory is located.

Values above or below the reference range should be considered as suspicious and require additional testing.

The results alone must not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated with other clinical observations and diagnostic tests.

8.1 Serum / Plasma Samples

In a study conducted with K_3-**EDTA plasma samples** of apparently normal healthy adults, using the DRG Aldosterone ELISA the following values are observed:

Healthy Adults	n	Mean (pg/mL)	Median (pg/mL)	2.5th - 97.5th Percentile (pg/mL)	Range (min. - max.) (pg/mL)
Supine position	60	56.14	39.71	14.21 - 156.47	8.58 - 272.30
Upright position	60	77.48	58.00	13.37 - 233.55	12.87 - 358.50

These values are also valid for serum, K_2-EDTA plasma, Li-Heparin plasma and citrate 3.2% plasma.

These results correspond well to published reference ranges[8, 15].

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using the DRG Aldosterone ELISA (EIA-5298) and the DRG Renin ELISA (EIA-5125) the following ***Aldosterone-Renin Ratios*** were determined in plasma:

Ratio Aldosterone-Renin

	n	Mean (pg/mL / pg/mL)	Median (pg/mL / pg/mL)	2.5th - 97.5th Percentile (pg/mL / pg/mL)
Healthy Adults (K_3 EDTA)	89	8.68	5.30	0.52 - 37.83

These values are also valid for serum, K_2-EDTA plasma, Li-Heparin plasma and citrate 3.2% plasma.

These results correspond well to published reference ranges[16].

8.2 Urine Samples

In a study conducted with **urine samples (24-hours urine)** of apparently normal healthy adults, using the DRG Aldosterone ELISA the following values are observed:

	n	Mean (µg/24 h)	Median (µg/24 h)	2.5th - 97.5th Percentile (µg/24 h)	Range (min. - max.) (µg/24 h)
Healthy Adults	8	11.34	9.40	3.31 - 25.09	3.06 - 27.17

These results correspond well to published reference ranges[8].

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results must be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

9 QUALITY CONTROL

Good quality assurance in the laboratory requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the Quality Control Laboratory are stated in the Certificate of Analyses (CoA) added to the kit. The values and ranges stated on the CoA always refer to the current kit lot and must be used for direct comparison of the results.

If available, it is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.
Apply appropriate statistical methods for analyzing control values and trends. If the results of the assay do not agree with the established acceptable ranges of control materials, patient results should be considered invalid.
In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.
After checking the above-mentioned items without finding any error contact your distributor or DRG directly.

10 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

10.1 Specificity of Antibodies (Cross-Reactivity)

The substances listed below were tested for cross-reactivity of the assay. Cross-reactivity must be < 10 %.

Substance	Conc. Range of Spiked Substance	Mean Cross-Reactivity (%)
11-Deoxy Cortisol	10 – 1000 ng/mL	0.01
17-OH Progesterone	1.2 – 120 ng/mL	0.00
21-OH Progesterone	3.5 – 350 ng/mL	0.04
Androstenedione	0.2 – 22 ng/mL	0.00
Androsterone	10 – 1000 ng/mL	0.00
BSA	1 – 100 mg/mL	0.00
Cholesterol	0.5 – 50 mg/mL	0.00
Corticosterone	0.5 – 50 ng/mL	0.15
Cortisol	8 – 800 ng/mL	0.00
Cortisone	16 – 1600 ng/mL	0.01
Creatinine	50 – 5000 µg/mL	0.00

Substance	Conc. Range of Spiked Substance	Mean Cross-Reactivity (%)
DHEA	0.5 – 50 ng/mL	0.03
DHEA-S	300 – 30000 ng/mL	0.00
Estradiol	0.02 – 2 ng/mL	0.01
Estriol	1.5 – 150 ng/mL	0.00
Estrone	0.01 – 1 ng/mL	0.05
Glucose	1 – 100 mg/mL	0.00
Prednisolone	35 – 3500 ng/mL	0.00
Prednisone	35 – 3500 ng/mL	0.00
Pregnenolone	35 – 3500 ng/mL	0.00
Progesterone	42.2 – 4220 ng/mL	0.00
Testosterone	0.01 – 1 ng/mL	0.00

10.2 Detection Capability

Calculated according to CLSI guideline EP17-A2:2012.

	Serum	Urine
Limit of Blank (LoB)	5.359 pg/mL	
Limit of Detection (LoD)	7.374 pg/mL	8.902 pg/mL
Limit of Quantification (LoQ)	10.647 pg/mL	15.665 pg/mL
Lower Limit of Linear Interval (LLLI)	14.144 pg/mL	21.200 pg/mL
Measuring range	7.374 pg/mL – 1000 pg/mL	8.902 – 1000 pg/mL
Linear range	14.144 pg/mL – 1000 pg/mL	21.200 – 1000 pg/mL

10.3 Repeatability and Reproducibility

Designed on the basis of CLSI guideline EP5-A3:2014.

10.3.1 Repeatability

The repeatability was determined with 4 patient samples covering the complete measuring range within 20 days in 2 independent runs per day. CV was calculated as mean CV of 40 runs.

CV must be < 10 %.

Serum	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	5	55.66	6.5
2	5	88.88	6.7
3	5	325.82	3.8
4	5	709.07	4.5

Urine	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	5	88.47	4.3
2	5	167.59	6.4
3	5	343.98	5.5
4	5	634.55	5.9

10.3.2 Reproducibility (Between-run Precision)

The between-run precision was determined with 4 samples covering the complete measuring range. The 4 samples were measured in 5 days with 5 replicates per run. The same procedure was performed with 4 urine samples.

Serum	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	25	55.66	7.4
2	25	88.88	9.8
3	25	325.82	6.5
4	25	709.07	9.6

Urine	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	25	88.47	8.2
2	25	167.59	7.3
3	25	343.98	7.5
4	25	634.55	8.3

10.3.3 Reproducibility (Between-lot Precision)

The between-lot variation was determined by 6 measurements of different samples with 3 different kit lots. CV must be < 15 %.

Serum	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	18	56.78	8.8
2	18	95.41	7.7
3	18	309.52	8.1
4	18	637.70	9.4

10.4 Recovery

Recovery was determined by adding increasing amounts of the analyte to different patient samples containing different amounts of endogenous analyte. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples.

Sample Type		K_3 EDTA	Li-Heparin	Citrate 3.2 %	Serum	Urine	Urine	Urine	Urine
Highest concentration added [pg/mL]		80.58	80.58	80.58	94.42	168.95	168.95	121.98	69.69
Concentration [pg/mL]		19.25	49.52	298.45	589.33	79.50	153.08	178.98	233.42
Average Recovery [%]		92.0	100.0	104.5	94.5	99.9	98.8	103.0	100.6
Range of Recovery [%]	from	87.4	91.2	95.7	90.9	94.8	95.1	98.9	98.4
	to	103.4	112.8	112.4	98.2	103.0	104.3	104.6	105.3

10.5 Linearity

Samples containing different amounts of analyte were serially diluted with *Standard 0*. The percentage recovery was calculated by comparing the expected and measured values for the analyte.

Sample Type		Li-Heparin	K_3 EDTA	Serum	Serum	Urine	Urine	Urine	Urine
Highest dilution		1:16	1:16	1:64	1:2	1:16	1:16	1:8	1:2
Concentration [pg/mL]		517.12	241.39	1085.81	85.90	379.70	592.90	1012.49	96.87
Average Recovery [%]		98.4	102.5	100.8	111.0	90.5	108.9	76.24	100.28
Range of Recovery [%]	from	92.7	93.8	88.3	108.5	85.8	106.5	86.2	90.7
	to	102.9	110.2	96.5	112.3	93.5	110.2	105.8	110.8

11 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the instructions for use and in compliance with the laboratory quality assurance guidelines.

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

11.1 Interfering Substances

11.1.1 Matrix Interference

No interference (bias < ± 20 %) was found for addition of interferent up to concentration stated in the table below.

Bilirubin unconjugated	up to 0.3 mg/mL
Bilirubin conjugated	up to 0.1 mg/mL
Hemoglobin	up to 2.0 mg/mL
Triglyceride	up to 7.5 mg/mL
Cholesterol	up to 4.0 mg/mL
Ethanol	up to 0.5 mg/mL
Glucose	up to 12.5 mg/mL

11.1.2 Heterophilic Antibody Interference

Patient samples may contain heterophilic antibodies, including endogenous, polyclonal, weakly poly-specific human anti-mouse antibodies (HAMA) and endogenous, monospecific, high-affinity human anti-animal antibodies (HAAA). Heterophilic antibodies in a sample may cause false positive (mostly) or false negative results in immunoassays[17].

However, it is generally accepted that heterophile antibodies do not interfere in competitive binding, immunenephelo-metric or immunoturbidimetric assays[19]. Since the Aldosterone ELISA has a competitive assay format, no interference testing for heterophilic antibodies was done.

11.1.3 Autoantibody Interference

Patient samples may contain autoantibodies including Rheumatoid Factors (RFs) which are directed against endogenous substances of the patient. Autoantibodies may cause false positive (mostly) or false negative results in immunoassays[17]. In immunoassays, they react similar to heterophilic antibodies.

Heterophilic antibodies in a sample may cause false positive (mostly) or false negative results in immunoassays[9].

However, it is generally accepted that heterophile antibodies do not interfere in competitive binding, immunonephelometric or immunoturbidimetric assays[19]. Since the Aldosterone ELISA has a competitive assay format, no interference testing for autoimmune antibodies and RFs was done.

11.1.4 Drug Interferences

The following drugs were tested. Bias must be < 10 %.

Substance	**Concentration Range of spiked Substance (ng/mL)**	**Mean Bias** (%)
Verapamil	21.6 - 2160	-1.91
Enalapril	4.24 - 424	-2.53
Acetylsalicylic Acid	652 - 65200	-0.38
Paracetamol	2000 - 200000	-3.47
Spironolacton	6 - 600	-1.93
Prazosine HCl	120 - 12000	-0.99
Fludrocortisone	20 - 2000	6.59
L-Ascorbic Acid	600 - 60000	1.39
Furosemide	60 - 6000	4.70
Dexamethasone	20 - 2000	4.93

11.2 High-Dose Hook Effect

"High-Dose Hook Effect" is not detected up to 20,000 pg/mL of Aldosterone.

11.3 Trueness (Bias)

The assay is calibrated in the range of the reference material (Certified reference material Cerilliant A-096). The difference from the expected value was below ± 20 %.

Concentration	**Bias**	**Uncertainty of the reference material**
50.00 pg/mL	-6.7 %	5.0 %
150 pg/mL	-7.3 %	2.7 %
700 pg/mL	-8.4 %	1.6 %

12 LEGAL ASPECTS

12.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the laboratory quality assurance guidelines and applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.
The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. If there is any doubt or concern regarding a result, please contact DRG.

12.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.
Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.
The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

12.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.
Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

12.4 Reporting of Serious Incident

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **DRG Aldosterone ELISA** ist ein manueller Enzymimmunoassay zur **quantitativen / qualitativen / semiquantitativen** Messung von Aldosteron in humanem Serum oder Plasma (K_2-EDTA, K_3-EDTA, Lithium-Heparin oder Citratplasma 3,2 %) und Urin.

Für den Einsatz in der *In-vitro* Diagnostik. Für den professionellen Gebrauch in Laboratorien.

Weitere Informationen zur bestimmungsgemäßen Verwendung finden Sie in der englischen Version der Gebrauchsanweisung.

2 BERICHT ZUR WISSENSCHAFTLICHEN VALIDITÄT

Informationen hierzu finden Sie in der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

3 TESTPRINZIP

Der DRG Aldosterone ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem **Prinzip der kompetitiven Bindung** basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper (Maus) beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des Aldosterone-Moleküls gerichtet ist.

Während der ersten Inkubation konkurriert Aldosterone in der zugegebenen Probe mit dem zugegebenen Enzymkonjugat (Aldosterone, konjugiert mit Meerrettichperoxidase) um die Bindung an den immobilisierten Antikörper.

Nach einem Waschschritt, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die Farbreaktion wird durch die Zugabe der Stopplösung beendet und die optische Dichte (OD) des resultierenden gelben Produktes gemessen. Die Intensität der Farbe ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe.

Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekannten Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

4 WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Dieser Kit ist nur für den Einsatz in der In-vitro Diagnostik bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch in Laboratorien.
- Bevor Sie mit dem Test beginnen, lesen Sie die Gebrauchsanweisung vollständig und sorgfältig durch. Verwenden Sie nur die gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung. Stellen Sie sicher, dass Sie alles verstanden haben.
- Komponenten aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern dürfen nicht gemischt oder zusammen verwendet werden. Vertiefungen verschiedener Platten, auch aus derselben Charge, sollten nicht untereinander ausgetauscht werden. Die Kits können unter unterschiedlichen Bedingungen transportiert oder gelagert worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leichte Unterschiede aufweisen kann.
- Reagenzien nicht über das auf den Kit-Etiketten angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
- Mikrotitervertiefungen nicht wiederverwenden.
- Reagenzien anderer Hersteller dürfen nicht zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwendet werden.
- Alle Reagenzien dieses Kits sind klare Lösungen, die Substratlösung ist klar und farblos. Veränderungen des Aussehens können die Durchführung des Tests beeinträchtigen. In diesem Fall wenden Sie sich bitte an DRG.
- Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Lassen Sie die Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) erreichen. Die Temperatur wirkt sich auf die Messungen der optischen Dichte des Assays aus.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Volumina müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Behältnisse jeweils nur für ein einziges Reagenz verwenden. Dies gilt insbesondere für die Substrat-Behälter. Die Verwendung eines Behälters zum Pipettieren der Substratlösung, der zuvor für die Konjugatlösung verwendet wurde, kann zu einer Verfärbung der Lösung führen. Geben Sie keine Reagenzien zurück in die Originalfläschchen, da es zu einer Kontamination der Reagenzien kommen kann.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

- Befolgen Sie die Richtlinien zur Qualitätssicherung und zur Sicherheit im Labor.
- Niemals mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In Bereichen, in denen mit Kitbestandteilen oder Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Laborkittel und Einweg-Latexhandschuhe sowie, falls erforderlich, eine Schutzbrille zu tragen.

Informationen zur biologischen Gefährdung

- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt Kein bekanntes Testverfahren kann jedoch mit absoluter Sicherheit ausschließen, dass kein Infektionserreger vorhanden ist.
- Das Produkt enthält Material tierischen Ursprungs, das nachweislich frei von infektiösen oder ansteckenden Krankheiten und schädigenden Parasiten ist.
- Komponenten von Rindern stammen aus Ländern, in denen keine BSE (Bovine Spongiforme Enzephalopathie) gemeldet wurde.
- Alle Materialien und Proben menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen so behandelt werden, als ob sie ansteckende Krankheiten übertragen könnten.
- Die Handhabung muss in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, die in den entsprechenden nationalen Richtlinien oder Vorschriften für Biogefährdung und Sicherheit festgelegt sind. Abfälle müssen gemäß den lokalen Regeln und Vorschriften entsorgt werden.

Informationen zu chemischen Gefahren und zur Gefahreneinstufung

- Einige Reagenzien enthalten Konservierungsmittel in nicht kennzeichnungspflichtiger Konzentrationen. Bei Kontakt der Reagenzien mit den Augen oder der Haut dennoch sofort mit ausreichend Wasser spülen.
- Die Substratlösung enthält einen Inhaltsstoff in nicht kennzeichnungspflichtiger Konzentration, der schwere Augenreizungen verursacht. Bei möglichem Kontakt mit den Augen sofort sorgfältig und gründlich mit Augenspülung oder Wasser spülen. Bei Berührung mit der Haut mit reichlich Wasser abwaschen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor Wiederverwendung waschen.

- Kontakt mit der Stopplösung (*Stop Solution*) vermeiden, da sie < 5% H_2SO_4 enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und -verätzungen verursachen.
- Chemikalien und zubereitete oder gebrauchte Reagenzien müssen als gefährlicher Abfall gemäß den nationalen Sicherheitsrichtlinien oder -vorschriften behandelt werden.
- Dieses Produkt enthält keine Stoffe, die krebserregende, erbgutverändernde oder fortpflanzungsgefährdende Eigenschaften (CMR) haben.

Der/die folgende(n) Kitbestandteil(e) ist/sind als gefährlich eingestuft: Enzyme Conjugate, Standard 0-5; Control low & Control high; Wash Solution

Achtung	**Gefahrenhinweise:** H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen. EUH071 - Wirkt ätzend auf die Atemwege.
	Sicherheitshinweise: P261 - Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/ Aerosol vermeiden. P280 - Schutzhandschuhe tragen P333 + P313 - Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + 364 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen

Ausführliche Informationen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt, das Sie auf Anfrage direkt bei DRG erhalten.

5 MATERIALIEN

5.1 Im Kit mitgelieferte Materialien

Symbol	Anzahl/Menge	Beschreibung	Vorbereitung
Microtiterwells	12 x 8 Wells (einzeln brechbar)	**Mikrotiterplatte** Mit anti-Aldosteron-Antikörper (monoklonal) beschichtet.	Gebrauchsfertig
Standard (Standard 0 - 5)	6 x 1.0 mL	**Standards*** Konzentrationen: 0 – 20 – 80 – 200 – 500 – 1000 pg/mL Umrechnungsfaktor: 1 pg/mL = 2.77 pmol/L Kalibriert gegen folgendes Referenzmaterial: *Certified reference material Cerilliant A-096*	Lyophilisiert *Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.*
Control Low & Control High	2 x 1.0 mL	**Kontrollen*** *Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem CoA.*	Lyophilisiert *Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.*
Enzyme Conjugate	1 x 14 mL	**Enzymkonjugat*** Aldosteron mit Meerrettichperoxidase; Rot gefärbt	Gebrauchsfertig
Substrate Solution	1 x 14 mL	**Substratlösung** Enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB). *Von direktem Sonnenlicht fernhalten.*	Gebrauchsfertig
Stop Solution	1 x 14 mL	**Stopplösung** Enthält < 5 % H_2SO_4. *Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und -verätzungen verursachen.*	Gebrauchsfertig
Wash Solution	1 x 30 mL	**Waschlösung, 40X-Konzentrat***	*Siehe “Vorbereitung der Reagenzien“.*
	1 x	**Gebrauchsanweisung (IFU)**	
	1 x	**Analysenzertifikat (CoA)**	
* Enthält 0,0108 % CMIT/MIT (3:1) Abkürzungen: CMIT: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on MIT: 2-methylisothiazol-3(2H)-on			

5.2 Erforderliche, aber nicht enthaltene Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät (450 nm, mit Referenzwellenlänge bei 620 nm bis 630 nm)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

- **Optional:** Reagenz zur Bestimmung von Aldosteron in Urin (REF EIA-5298-URIN)
  Inhalt:
  1) ***Release Reagent***, 1 Fläschchen, 3 mL, gebrauchsfertig. Enthält 1M HCl.
     Kontakt mit *Release Reagent* vermeiden. Es kann zu Hautirritationen führen.
  2) ***Neutralization Buffer***, 1 Fläschchen, 3 mL, gebrauchsfertig. Enthält Trispuffer, pH 8,5.
  3) ***Dilution Buffer***, 2 Fläschchen, je 25 mL, gebrauchsfertig. Enthält PBS.
- Optional: Plastikröhrchen (z.B. 0.5 - 1.5 mL) zur Vorbehandlung von Urinproben

5.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Ungeöffnete Kits und Reagenzien sowie **geöffnete Reagenzien** müssen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterplatte muss immer in dem wiederverschließbaren Aluminiumbeutel, der ein Trockenmittel enthält, gelagert werden. Öffnen Sie den Beutel erst, wenn er Raumtemperatur erreicht hat. Die Mikrotiterplatte besteht aus 12 einzelnen Streifen. Jeder Streifen kann in 8 einzelne Kavitäten (Wells) unterteilt werden. Nicht benötigte Kavitäten müssen sofort in den Aluminiumbeutel mit dem Trockenmittel zurückgegeben und wieder dicht verschlossenen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Einmal geöffnete Reagenzfläschchen müssen wieder fest verschlossen werden.

	Lagerungstemperatur	**Stabilität**
Ungeöffneter Kit und ungeöffnete Reagenzien	2 °C bis 8 °C	Bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum. Reagenzien nach Ablauf dieses Datums nicht mehr verwenden!
Geöffneter Kit	2 °C bis 8 °C	8 Wochen (Für rekonstituierte Reagenzien siehe "4.4 Vorbereitung der Reagenzien ".)

5.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien und die benötigte Anzahl der Mikrotiterstreifen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) bringen.

Standards

Das Lyophilisat in jedem Standard-Fläschchen mit 1.0 mL destilliertem Wasser auflösen und mindestens 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen. Vor der Verwendung mehrere Male mischen.

Stabilität nach Rekonstitution:	bei 2 °C bis 8 °C	8 Wochen
	bei -20 °C (in Aliquoten)	12 Monate

Kontrollen

Das Lyophilisat in jedem Kontroll-Fläschchen mit 1.0 mL destilliertem Wasser auflösen und mindestens 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen. Vor der Verwendung mehrere Male mischen.

Stabilität nach Rekonstitution:	bei 2 °C bis 8 °C	8 Wochen
	bei -20 °C (in Aliquoten)	12 Monate

Waschlösung

Fügen Sie der 40-fach konzentrierten Waschlösung (*Wash Solution*) destilliertes Wasser hinzu.

30 mL der konzentrierten Waschlösung mit 1170 mL destilliertem Wasser auf ein Endvolumen von 1200 mL verdünnen.

Stabilität nach Verdünnung:	bei 20 °C bis 26 °C	1 Woche

5.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits und aller verwendeten Materialien / Reagenzien muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Abschnitt 13.

5.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DRG in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Beschädigte Einzelkomponenten dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen aufbewahrt werden, bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

6 ENTNAHME, LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Das folgende Probenmaterial kann in diesem Test eingesetzt werden:

Humanes Serum oder Plasma (K_2-EDTA, K_3-EDTA, Lithium-Heparin oder Citratplasma 3,2 %) oder **Urin**

Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „*Interferenzen*“.

6.1 Serum und Plasma-Proben

6.1.1 Probenentnahme

Serum: Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma: Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulanz enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

Vollblut sollte vor der Zentrifugation nicht eingefroren werden.

Stabilität von Vollblut[18]	bei 20 °C bis 26 °C	4 Tage

6.1.2 Probenlagerung

Die Proben müssen bis zur Durchführung des Tests fest verschlossen aufbewahrt werden. Wenn sie gefroren gelagert werden, nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben müssen vor dem Test mehrmals geschwenkt werden.

Stabilität:	bei 2 °C bis 8 °C	5 Tage
	bei -20 °C (in Aliquoten)	bis zu 12 Monate

6.1.3 Probenvorbereitung

Die Proben können ohne zusätzliche Vorbereitung analysiert werden.

6.1.4 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Standard 0* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden.

Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Beispiel: Verdünnung 1:10: 10 µL Probe + 90 µL *Standard 0*; Sorgfältig mischen.

6.2 Urin-Proben

Die Aldosteronkonzentration kann ebenfalls in Urinproben bestimmt werden. Vor der Analyse müssen die Urinproben allerdings vorbehandelt werden. Dazu werden zusätzliche Reagenzien benötigt, die nicht im Kit enthalten sind. Diese Zusatzreagenzien können separat bestellt werden unter REF EIA-5298-URIN.

6.2.1 Probenentnahme

Um Kontaminationen zu vermeiden, den Genitalbereich zuerst mit einem milden Desinfektionsmittel reinigen. Mittelstrahl-Urin in einem geeigneten sterilen Gefäß sammeln.

Da die Aldosteronsekretion einem zirkadianen Rhythmus folgt, wird eine Urinsammlung in einem speziellen gekühlten Behälter über einen Zeitraum von 24 Stunden empfohlen (24-Stunden-Urin).

Sofort nach Erhalt der Urinproben, sollten diese für 5 - 10 Minuten zentrifugiert werden (z.B. 2000 *g*), um Zellreste zu entfernen.

Der Überstand wird für die Messung eingesetzt.

6.2.2 Probenlagerung

Die Proben (Urin-Überstand) müssen bis zur Durchführung des Tests fest verschlossen aufbewahrt werden. Wenn sie gefroren gelagert werden, nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben müssen vor dem Test mehrmals geschwenkt werden.

Stabilität des Urin-Überstands:	bei 2 °C bis 8 °C	7 Tage
	bei -20 °C (in Aliquoten)	7 Tage

6.2.3 Vorbehandlung der Urinproben

1. Die benötigte Anzahl der Röhrchen (z.B. 0.5 - 1.5 mL Plastikröhrchen, nicht im Kit enthalten) zur Vorbehandlung von Urinproben bereitstellen.
2. Je **25 µL Urinprobe** mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Röhrchen geben.
3. **25 µL *Release Reagent*** in jedes Röhrchen geben.
   Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4. **Über Nacht** bei 2 °C - 8 °C inkubieren.
5. Je **25 µL *Neutralization Reagent*** in jedes Röhrchen geben, vorsichtig mischen.
6. Je **400 µL *Dilution Buffer*** in jedes Röhrchen geben, vorsichtig mischen.
   (Diese Vorbehandlung führt zu einer 1:19-Verdünnung. Der Verdünnungsfaktor 19 muss daher bei der Berechnung der Endkonzentration einer Urinprobe berücksichtigt werden.)
7. **100 µL** der **vorbehandelten und verdünnten Urinprobe** direkt in die beschichtete Mikrotiterplatte **überführen** und mit Schritt 3 der Testdurchführung (Kap. 6.2) fortfahren.

6.2.4 Aufbewahrung der vorbehandelten und verdünnten Urinproben

Die Proben müssen bis zur Durchführung des Tests fest verschlossen aufbewahrt werden. Wenn sie gefroren gelagert werden, nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben müssen vor dem Test mehrmals geschwenkt werden.

Stabilität der vorbehandelten und verdünnten Urinproben:	bei 2 °C bis 8 °C	7 Tage
	bei -20 °C (in Aliquoten)	7 Tage

6.2.5 Urinprobenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Urinprobe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann die vorbehandelten und vorverdünnten Urinprobe mit *Dilution Buffer* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration zusätzlich beachtet werden.

Beispiel: Verdünnung 1:10: 10 µL vorbehandelte und vorverdünnte Urinprobe + 90 µL *Dilution Buffer (*gründlich mischen)
(Verdünnungsfaktor = 19 x 10 = 190)

7 TESTDURCHFÜHRUNG

7.1 Hinweise zur Durchführung

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) gebracht werden.
- Alle Reagenzien müssen ohne Schaumbildung gemischt werden.
- Die Kappen der Reagenzfläschchen dürfen nicht vertauscht werden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Einweg-Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Mischen Sie den Inhalt der Mikrotiterplatten-Vertiefungen gründlich, um gute Testergebnisse zu gewährleisten.
- Kavitäten während der Testdurchführung nicht trocknen lassen; Reagenzien unmittelbar nach Ende des Waschschritts hinzufügen.
- Sobald der Test begonnen wurde, müssen alle Schritte ohne Unterbrechung und in der gleichen Reihenfolge für jeden Schritt abgeschlossen werden.
- Die enzymatische Reaktion ist linear proportional zu Zeit und Temperatur.
- Die optische Dichte ist eine Funktion der Inkubationszeit und -temperatur. Die in Kapitel "Testverfahren" angegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen müssen eingehalten werden.
- Es wird empfohlen, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen, usw. Nur eine solche Vorbereitung garantiert für jeden Pipettierschritt gleiche Zeiten ohne Unterbrechung.
- **Wichtiger Hinweis zum Waschvorgang:**
  Das Waschen ist entscheidend. Unsachgemäß gewaschene Kavitäten führen zu fehlerhaften Ergebnissen. Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
- **Testdurchführung mit vollautomatischen Analysegeräten:**
  Eine automatisierte Testdurchführung mit vollautomatischen, systemoffenen Analysegeräten ist möglich. Die Kombination muss jedoch vom Anwender validiert werden.

7.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.
Die Kontrollen dienen der internen Überprüfung der Zuverlässigkeit des Testverfahrens. Sie müssen bei jedem Testdurchlauf gemessen werden.
Das angegebene Testverfahren beschreibt die manuelle Abarbeitung.

Wichtiger Hinweis: Die Genauigkeit dieses Tests wird maßgeblich beeinflusst durch die korrekte Inkubationstemperatur!

1. Die benötigte Anzahl der Mikrotiter-Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 100 µL *Standard, Control*** und **Probe** mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells pipettieren.
   Bei Urinproben **100 µL** der vorbehandelten und verdünnten Urinproben in die Wells pipettieren (siehe Kapitel 5.5.2 *Vorbehandlung der Urinproben*, Schritt 7).
3. **30 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
4. **100 µL *Enzyme Conjugate*** in jedes Well zugeben.
   Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
5. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Die Vertiefungen folgendermaßen waschen:
   Wenn der Waschschritt manuell durchgeführt wird:
   Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln.
   Wells **3-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* pro Well waschen.

   Bei Verwendung eines Waschautomaten:
   Wells **3-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* pro Well waschen.

   Am Ende des Waschschritts die Vertiefungen immer kräftig auf saugfähigem Papier ausklopfen, um verbliebene Flüssigkeit zu entfernen.
7. **100 µL *Substrate Solution*** in jedes Well pipettieren.
8. **30 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **50 µL *Stop Solution*** in jedes Well abstoppen.
10. Die Optische Dichte (OD) der Lösung in jedem Well bei **450 nm (Messung) und 620 nm bis 630 nm (Abzug des Hintergrundes, empfohlen)** mit einem Mikrotiterplattenleser bestimmen.
    Es wird empfohlen, die Vertiefungen **innerhalb von 10 Minuten** nach Zugabe der Stopplösung abzulesen.

7.3 Berechnung der Ergebnisse

1. Die Konzentration der **Serum-/Plasmaproben** kann **direkt** von der Standardkurve abgelesen werden.
   Für **Urinproben** muss die aus der Standardkurve ermittelte Konzentration **mit dem Verdünnungsfaktor 19 multipliziert** werden (Siehe Kap. 5.2.2).
2. Bei Doppelbestimmungen muss für jeden Standard, jede Kontrolle und Patientenproben der Mittelwert der beiden OD-Werte verwendet werden. Weichen die beiden Werte erheblich voneinander ab, empfiehlt die DRG, die Proben erneut zu testen.
3. Proben mit Konzentrationen, die den höchsten Standard überschreiten, können weiter verdünnt und wie unter "Testdurchführung " beschrieben erneut gemessen werden oder müssen als > 1000 pg/mL angegeben werden. Bei der Berechnung der Konzentrationen muss dieser Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.
4. Automatische Methode:
   Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Ergebnisse wurden automatisch mit Hilfe der 4-Parameter-Gleichung bestimmt. (4-Parameter-Rodbard oder 4-Parameter-Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Manuelle Methode:
   Erstellen Sie unter Verwendung von linearem oder halblogarithmischem Millimeterpapier eine Standardkurve, indem Sie die (mittlere) OD jedes Standards gegen seine Konzentration auftragen, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse liegt. Bestimmen Sie die entsprechende Probenkonzentration anhand der Standardkurve, indem Sie den (mittleren) OD-Wert für jede Probe verwenden.

7.3.1 Beispiel einer typischen Standardkurve

Die folgenden Daten dienen nur zur Orientierung und dürfen **nicht** anstelle der Datengenerierung zum Zeitpunkt des Tests verwendet werden.

Standard		**Optische Dichte (450 nm)**
Standard 0	(0 pg/mL)	2,040
Standard 1	(20 pg/mL)	1,634
Standard 2	(80 pg/mL)	0,966
Standard 3	(200 pg/mL)	0,516
Standard 4	(500 pg/mL)	0,223
Standard 5	(1000 pg/mL)	0,130

7.4 Finale Berechnung für Urinproben

Für jede Urinprobe sollte die 24-Stunden-Extraktion berechnet werden: µg/24 h = **µg/L × L/24 h**

Beispiel:

aus der Standardkurve ermittelte Konzentration der Urinprobe = 500 pg/mL

Ergebnis nach Korrektur mit den Verdünnungsfaktor 19 = 9500 pg/mL

9500 pg/mL ⁄ 1000 = 9,5 µg/L

Gesamtvolumen des 24-Stunden-Urins = 1,3 L (Beispiel)

9,5 µg/L × 1,3 L/24 h = **12,35 µg/24 h**

8 REFERENZWERTE

8.1 Serum/Plasma-Proben

Es wird dringend empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen spezifischen Werte ermittelt, die eine in dem Gebiet, in dem sich das Labor befindet, heimische Bevölkerung berücksichtigen.

Werte, die über oder unter dem Referenzbereich liegen, sollten als verdächtig angesehen werden und erfordern zusätzliche Untersuchungen.

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

In einer Studie wurden **K_3 EDTA-Plasmaproben** von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem DRG Aldosterone ELISA folgende Werte:

Gesunde Erwachsene	n	Mittelwert (pg/mL)	Median (pg/mL)	2,5. - 97,5. Perzentile (pg/mL)	Bereich (min. - max.) (pg/mL)
Liegende Körperhaltung	60	56,14	39,71	14,21 – 156,47	8,58 – 272,30
Stehende Körperhaltung	60	77,48	58,00	13,37 – 233,55	12,87 – 358,50

Diese Werte gelten auch für Serum, K_2 EDTA-, Li-Heparin- und Citratplasma (3,2%).

Diese Werte stimmen gut überein mit publizierten Referenzbereichen[8,15].

In einer Studie wurden die Proben von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem DRG Aldosterone ELISA (EIA 5298) und dem DRG Renin ELISA folgende ***Aldosteron-Renin-Quotienten*** in Plasma:

Aldosteron-Renin-Quotienten (pg/mL/pg/mL)

	n	Mittelwert (pg/mL/pg/mL)	Median (pg/mL/pg/mL)	2,5. - 97,5. Perzentile (pg/mL/pg/mL)
Gesunde Erwachsene (K_3 EDTA)	89	8,68	5,30	0,52 – 37,83

Diese Werte gelten auch für Serum, K_2 EDTA-, Li-Heparin- und Citratplasma (3,2%).

Diese Werte stimmen gut überein mit publizierten Referenzbereichen[16].

8.2 Urin-Proben

In einer Studie wurden die **Urinproben** (24-Stunden-Urin) von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem DRG Aldosteron ELISA folgende Werte:

	n	Mittelwert (µg/24 h)	Median (µg/24 h)	2,5. - 97,5. Perzentile (µg/24 h)	Bereich (min. - max.) (µg/24 h)
Gesunde Erwachsene	8	11,34	9,40	3,31 - 25,09	3,06 - 27,17

Diese Werte stimmen gut überein mit publizierten Referenzbereichen[8].

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

9 QUALITÄTSKONTROLLE

Eine gute Qualitätssicherung im Labor erfordert, dass mit jeder Standardkurve Kontrollen mitgeführt werden. Eine statistisch signifikante Anzahl von Kontrollen sollte gemessen werden, um Mittelwerte und Akzeptanzbereiche zu ermitteln und damit eine korrekte Testdurchführung zu gewährleisten.

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag-Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im Analysenzertifikat (CoA), das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im CoA angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollen zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Falls verfügbar, wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungsprogrammen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.
Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontrollwerten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.
In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdaten der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.
Sollten nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keine Fehler erkennbar sein, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

10 LEISTUNGSMERKMALE

Die Daten zu:

10.1 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

10.2 Detektionsfähigkeit

10.3 Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

10.4 Wiederfindung

10.5 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

11 GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Gebrauchsanweisung und unter Einhaltung der Richtlinien zur Qualitätssicherung im Labor durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Handhabung der Proben oder eine Modifikation dieses Tests kann die Ergebnisse beeinflussen.

Die Daten zu:

11.1 Störsubstanzen

11.2 High-Dose-Hook-Effekt

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

12 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

12.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Anwender die Richtlinien zur Qualitätssicherung im Labor und anwendbare nationale Normen und/oder Gesetze strikt einhalten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitzuführen.
Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen.
Wenn bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken bestehen, setzen Sie sich bitte mit der Firma DRG in Verbindung.

12.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.
Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

12.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.
Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt.
Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

12.4 Meldung von schwerwiegenden Vorkommnissen

Jedes schwerwiegende Vorkommnis im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

1 DESTINAZIONE D'USO

DRG **Aldosterone ELISA** è un test immunoenzimatico manuale per la misurazione **quantitativa** di aldosterone nel siero o nel plasma umano (EDTA K_2, EDTA K_3, litio eparina o plasma di citrato 3,2 %) o nelle urine umane.

Per uso diagnostico *in vitro*. Per uso professionale di laboratorio.

Per ulteriori informazioni sulla destinazione d'uso, consultare le istruzioni per l'uso in inglese.

2 RAPPORTO SULLA VALIDITÀ SCIENTIFICA

Per informazioni al riguardo, consultare la versione inglese dettagliata delle istruzioni per l'uso.

3 PRINZIPIO DEL TEST

Il test DRG Aldosterone ELISA è un dosaggio immuno-assorbente legato a un enzima a fase solida (ELISA) basato sul **principio del legame competitivo**.

I pozzetti per microtitolazione sono rivestiti con un anticorpo monoclonale (topo) diretto verso un sito antigenico unico della molecola di aldosterone.

Durante la prima incubazione, l'analita aldosterone nel campione aggiunto compete con il coniugato enzimatico aggiunto, che è aldosterone coniugato alla perossidasi di rafano, per legarsi all'anticorpo rivestito

Dopo una fase di lavaggio per rimuovere tutte le sostanze non legate, la fase solida viene incubata con la soluzione di substrato. La reazione colorimetrica viene bruscamente interrotta con l'aggiunta di soluzione di arresto e viene misurata la densità ottica (DO) del prodotto giallo risultante. L'intensità della colorazione è inversamente proporzionale alla concentrazione dell'analita nel campione.

Una curva standard viene costruita tracciando i valori di DO rispetto alle concentrazioni di standard; le concentrazioni di campioni sconosciuti vengono determinate usando questa curva standard.

4 AVVERTENZE E PRECAUZIONE

- Questo kit è solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale di laboratorio.
- Prima di avviare il dosaggio, leggere completamente e attentamente le istruzioni per l'uso. Utilizzare la versione valida delle istruzioni per l'uso fornita con il kit. Assicurarsi che tutto sia stato compreso.
- Non miscelare o utilizzare componenti provenienti da kit con un diverso numero di lotto. Si raccomanda di non scambiare pozzetti di piastre diverse, anche se dello stesso lotto. I kit potrebbero essere stati spediti o conservati in condizioni differenti e le caratteristiche di legame delle piastre potrebbero essere leggermente diverse.
- Non utilizzare reagenti oltre la data di scadenza riportata sulle etichette del kit.
- Non riutilizzare i pozzetti di microtitolazione.
- Non usare reagenti di altri produttori in combinazione con i reagenti di questo kit di test.
- Tutti i reagenti di questo kit sono liquidi trasparenti; la soluzione di substrato è trasparente e incolore. Modifiche nell'aspetto possono influenzare le prestazioni del test. In questo caso, contattare DRG.
- La contaminazione microbica dei reagenti o dei campioni può dare risultati falsi.
- Prima di avviare il test, attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (da 20 °C a 26 °C). La temperatura influenza le letture della densità ottica del dosaggio.
- Usare i volumi indicati secondo quanto previsto dal protocollo. I risultati ottimali del test si ottengono solo utilizzando pipette calibrate e lettori di piastre per microtitolazione.
- Utilizzare serbatoi solo per reagenti singoli. Ciò vale in particolare per i serbatoi per il substrato. L'utilizzo di un serbatoio per l'erogazione di una soluzione di substrato precedentemente usato per la soluzione di coniugato potrebbe causare una colorazione della soluzione. Non versare nuovamente i reagenti nelle fiale originali, poiché potrebbe verificarsi una contaminazione.

Precauzioni generali

- Seguire le linee guida per la garanzia di qualità e la sicurezza in laboratorio.
- Non pipettare mai a bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le mucose.
- Non fumare, mangiare, bere o applicare cosmetici nelle aree dove vengono manipolati campioni o reagenti del kit.
- Quando si maneggiano campioni e reagenti, indossare camici da laboratorio e guanti in lattice monouso e occhiali di sicurezza ove necessario.

Informazioni sul rischio biologico

- Tutti i reagenti di questo kit che contengono siero o plasma umano sono stati testati e confermati negativi rispetto a HIV I/II, HBsAg e HCV usando procedure approvate dalla FDA. Tuttavia, nessun metodo noto può garantire con certezza assoluta che non sia presente alcun agente infettivo.
- Il dispositivo contiene materiale di origine animale, certificato come apparentemente privo di malattie infettive o contagiose e parassiti nocivi.
- I componenti bovini provengono da paesi in cui non è stata segnalata la BSE (Encefalopatia spongiforme bovina).
- Maneggiare tutti i materiali e i campioni di origine umana o animale come potenziali fonti di malattie infettive.
- Manipolare in conformità con le procedure definite dalle linee guida o dai regolamenti nazionali in materia di rischio biologico e sicurezza. Smaltire i rifiuti secondo le norme e i regolamenti locali.

Informazioni sul rischio chimico e sulla classificazione dei pericoli

- Alcuni reagenti contengono conservanti in concentrazioni non dichiarabili. Tuttavia, in caso di contatto con gli occhi o la pelle, sciacquare immediatamente con acqua.
- La soluzione di substrato contiene un ingrediente in concentrazioni non dichiarabili che provoca grave irritazione oculare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare subito accuratamente ed abbondantemente con una soluzione di lavaggio oculare o acqua. Dopo il contatto con la pelle, lavare abbondantemente con acqua. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli.
- Evitare il contatto con la soluzione di arresto contenente < 5 % H_2SO_4. Può provocare irritazioni e ustioni alla pelle.
- Trattare i prodotti chimici e i reagenti preparati o usati come rifiuti pericolosi secondo le linee guida o i regolamenti nazionali sulla sicurezza.
- Questo prodotto non contiene sostanze con proprietà cancerogene, mutagene o tossiche per la riproduzione (CMR).

I seguenti componenti del kit sono classificati come pericolosi: Enzyme Conjugate, Standard 0-5; Control low & Control high; Wash Solution

Attenzione	**Indicazione di pericolo:** H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea. EUH071 - Corrosivo per le vie respiratorie.
	Consiglio di prudenza: P261 - Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 - Indossare guanti P333 + P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + 364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento dei rifiuti riconosciuto

Per informazioni dettagliate fare riferimento alla Scheda di Sicurezza, disponibile su richiesta direttamente da DRG.

5 MATERIALI

5.1 Materiali forniti nel kit

Simbolo	Quantità	Descrizione	Preparazione
Microtiterwells	12 x 8 pozzetti (separabili)	**Piastra per microtitolazione** Rivestita di anticorpo anti-aldosterone (monoclonale).	Pronto all'uso
Standard (Standard 0 - 5)	6 x 1.0 mL	**Standard *** Concentrazioni: 0 – 20 – 80 – 200 – 500 – 1000 pg/mL Conversione: 1 pg/mL = 2.77 pmol/L *Calibrato rispetto al seguente materiale di riferimento:* *Certified reference material Cerilliant A-096*	Liofilizzato; *Vedere "Preparazione dei reagenti".*
Control Low & Control High	2 x 1.0 mL	**Controlli** * *Per gli intervalli e i valori di controllo vedere l'etichetta della fiala o il certificato di analisi (CoA).*	Liofilizzato; *Vedere "Preparazione dei reagenti".*
Enzyme Conjugate	1 x 14 mL	**Coniugato enzimatico *** aldosterone coniugato con perossidasi di rafano; Colorata di rosso	Pronto all'uso
Substrate Solution	1 x 14 mL	**Soluzione di substrato** Contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). *Conservare al riparo dalla luce solare diretta.*	Pronto all'uso
Stop Solution	1 x 14 mL	**Soluzione di arresto** Contiene < 5 % H_2SO_4. *Evitare il contatto con la soluzione di arresto. Potrebbe causare irritazioni cutanee e ustioni.*	Pronto all'uso
Wash Solution	1 x 30 mL	**Soluzione di lavaggio, Concentrato 40X ***	*Vedere "Preparazione dei reagenti".*
	1 x	**Istruzioni per l'uso (IFU)**	
	1 x	**Certificato di analisi (CoA)**	

* Contiene 0,0108% CMIT/ MIT (3:1).

Abbreviazioni:
CMIT: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one
MIT: 2-metil-2H-isotiazol-3-one

5.2 Materiali necessari ma non forniti

- Lettore di piastre per microtitolazione calibrato (450 nm, con lunghezza d'onda di riferimento tra 620 nm e 630 nm)
- Micropipette a precisione variabile, calibrate
- Dispositivo di lavaggio manuale o automatico per piastre per microtitolazione
- Carta assorbente
- Acqua distillata
- Timer
- Carta millimetrata o software per il calcolo dei dati

- **Facoltativo:** reagente per la determinazione di **Aldosterone nell'urina** (REF EIA-5298-URIN)
  Contenuto:
  1) ***Release Reagent*** (Reagente di rilascio), 1 flacone, 3 mL, pronto all'uso, contiene 1 M HCl.
     Evitare il contatto con il Reagenti di rilascio. Può causare irritazione cutanea.
  2) ***Neutralization Buffer*** (Tampone di neutralizzazione), 1 flacone, 3 mL, pronto all'uso.
     Contiene Tris buffer, pH 8,5.
  3) ***Dilution Buffer*** (Tampone di diluizione), 2 flaconi, 25 mL ciascuno, pronto all'uso. Contiene PBS.
- Facoltativo: tubetti di plastic (p.es. 0,5 – 1,5 mL) per il pre-trattamento dei campioni di urina.

5.3 Conservazione e stabilità del kit

I kit e i reagenti non aperti e **i reagenti aperti** devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

La micropiastra deve sempre essere conservata nel sacchetto richiudibile in alluminio contenente un essiccante. Non aprire il sacchetto finché non ha raggiunto la temperatura ambiente. La piastra per microtitolazione è costituita da 12 strisce singole. Ogni striscia può essere suddivisa in 8 pozzetti singoli. I pozzetti inutilizzati devono essere immediatamente riposti nel sacchetto in alluminio contenente l'essiccante, richiusi ermeticamente e conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

Dopo l'apertura, le fiale di reagente devono essere nuovamente chiuse ermeticamente.

	Temperatura di conservazione	**Stabilità**
Kit non aperto e reagenti non aperti	2 °C a 8 °C	Fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Non utilizzare i reagenti dopo questa data!
Kit aperti	2 °C a 8 °C	8 settimane (Per i reagenti ricostituiti fare riferimento alla sezione "5.4 Preparazione dei reagenti".)

5.4 Preparazione dei reagenti

Prima dell'uso portare tutti i reagenti e il numero necessario di pozzetti a temperatura ambiente (20 °C a 26 °C).

Standard

Ricostituire il contenuto liofilizzato di ogni fiala standard con 1.0 mL di acqua distillata e lasciare riposare per almeno 10 minuti a temperatura ambiente. Mescolare più volte prima dell'uso.

Stabilità dopo la ricostituzione:	da 2 °C a 8 °C	8 settimane
	a -20 °C (in aliquote)	12 mesi

Controlli

Ricostituire il contenuto liofilizzato di ogni fiala di controllo con 1.0 mL di acqua distillata e lasciare riposare per almeno 10 minuti a temperatura ambiente. Mescolare più volte prima dell'uso.

Stabilità dopo la ricostituzione:	da 2 °C a 8 °C	8 settimane
	a -20 °C (in aliquote)	12 mesi

Soluzione di lavaggio

Aggiungere acqua distillata alla soluzione di lavaggio con concentrazione di 40X.

Diluire 30 mL soluzione di lavaggio concentrata con 1170 mL di acqua distillata fino a un volume finale di 1200 mL.

Stabilità dopo la diluizione:	da 20 °C a 26 °C	1 settimana

5.5 Smaltimento del kit

Lo smaltimento del kit e di tutti i materiali/reagenti usati deve essere effettuato nel rispetto delle normative nazionali. Informazioni specifiche su questo prodotto sono riportate nella Scheda di Sicurezza, sezione 13.

5.6 Kit di test danneggiati

In caso di danni al kit del test o ai componenti, DRG deve essere informato per iscritto, al più tardi una settimana dopo la ricezione del kit. I singoli componenti danneggiati non devono essere utilizzati per i test. Devono essere invece conservati fino a quando non è stata individuata una soluzione definitiva. Successivamente potranno essere smaltiti secondo le norme in vigore.

6 PRELIEVO, CONSERVAZIONE E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

In questo test è possibile utilizzare il seguente materiale campione:

Siero o plasma umano (EDTA K_2, EDTA K_3, litio eparina o plasma citrato 3,2 %) o **urine**

Campioni contenenti azoturo di sodio non devono essere utilizzati nel dosaggio.

In generale si dovrebbe evitare l'uso di campioni emolitici, itterici o lipemici. Per ulteriori informazioni consultare il capitolo "*Sostanze interferenti*".

6.1 Campioni di siero / plasma

6.1.1 Prelievo dei campioni

Siero: Prelevare il sangue mediante venipuntura (ad es. Sarstedt Monovette per siero), far coagulare e separare il siero centrifugando a temperatura ambiente. Non centrifugare prima che la coagulazione sia completata. Campioni di pazienti in terapia anticoagulante potrebbero richiedere più tempo per la coagulazione.

Plasma: Prelevare il sangue in provette da centrifuga contenenti un anticoagulante (ad es. Sarstedt Monovette con un'adeguata preparazione per il plasma) e centrifugare subito dopo il prelievo.

Il sangue intero non deve essere congelato prima della centrifugazione.

Stabilità del sangue intero	da 20 °C a 26 °C	4 giorni

6.1.2 Conservazione dei campioni

I campioni devono essere conservati ben tappati prima di eseguire il dosaggio. Se vengono conservati in congelatore, congelarli solo una volta. I campioni scongelati devono essere invertiti più volte prima di eseguire il test.

Stabilità:	da 2 °C a 8 °C	5 giorni
	a -20 °C (in aliquote)	fino a 12 mesi

6.1.3 Preparazione dei campioni

I campioni possono essere analizzati senza ulteriore preparazione.

6.1.4 Diluizione dei campioni

Se in un campione di siero o plasma viene trovata una concentrazione oltre lo standard più alto, questo campione può essere diluito con *Standard 0* e nuovamente determinato. Della diluizione deve essere però tenuto conto.

Esempio: diluizione 1:10: 10 µL campione + 90 µL *Standard 0*; Agitare bene.

6.2 Campioni di urina

La concentrazione di Aldosterone può anche essere determinata usando campioni di urine. Comunque, i campioni di urine devono essere pretrattati prima dell'analisi. Questo richiede reagenti aggiuntivi che non sono inclusi in questo kit, ma che possono essere ordinati separatamente (REF EIA-5298-URIN).

6.2.1 Prelievo dei campioni

Pulire l'area genitale con un disinfettante leggero per prevenire contaminazioni. Poi raccogliere il secondo getto di urina in un apposite contenitore sterile.

Poiché la secrezione di aldosterone segue un ritmo circadiano, si raccomanda una raccolta di urine in uno speciale contenitore raffreddato per un periodo completo di 24 ore (urine di 24 ore).

Direttamente dopo la raccolta, centrifugare l'urina per 5 - 10 minuti (p.es. a 2000 *g*) per rimuovere detriti cellulari.

Usare il surnatante per la quantificazione dell'analita.

6.2.2 Conservazione dei campioni

I campioni (surnatante delle urine) devono essere conservati ben tappati prima di eseguire il dosaggio. Se vengono conservati in congelatore, congelarli solo una volta. I campioni scongelati devono essere invertiti più volte prima di eseguire il test.

Stabilità del surnatante delle urine	da 2 °C a 8 °C	7 giorni
	a -20 °C (in aliquote)	7 giorni

6.2.3 Protocollo per il pretrattamento dei campioni di urina

1. Fissare il numero necessario di tubetti (p.es. 0.5 – 1.5 mL tubetti di plastica; non inclusi in questo kit).
2. Aggiungere **25 µL** di urina con una nuova punta monouso nei tubetti relativi.
3. Aggiungere **25 µL *Release Reagent*** in ogni tubetto. Mescolare accuratamente per 10 secondi. È importante ottenere un mescolamento completo in questo passaggio.
4. Incubare per tutta la note a 2 °C a 8 °C.
5. Aggiungere **25 µL *Neutralization Reagent*** in ogni tubetto e mescolare accuratamente.
6. Aggiungere **400 µL *Dilution Buffer*** in ogni tubetto e mescolare accuratamente.
   (Questo pretrattamento porta alla diluizione 1:19. Pertanto, il fattore di diluizione 19 deve essere usato per il calcolo della concentrazione finale nei campioni di urina.
7. Trasferire **100 µL dei campioni di urina pretrattati e diluiti** direttamente ai pozzetti della piastra microtiter e continuare con passaggio 3 del procedimento del test (capitolo 6.2).

6.2.4 Prelievo dei campioni di urina pretrattati

I campioni devono essere conservati ben tappati prima di eseguire il dosaggio. Se vengono conservati in congelatore, congelarli solo una volta. I campioni scongelati devono essere invertiti più volte prima di eseguire il test.

Stabilità dei campioni di urina pretrattati e diluiti	da 2 °C a 8 °C	7 giorni
	a -20 °C (in aliquote)	7 giorni

I campioni di urina pretrattati e diluiti dovrebbero essere magazzinati ben chiusi fino a 7 giorni a 2 °C a 8 °C prima del dosaggio.

Campioni magazzinati per un periodo più lungo (fino a 2 mesi) dovrebbero essere congelati solo una volta a -20 °C prima dell'analisi. Invertire campioni scongelati alcune volte prima dell'uso.

6.2.5 Diluizione dei campioni di urina

Se in un saggio iniziale, in un campione di urina viene trovato una quantità superiore allo standard più alto, il campione pretrattato e diluito può essere diluito ulteriormente con il *Dilution Buffer* (tampone di diluizione) e re-analizzato come descritto nel procedimento.

Per il calcolo della concentrazione, anche questo fattore di diluizione deve essere usato.

Esempio:

diluizione 1:10: 10 µL del campione di urina pretrattato e diluito + 90 µL di *Dilution Buffer* (mescolare accuratamente)
(fattore di diluizione finale = 19 x 10 = 190)

7 PROCEDURA DEL DOSAGGIO

7.1 Note sulla procedura

- Portare tutti i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (tra 20 °C e 26 °C) prima dell'uso.
- Miscelare tutti i reagenti senza formare schiuma.
- Non scambiare tra loro i tappi delle fiale di reagente per evitare contaminazioni incrociate.
- Per ogni componente, standard, controllo o campione è necessario utilizzare un nuovo puntale di pipettaggio in plastica monouso per evitare il carry-over.
- Per evitare la contaminazione incrociata e risultati falsamente elevati, pipettare i campioni dei pazienti e dispensare il coniugato accuratamente sul fondo dei pozzetti senza produrre schizzi.
- Per garantire risultati ottimali del test, mescolare accuratamente il contenuto dei pozzetti della piastra per microtitolazione.
- Non lasciare asciugare i pozzetti durante il dosaggio; aggiungere i reagenti subito dopo aver completato le fasi di risciacquo.
- Dopo l'avvio del test, completare tutti i passaggi senza interruzioni e seguendo la stessa sequenza per ogni passaggio.
- La reazione enzimatica è linearmente proporzionale al tempo e alla temperatura.
- La densità ottica è una funzione del tempo di incubazione e della temperatura. Rispettare i tempi e le temperature di incubazione come indicato nel capitolo "Procedura del test".
- Prima di avviare il dosaggio, è raccomandato fare in modo che tutti i reagenti siano pronti, i tappi rimossi, tutti i pozzetti necessari fissati sul supporto ecc. Questo garantirà un tempo trascorso identico per ogni fase di pipettaggio senza interruzioni.
- **Nota importante sulla procedura di lavaggio:**
  Il lavaggio è fondamentale. I pozzetti lavati in modo improprio daranno risultati errati. La sensibilità e la precisione di questo dosaggio sono notevolmente influenzate dalla corretta esecuzione della procedura di lavaggio!
- **Prestazioni del test utilizzando dispositivi di analisi completamente automatizzati:**
  È possibile eseguire test automatizzati utilizzando dispositivi di analisi a sistema aperto completamente automatizzati. Tuttavia, la combinazione deve essere convalidata dall'utente.

7.2 Procedura del test

Ogni analisi deve includere una curva standard.

I controlli servono come controlli interni per la valutazione dell'affidabilità della procedura del test. Essi devono essere dosati a ogni esecuzione del test.

La procedura del test indicata descrive l'elaborazione manuale.

Nota importante: l'accuratezza di questo dosaggio è notevolmente influenzata dalla corretta temperatura di incubazione.

1. Fissare il numero desiderato di pozzetti di microtitolazione nel telaio di supporto.
2. Pipettare **100 µL** di ogni ***Standard, Control,*** e **campione** nei pozzetti appropriati, utilizzando puntali monouso.
   Per i campioni di urina erogare **100 µ**L dei campioni di urina pretrattati e diluiti (vedere il capitolo 5.2.2 Protocollo per il pretrattamento dei campioni di urina, step 7).
3. Incubare per **30 minuti** a temperatura ambiente
4. Aggiungere **100 µL** di ***Enzyme Conjugate*** in ogni pozzetto.
   Mescolare accuratamente per 10 secondi. In questa fase, è importante che la miscelazione sia completa.
5. Incubare per **60 minuti** a temperatura ambiente.
6. Lavare i pozzetti nel modo seguente:
   Qualora la fase di lavaggio venga eseguita manualmente:
   Agitare energicamente il contenuto dei pozzetti.
   Risciacquare ogni pozzetto **3 volte** con **300 µL** di soluzione di lavaggio diluita.

   Qualora si usi un dispositivo di lavaggio di micropiastre automatizzato:
   Risciacquare ogni pozzetto **3 volte** con **300 µL** di soluzione di lavaggio diluita.

   Al termine della fase di lavaggio, scuotere sempre energicamente i pozzetti su carta assorbente per rimuovere le gocce residue.
7. Pipettare **100 µL** di ***Substrate Solution*** in ogni pozzetto.
8. Incubare per **30 minuti** a temperatura ambiente.
9. Arrestare la reazione enzimatica aggiungendo **50 µL** di ***Stop Solution*** in ogni pozzetto.
10. Misurare la densità ottica (DO) della soluzione in tutti i pozzetti a **450 nm (lettura) e tra 620 e 630 nm (sottrazione del fondo, consigliata)** utilizzando un lettore per piastre per microtitolazione.
    Si consiglia di effettuare la lettura dei pozzetti **entro 10 minuti** dall'aggiunta della soluzione di arresto.

7.3 Calcolo dei risultati

1. La concentrazione dei **campioni di siero / plasma** può essere letta **direttamente** dalla curva standard.
   Per **campioni di urina**, la concentrazione letta dalla curva standard deve essere **moltiplicato** con il **fattore di diluizione 19** (vedi capitolo 5.2.2).
2. Per le misurazioni duplicate, è necessario considerare la media dei due valori di densità ottica (DO) per ogni standard, controllo e campione di paziente Se i due valori si discostano sostanzialmente l'uno dall'altro, DRG raccomanda di ritestare i campioni.
3. I campioni con concentrazioni superiori a quelle dello standard più elevato possono essere ulteriormente diluiti e analizzati nuovamente secondo quanto descritto in "Procedura del test"; in alternativa, devono essere refertati come > 1000 pg/mL. Per il calcolo delle concentrazioni è necessario considerare questo fattore di diluizione.
4. Metodo automatizzato:
   I risultati nelle istruzioni per l'uso sono stati calcolati automaticamente utilizzando un adattamento della curva logistica a quattro parametri (4PL). (I metodi preferiti sono 4PL Rodbard o 4PL Marquardt.) Altre funzioni di riduzione dei dati potrebbero dare risultati leggermente diversi.
5. Metodo manuale:
   Utilizzando carta millimetrata lineare osemilogaritmica, costruire una curva standard tracciando la (media) DO ottenuta da ogni standard contro la rispettiva concentrazione con il valore DO sull'asse verticale (Y) e la concentrazione sull'asse orizzontale (X). Determinare la concentrazione del campione corrispondente dalla curva standard utilizzando il valore OD (medio) per ogni campione.

7.3.1 Esempio di una curva standard tipica

I seguenti dati vengono riportati a scopo esclusivamente dimostrativo e **non possono** sostituire i dati generati al momento di esecuzione del dosaggio.

Standard		**Densità ottica (450 nm)**
Standard 0	(0 pg/mL)	2,040
Standard 1	(20 pg/mL)	1,634
Standard 2	(80 pg/mL)	0,966
Standard 3	(200 pg/mL)	0,516
Standard 4	(500 pg/mL)	0,223
Standard 5	(1000 pg/mL)	0,130

7.4 Calcolo finale per campioni di urina

Calcolare l'escrezione nelle 24 ore per ogni campione di urina: µg/24 h = **µg/L × L/24 h**

Esempio:

Concentrazione per campione di urina letta dalla curva standard = 500 pg/mL

Risultato dopo la correzione con il fattore di diluizione 19 = 9500 pg/mL

9500 pg/mL ⁄ 1000 = 9.5 µg/L

Volume totale di urina in 24 ore = 1,3 L (esempio)

9,5 µg/L × 1,3 L/24 h = **12,35 µg/24 h**

8 VALORI DI RIFERIMENTO

È fortemente consigliato che ogni laboratorio determini i propri valori di riferimento.

8.1 Siero / Plasma

In uno studio condotto con adulti apparentemente sani, usando il DRG Aldosterone ELISA, i seguenti valori sono stati trovati con **campione di plasma EDTA K_3**:

Adulti sani	n	Media (pg/mL)	Mediano (pg/mL)	2,5° - 97,5° percentile (pg/mL)	Intervallo (min. - max.) (pg/mL)
Posizione supina	60	56,14	39,71	14,21 - 156,47	8,58 - 272,30
Posizione eretta	60	77,48	58,00	13,37 - 233,55	12,87 - 358,50

Questi valori sono validi anche per il siero, plasma EDTA K_2, plasma eparinico e plasma citrato (3,2%).

Questi risultati corrispondono bene con il campo di riferimento pubblicato[8,15].

In uno studio condotto con adulti apparentemente sani, usando il DRG Aldosterone ELISA (EIA-5298) e il DRG Renin ELISA (EIA-5125), i seguenti ***quozienti Aldosterone - Renina*** sono stati determinati nel plasma.

Quozienti Aldosterone - Renina (pg/mL / pg/mL)

	n	Media (pg/mL / pg/mL)	Mediano (pg/mL / pg/mL)	2,5° - 97,5° percentile (pg/mL / pg/mL)
Adulti sani (EDTA K_3)	89	8,68	5,30	0,52 - 37,83

Questi valori sono validi anche per il siero, plasma EDTA K_2, plasma eparinico e plasma citrato (3,2%).

Questi risultati corrispondono bene con il campo di riferimento pubblicato[16].

8.2 Urina

In uno studio condotto con **campioni di urina (urine di 24 ore)** di adulti apparentemente normali, usando DRG Aldosterone ELISA, i seguenti valori sono stati ottenuti:

	n	Media (µg/24 h)	Mediano (µg/24 h)	2,5° - 97,5° percentile (µg/24 h)	Intervallo (min. - max.) (µg/24 h)
Adulti sani	8	11,34	9,40	3,31 - 25,09	3,06 - 27,17

Questi risultati corrispondono bene con il campo di riferimento pubblicato [8].

I risultati da soli non dovrebbero essere l'unico motivo per eventuali conseguenze terapeutiche. Correlare i risultati ad altre osservazioni cliniche e test diagnostici.

9 CONTROLLO DI QUALITÀ

Una buona garanzia di qualità in laboratorio richiede che i controlli siano inclusi in ogni curva standard. Un numero statisticamente significativo di controlli dovrebbe essere analizzato per stabilire i valori medi e gli intervalli accettabili per garantire prestazioni adeguate.
Si raccomanda di usare campioni di controllo secondo quanto previsto dalle norme locali o nazionali. Si consiglia di utilizzare campioni di controllo per garantire la validità giornaliera dei risultati. Utilizzare controlli sia a livelli normali che a livelli patologici.
I controlli e i corrispondenti risultati del Laboratorio di controllo qualità sono riportati nel Certificato di Analisi (CoA) inserito nel kit. I valori e gli intervalli indicati sul Certificato di analisi si riferiscono sempre al lotto del kit corrente e devono essere utilizzati per il confronto diretto dei risultati.
Se disponibili, si raccomanda inoltre di partecipare ai programmi nazionali o internazionali della valutazione della qualità per assicurare la precisione dei risultati.
Per analizzare i valori di controllo e gli andamenti, utilizzare metodi statistici appropriati. Se i risultati del dosaggio non si adattano agli intervalli di riferimento stabiliti per i controlli, i risultati dei pazienti non possono essere considerati validi.
In tal caso, verificare le seguenti aree tecniche: Dispositivi di pipettaggio e temporizzazione; fotometro, date di scadenza dei reagenti, condizioni di conservazione e incubazione, metodi di aspirazione e lavaggio.
Dopo aver verificato le voci sopra indicate senza riscontrare alcun errore, contattare il proprio distributore o direttamente DRG.

10 CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I dati relativi a:

10.1 Specificità degli anticorpi (reattività incrociata)

10.2 Capacità di rilevamento

10.3 Ripetibilità e riproducibilità

10.4 Recupero

10.5 Linearità

sono riportati nella versione inglese dettagliata delle istruzioni per l'uso.

11 LIMITI DELLA PROCEDURA

Se si esegue la procedura del dosaggio con una completa comprensione delle istruzioni per l'uso e in conformità con le linee guida per l'assicurazione della qualità del laboratorio, si ottengono risultati affidabili e riproducibili.

Qualsiasi manipolazione impropria dei campioni o modifica di questo test potrebbe influenzare i risultati.

I dati relativi a:

11.1 Sostanze interferenti

11.2 Effetto gancio a dose elevata

11.3 Esattezza (scostamento sistematico)

sono riportati nella versione inglese dettagliata delle istruzioni per l'uso.

12 ASPETTI LEGALI

12.1 Affidabilità dei risultati

Il test deve essere eseguito esattamente secondo quanto previsto dalle istruzioni d'uso del produttore. Inoltre, l'utente deve attenersi rigorosamente alle linee guida di garanzia della qualità del laboratorio e alle standard nazionali e/o leggi in vigore. Questo è particolarmente importante per l'uso dei reagenti di controllo. È importante includere sempre, all'interno della procedura del test, un numero sufficiente di controlli per convalidare l'accuratezza e la precisione del test.

I risultati del test sono validi solo se tutti i controlli sono compresi negli intervalli specificati e se anche tutti gli altri parametri del test rientrano nelle specifiche del dosaggio. In caso di dubbi o preoccupazioni in relazione a un risultato, contattare DRG.

12.2 Conseguenze terapeutiche

Le conseguenze terapeutiche non devono mai basarsi esclusivamente sui risultati di laboratorio, anche qualora tutti i risultati dei test concordino con gli elementi come indicato al punto 11.1. Qualsiasi risultato di laboratorio costituisce solo una parte del quadro clinico complessivo di un paziente.

Si dovrebbero trarre conseguenze terapeutiche solo nei casi in cui i risultati di laboratorio concordino in modo accettabile con il quadro clinico complessivo del paziente.

Il risultato del test, di per sé, non deve mai essere l'unico fattore determinante per una decisione terapeutica.

12.3 Responsabilità legali

Qualsiasi modifica del kit di test e/o scambio o miscela di qualsiasi componente di lotti diversi da un kit di test a un altro potrebbe influenzare negativamente i risultati previsti e la validità del test nel suo complesso. Tali modifiche e/o scambi rendono nulla qualsiasi richiesta di sostituzione.

Anche i reclami presentati a causa di un'errata interpretazione da parte del cliente dei risultati di laboratorio indicati al punto 11.2 non saranno ritenuti validi.

In ogni caso, in caso di reclamo, la responsabilità del produttore non potrà superare il valore del kit di test. Il produttore non sarà responsabile di eventuali danni causati al kit di test durante il trasporto.

12.4 Segnalazione di incidenti gravi

Tutti gli incidenti gravi relativi a questo prodotto devono essere notificati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro di residenza dell'utente e/o del paziente.

1 FINALIDAD PREVISTA

El **DRG Aldosterone ELISA** es un inmunoensayo enzimático manual para realizar diagnósticos **cuantivativos** de aldosterona en suero o plasma humano (EDTA K_2, EDTA K_3, heparina de litio o plasma citrato 3,2 %) o en orina humana.

Para uso diagnóstico *in vitro*. Para uso profesional de laboratorio.

Para obtener más información sobre el uso previsto, consulte la versión en inglés de las instrucciones de uso.

2 REPORTE DE VALIDEZ CIENTÍFICA

Encontrará información al respecto en la versión en inglés detallada de las instrucciones de uso.

3 PRINCIPIO DEL TEST

El DRG Aldosterone ELISA es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en fase sólida basado en el **principio de unión competitiva**.

Los pocillos de microtítulo están recubiertos de un anticuerpo monoclonal (ratón) que tiene como diana una única zona antigénica de la molécula de aldosterona.

Durante la primera incubación, el aldosterona de la muestra añadida compite con el conjugado enzimático añadido, que es el aldosterona conjugado con peroxidasa de rábano para la unión con el anticuerpo recubierto.
Tras un proceso de lavado para eliminar cualquier sustancia sin unir, la fase sólida se incuba con la solución de sustrato.

La reacción colorimétrica se detiene añadiendo una solución de parada, y se realiza una medición de la densidad óptica (DO) del producto amarillo resultante.

La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración del analito en la muestra.

Se crea una curva estándar cotejando los valores de DO con las concentraciones de estándares, y las concentraciones de las muestras desconocidas se determinan usando esta curva estándar.

4 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este kit es exclusivo para diagnóstico in vitro. Para uso profesional exclusivo de laboratorio.
- Antes de iniciar el ensayo, lea todas las instrucciones de uso detenidamente. Utilice la versión en vigor de las instrucciones de uso suministradas junto con el kit. Asegúrese de que todo está claro.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con números de lote distintos. No es aconsejable intercambiar pocillos de placas diferentes, aun cuando pertenezcan al mismo lote. Puede que los kits se hayan enviado o almacenado en unas condiciones distintas y existe la posibilidad de que las características de unión de las placas sean ligeramente diferentes.
- No use los reactivos una vez superada la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del kit.
- No reutilice los pocillos de microtítulo.
- No use reactivos de otros fabricantes junto con los reactivos de este kit de prueba.
- Todos los reactivos incluidos en este kit son líquidos transparentes. La solución de sustrato es transparente e incolora. Cualquier cambio en su apariencia podría afectar al rendimiento de la prueba. Si así es, póngase en contacto con DRG.
- Una contaminación microbiana de los reactivos o de las muestras podría arrojar resultados falsos.
- Antes de iniciar la prueba, deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 20 °C y 26 °C). La temperatura afectará a las lecturas de densidad óptica del ensayo.
- Todos los volúmenes indicados se deben respetar siguiendo el protocolo. Solo se obtendrán unos resultados de prueba óptimos si se usan pipetas calibradas y lectores de placas de microtítulo.
- Utilice depósitos solo con reactivos únicos. Esto es especialmente cierto en el caso de los depósitos de sustratos. Si se usa un depósito para dispensar una solución de sustrato que ya se usó previamente con la solución de conjugado, la solución podría acabar tiznada. No vierta reactivo de nuevo a su vial original, ya que podría producirse una contaminación del reactivo.

Precauciones generals

- Siga las directrices de garantía de calidad y seguridad en el laboratorio.
- No pipetee nunca con la boca y evite el contacto con los reactivos y las muestras con la piel y las membranas mucosas.
- No fume, coma, beba ni aplique sustancias cosméticas en las áreas de manipulación de muestras o reactivos del kit.
- Utilice batas de laboratorio y guantes de látex desechables al manipular reactivos y, si fuera necesario, gafas protectoras también.

Información de riesgo biológico

- Todos los reactivos de este kit de prueba que contienen plasma o suero humano se han analizado y se ha confirmado su negativo en HIV I/II, HBsAg y HCV mediante procedimientos aprobados de la FDA. Pese a ello, no existe ningún método de prueba conocido que ofrezca garantía total de no presencia de agentes infecciosos.
- El producto contiene materia de origen animal certificado como aparentemente libre de enfermedades contagiosas o infecciosas y parásitos nocivos.
- Los componentes bovinos proceden de países en los que no se han notificado casos de EEB (encefalopatía espongiforme bovina).
- Todas las materias y muestras de origen humano o animal deben tratarse como si existiera la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas.
- La manipulación de material debe realizarse siguiendo los procedimientos establecidos según la normativa o instrucción de seguridad y riesgo biológico nacional pertinente. Los residuos deben desecharse respetando las normativas o regulaciones locales correspondientes.

Información sobre riesgos químicos y la clasificación de riesgos

- Algunos reactivos contienen conservantes con niveles de concentración no declarables. Aún así, en caso de contacto con los ojos o la piel, enjuague de inmediato con agua.

- La solución de sustrato contiene un ingrediente con niveles de concentración no declarables que puede provocar irritaciones de los ojos graves. En caso de posible contacto con los ojos, enjuáguelos concienzudamente de inmediato con agua o con algún colirio. Tras un contacto con la piel, lave con abundante agua. Quítese la ropa contaminada y lávela antes de volver a utilizarla.
- Evite el contacto con una solución de parada que contenga < 5 % H_2SO_4. Puede provocar irritación cutánea o quemaduras.
- Los componentes químicos y los reactivos preparados o usados se deben tratar como desecho peligroso siguiendo la normativa o instrucción de seguridad nacional pertinente.
- Este producto no contiene sustancias con propiedades carcinogénicas, mutagénicas o tóxicas para la reproducción (CMR).

Los **siguientes componentes** del kit están clasificados como peligrosos: Enzyme Conjugate; Standard 0-5; Control low & Control high; Wash Solution

Atención	**Indicación de peligro:** H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel. EUH071 - Corrosivo para las vías respiratorias.
	Consejos de prudencia P261 - Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P280 - Llevar guantes de protección P333 + P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P362 + 364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una instalación de eliminación de residuos autorizada

Para obtener información detallada, consulte la ficha de datos de seguridad, que puede solicitar directamente a DRG.

5 MATERIALES

5.1 Materiales suministrados con el kit

Símbolo	Cantidad	Descripción	Preparación
Microtiterwells	12 x 8 pocillos (por separado)	**Placa de microtítulo** Recubierta de anticuerpo de anti-aldosterona (monoclonal).	Listo para usar
Standard (Standard 0 - 5)	6 x 1.0 mL	**Estándares *** Concentraciones: 0 – 20 – 80 – 200 – 500 – 1000 pg/mL Conversión: 1 pg/mL = 2.77 pmol/L *Calibrado con el siguiente material de referencia:* *Certified reference material Cerilliant A-096*	Liofilizado; *Ver «Preparación de los reactivos».*
Control Low & Control High	2 x 1.0 mL	**Controles** * *Para obtener los intervalos y valores de control, consulte la etiqueta del vial o el certificado de análisis (CoA).*	Liofilizado; *Ver «Preparación de los reactivos».*
Enzyme Conjugate	1 x 14 mL	**Conjugado enzimático *** aldosterona conjugado con peroxidasa de rábano; Coloreado en rojo.	Listo para usar
Substrate Solution	1 x 14 mL	**Solución de sustrato** Contiene 3,3‘,5,5‘-tetrametilbenzidina (TMB). *Mantener lejos de la luz solar directa.*	Listo para usar
Stop Solution	1 x 14 mL	**Solución de parada** Contiene < 5 % H_2SO_4. *Evite el contacto con la solución de parada. Puede provocar irritación cutánea o quemaduras.*	Listo para usar
Wash Solution	1 x 30 mL	**Solución de lavado, Concentrado 40X ***	*Ver «Preparación de los reactivos».*
	1 x	**Instrucciones de uso (IFU)**	
	1 x	**Certificado de análisis (CoA)**	

* Contiene 0,0108% CMIT/ MIT (3:1)

Abreviaturas:
CMIT: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona
MIT: 2-metilisotiazol-3(2H)-ona

5.2 Materiales necesarios no suministrados

- Un lector de placas de microtítulo calibrado (450 nm, con una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 630 nm)
- Micropipetas de precisión variable calibradas
- Equipamiento manual o automático para lavar los pocillos de placa de microtítulo
- Papel absorbente
- Agua destilada
- Cronómetro
- Papel cuadriculado o software para la reducción de datos

– **Opcional:** Reactivos para la determinación de **Aldosterona en urina** (REF EIA-5298-URIN) **– Contenido:**
  1) ***Release Reagent*** (Reactivo de liberación), 1 vial, 3 mL, listo para usar. Contiene HCl 1M.
     Evitar el contacto con el reactivo de liberación. Puede ocasionar irritación en la piel.
  2) ***Neutralization Buffer*** (Tampón de neutralización), 1 vial, 3 mL, listo para usar.
     Contiene tampón Tris, pH 8,5.
  3) ***Dilution Buffer*** (Tampón de dilución), 2 viales, 25 mL cada uno, listo para usar. Contiene PBS.
– Opcional: Tubos de plástico (e.g. 0,5 - 1,5 mL) para el pretratamiento de muestras de orina

5.3 Almacenamiento y estabilidad del kit

Los reactivos y kits sin abrir, así como **los reactivos abiertos**, se deben almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

La microplaca siempre debe almacenarse en la bolsa de aluminio con cierre que contiene desecante. No abra la bolsa hasta que alcance la temperatura ambiente. La placa de microtítulo consta de 12 tiras individuales. Cada tira está dividida en 8 pocillos individuales. Los pocillos sin utilizar deben volverse a colocar inmediatamente en la bolsa de aluminio con el desecante y almacenarse de nuevo bien cerrados a 2 °C y 8 °C.

Una vez abiertos, los viales de reactivo se deben volver a cerrar herméticamente.

	Temperatura de almacenamiento	**Estabilidad**
Kit y reactivos sin abrir	2 °C a 8 °C	Hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta impresa. No use los reactivos una vez superada esta fecha.
Kit abierto	2 °C a 8 °C	8 semanas (Respecto a los reactivos reconstituidos, consulte el apartado «4.4 Preparación de los reactivos»).

5.4 Preparación de los reactivos

Antes de usarlos, espere a que todos los reactivos y la cantidad de bandas necesaria estén a temperatura ambiente (20 °C a 26 °C).

Estándares

Reconstituya el contenido liofilizado de cada vial de estándar con 1.0 mL de agua destilada y déjelo estar al menos durante 10 minutos a temperatura ambiente. Mezcle varias veces antes de su uso.

Estabilidad tras la reconstitución:	entre 2 °C y 8 °C	8 semanas
	a -20 °C (en alícuotas)	12 meses

Controles

Reconstituya el contenido liofilizado de cada vial de control con 1.0 mL de agua destilada y déjelo estar al menos durante 10 minutos a temperatura ambiente. Mezcle varias veces antes de su uso.

Estabilidad tras la reconstitución:	entre 2 °C y 8 °C	8 semanas
	a -20 °C (en alícuotas)	12 meses

Solución de lavado

Añada agua destilada a la solución de lavado concentrada a 40X (*Wash Solution*).

Diluya 30 mL de solución de lavado concentrada con 1170 mL de agua destilada hasta llegar a un volumen final de 1200 mL.

Estabilidad tras la dilución:	entre 20 °C y 26 °C	1 semana

5.5 Eliminación del kit

El kit y todo los materiales/reactivos usados deberán desecharse siguiendo la regulación nacional correspondiente. En el apartado 13 de la ficha de datos de seguridad encontrará información general relativa a este producto.

5.6 Kits de prueba dañados

En caso de que el kit de prueba o alguno de sus componentes estén dañados, se deberá comunicar a DRG por escrito como máximo una semana después de la recepción del kit. Los componentes dañados no deben usarse en ninguna serie de prueba. Deberán guardarse hasta que el asunto se resuelva. Tras ello, deberán desecharse siguiendo la regulación oficial en vigor.

6 TOMA DE LA MUESTRA, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN

En este ensayo pueden ser usados los tipos de muestra detallados a continaución:

Suero o plasma humano (plasma con EDTA K_2, EDTA K_3, con heparina de litio o con citrato 3,2 %) y **urina**

En el ensayo no deben usarse muestras que contengan azida de sodio.

En términos generales, absténgase de usar muestras hemolíticas, lipémicas o con ictericia. Para obtener más información, consulte el capítulo «*Sustancias interferentes*».

6.1 Muestras de suero/ plasma

6.1.1 Toma de muestras

Suero: Extraiga sangre mediante venipuntura (p. ej., Sarstedt Monovette para suero), deje que coagule y separe el suero mediante centrifugado a temperatura ambiente. No centrifugue hasta que la coagulación se realice por completo. Puede que las muestras de los pacientes sometidos a terapia anticoagulante necesiten más tiempo para coagularse.

Plasma: Se debe extraer sangre total en tubos de centrifugado que contengan anticoagulante (p. ej., Sarstedt Monovette con la preparación de plasma que corresponda) y centrifugarse inmediatamente después de haberse extraído.

La sangre total no debe congelarse antes del centrifugado.

Estabilidad de la sangre total	entre 20 °C y 26 °C	4 días

6.1.2 Almacenamiento de muestras

Las muestras deben almacenarse cerradas herméticamente antes de realizar el ensayo. Si se van a almacenar congeladas, se pueden congelar solo una vez. Las muestras descongeladas se deben invertir varias veces antes de analizarlas.

Estabilidad	entre 2 °C y 8 °C	5 días
	a -20 °C (en alícuotas)	12 meses

6.1.3 Preparación de las muestras

Las muestras se pueden analizar sin ninguna preparación adicional.

6.1.4 Dilución de las muestras

Si en un ensayo inicial, se encuentra una muestra que presenta valores mayores que el estándar mas concentrado, ha de diluirse con *Standard 0* y volver a ensayarse como se describe en el Procedimiento de Ensayo.

Para el cálculo de las concentraciones habrá que tener en cuenta el factor de dilución.

Ejemplo: dilución 1:10: 10 µL muestra + 90 µL *Standard 0; Mezcle bien*.

6.2 Muestras de orina

La concentración de aldosterona se puede determinar también a partir de muestras de orina. Sin embargo, las muestras de orina tienen que ser pretratadas antes del análisis. Esto significaría usar reactivos que no están incluidos en este kit, pero que pueden ser encargados por separado (REF EIA-5298-URIN).

6.2.1 Toma de muestras de orina

Primero, lavar la zona genital con un desinfectante moderado para prevenir la contaminación. Después recoger directamente en un recipiente esterilizado la orina a la mitad de la micción.

Dado que la secreción de aldosterona sigue un ritmo circadiano, se recomienda una recogida de orina en un recipiente especial refrigerado durante un periodo completo de 24 horas (orina de 24 horas).

Inmediatamente tras la colecta, la orina tiene que ser centrifugada de 5 a 10 minutos (e.g. a 2000 g) para eliminar los deshechos celulares. Usar sobrenadante para la cuantificación de analitos.

6.2.2 Almacenamiento de muestras de orina

Las muestras (sobrenadante de orina) deben almacenarse cerradas herméticamente antes de realizar el ensayo. Si se van a almacenar congeladas, se pueden congelar solo una vez. Las muestras descongeladas se deben invertir varias veces antes de analizarlas.

Estabilidad del sobrenadante de orina	entre 2 °C y 8 °C	7 días
	a -20 °C (en alícuotas)	7 días

6.2.3 Protocolo para el pretratamiento de muestras de orina

1. Asegurarse del número deseado de viales (e.g. tubos de plástico de 0,5 a 1,5 mL; no incluidos en este kit).
2. Dispensar **25 µL** de **orina** con puntas desechables nuevas en los tubos apropiados.
3. Dispensar **25 µL *Release Reagent*** (reactivo de liberación) en cada tubo.
   Mezclar completamente durante 10 segundos. En este paso es importante conseguir un mezclado completo.
4. Inbubar durante la noche de 2 °C a 8 °C.
5. Añadir **25 µL *Neutralization Reagent*** (reactivo de neutralización) en cada tubo y mezclar exhaustivamente.
6. Añadir **400 µL *Dilution Buffer*** (tampón de dilución) en cada tubo y mezclar exhaustivamente
   (Este pretratamiento da lugar a una dilución de 1:19. Por ello el factor de dilución 19 tiene que ser tomado en cuenta para calcular la concentración final de la muestra de orina.)
7. Transferir **100 µL de las muestras de orina pretratadas y diluidas** directamente al pocillo de la microplaca y continúe con el paso 3 del procedimiento del test (Capítulo 6.2).

6.2.4 Almacenamiento de las muestras de orina pretratadas y diluidas

Las muestras (sobrenadante de orina) deben almacenarse cerradas herméticamente antes de realizar el ensayo. Si se van a almacenar congeladas, se pueden congelar solo una vez. Las muestras descongeladas se deben invertir varias veces antes de analizarlas.

Estabilidad de las muestras de orina pretratadas y diluidas	entre 2 °C y 8 °C	7 días
	a -20 °C (en alícuotas)	7 días

6.2.5 Dilución de la muestra de urina

Si en un ensayo inicial se encuentra una muestra de orina que continene más que el mayor estándard, la muestra de orina pretratada y diluida puede diluirse otra vez con *Dilution Buffer* (tampón de dilución) y nuevamente analizada según la descripción del procedimiento del ensayo.
Para calcular las concentraciones este factor de dilución también tiene que ser tenido en cuenta.

Ejemplo: dilución 1:10: 10 µL de muestra de orina pretratada y diluida + 90 µL *Dilution Buffer* (mezclar exhaustivamente)
(factor de dilución final = 19 x 10 = 190)

7 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

7.1 Notas sobre el procedimiento

- Todos los reactivos y muestras deben estar a temperatura ambiente (entre 20 °C y 26 °C) antes de usarlos.
- Todos los reactivos deben mezclarse sin que generen espuma.
- No intercambie los tapones de los viales de reactivo para evitar posibles contaminaciones cruzadas.
- Use puntas de pipeta de plástico desechables nuevas con cada estándar, control o muestra para evitar posibles contaminaciones por arrastre.
- Para evitar posibles contaminaciones cruzadas y resultados engañosamente elevados, pipetee las muestras de paciente y dispense conjugado sin salpicar de forma minuciosa en el fondo de los pocillos.
- Mezcle bien el contenido de los pocillos de la placa de microtítulo para procurar que los resultados de la prueba sean correctos.
- No deje que los pocillos se sequen durante el ensayo; añada reactivo inmediatamente una vez acabados los pasos de enjuagado.
- Una vez iniciada la prueba, todos los pasos se deben completar de forma ininterrumpida y en la misma secuencia de cada paso.
- La reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y la temperatura.
- La densidad óptica es una función del tiempo y la temperatura de incubación. Es importante respetar los tiempos y las temperaturas de incubación que se indican en el capítulo «Procedimiento de la prueba».
- Antes de iniciar el ensayo, se recomienda tener todos los reactivos listos, los tapones quitados, todos los pocillos necesarios fijados en el soporte, etc. De este modo, se asegurará de que el tiempo que va a transcurrir en cada paso de pipeteo es el mismo y sin interrupción alguna.
- **Nota importante sobre el procedimiento de lavado:**
  El lavado es tremendamente importante. Con unos pocillos mal lavados se obtendrán resultados engañosos. La sensibilidad y la precisión de este ensayo dependen enormemente de un correcto rendimiento del procedimiento de lavado.
- **Rendimiento de pruebas mediante aparatos de análisis completamente automáticos:**
  Se puede obtener un rendimiento de pruebas automático usando aparatos de análisis de sistema abierto y completamente automáticos. Sin embargo, la combinación debe estar validada por el usuario.

7.2 Procedimiento de la prueba

Cada serie debe incluir una curva estándar.

Los controles actúan como controles internos de la fiabilidad del procedimiento del test. Se deben analizar en cada serie de prueba.

El procedimiento de prueba aquí indicado describe un procesamiento manual.

Nota importante: La precisión de este ensayo depende enormemente de que haya **una temperatura de incubación correcta**.

1. Fije la cantidad de pocillos de microtítulo que desee en el soporte del bastidor.
2. Pipetee **100 µL** de cada ***Standard***, cada ***Control*** y cada **muestra** con puntas nuevas desechables en los pocillos correspondientes.
   Para las muestras de orina, dispensar **100 µ**L de las muestras previamente tratadas y diluidas (véase el capítulo 5.2.2 Protocolo para el pretratamiento de la muestra de orina, paso 7).
3. Incube durante **30 minutos** a temperatura ambiente.
4. Añada **100 µL** de ***Enzyme Conjugate*** en cada pocillo.
   Mezcle bien durante 10 segundos. En este paso es importante que todo quede bien mezclado.
5. Incube durante **60 minutos** a temperatura ambiente.
6. Lave los pocillos del siguiente modo:
   Si el paso de lavado se efectúa manualmente:
   Agite enérgicamente el contenido de los pocillos.
   Enjuague los pocillos **3 veces** con **300 µL** de solución de lavado diluida por pocillo.

   Si se usa un aparato de lavado automático de placas:
   Enjuague los pocillos **3 veces** con **300 µL** de solución de lavado diluida por pocillo.

   Al término de cada paso de lavado, frote bien los pocillos con papel absorbente para eliminar las gotas residuales!
7. Pipetee **100 µL** de ***Substrate Solution*** en cada pocillo.
8. Incube durante **30 minutos** a temperatura ambiente.
9. Detenga la reacción enzimática añadiendo **50 µL** de ***Stop Solution*** a cada pocillo.
10. Mida la densidad óptica (DO) de la solución a **450 nm (lectura) y entre 620 nm y 630 nm (reducción del fondo, recomendada)** con un lector de placas de microtítulo. Se recomienda realizar la lectura de los pocillos **en los 10 minutos** siguientes a la incorporación de la solución de parada.

7.3 Cálculo de los resultados

1. La concentración de las **muestras de suero/ plasma** se puede leer directamente de la curva estándar.
   Para **muestras de orina**, la concentración leída de la curva estándard, tiene que ser **multiplicada** con el **factor de dilución 19** (ver capítulo 5.2.2).
2. Para determinar los duplicados, se debe hacer la media de los dos valores de densidad óptica (DO) de cada estándar, cada control y cada muestra de paciente. Si estos dos valores se desvían considerablemente el uno de otro, DRG recomienda volver a analizar las muestras.
3. Las muestras con concentraciones por encima del estándar más alto se pueden seguir diluyendo y volver a analizarse según se describe en «Procedimiento de la prueba », o bien comunicarse como > 1000 pg/mL.
   En el cálculo de las concentraciones se debe tener en cuenta este factor de dilución.
4. Método automático:
   Los resultados de estas instrucciones de uso se han calculado automáticamente mediante un ajuste de curva de una función logística de cuatro parámetros (4PL). (Los métodos de preferencia son 4PL Rodbard o 4PL Marquardt.) Otras funciones de reducción de datos podrían arrojar resultados ligeramente distintos.
5. Método manual:
   Usando un papel cuadriculado lineal o semilogarítmico, construya una curva estándar trazando el valor medio de densidad óptica obtenido de cada estándar en comparación con su concentración con un valor de densidad óptica en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X). Determine la concentración de muestra correspondiente de la curva estándar usando el valor medio de densidad óptica de cada muestra.

7.3.1 Ejemplo de curva estándar típica

Los siguientes datos se proporcionan únicamente a título ilustrativo y **no** se pueden usar como reemplazo de las generaciones de datos en el momento de realizar el ensayo.

Estándares		**Densidad óptica (450 nm)**
Standard 0	(0 pg/mL)	2,040
Standard 1	(20 pg/mL)	1,634
Standard 2	(80 pg/mL)	0,966
Standard 3	(200 pg/mL)	0,516
Standard 4	(500 pg/mL)	0,223
Standard 5	(1000 pg/mL)	0,130
Standard 0	(0 pg/mL)	2,040

7.4 Cálculo final para muestras de orina

Calcular las 24 horas de excreción para cada muestra de orina: µg/24 h = **µg/L × L/24 h**

Por ejemplo:

Concentración de muestra de orina leída de la curva estándard = 500 pg/mL

Resultado después de la corrección con el factor de dilución 19 = 9500 pg/mL

9500 pg/mL ⁄1000 = 9,5 µg/L

Volumen total de orina en 24 h = 1,3 L (ejemplo)

9,5 µg/L × 1,3 L/24 h = **12,35 µg/24 h**

8 VALORES DE REFERENCIA

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.
Encontrará información sobre valores de referencia en la versión en inglés detallada de las instrucciones de uso.

9 CONTROL DE CALIDAD

Una buena garantía de calidad en el laboratorio requiere el uso de controles con cada curva estándar. Es conveniente analizar una cantidad de controles estadísticamente significativa para poder establecer unos valores de media y unos intervalos aceptables que favorezcan un rendimiento adecuado.
Se recomienda usar las muestras de control según las regulaciones estatales y federales. El uso de muestras de control es aconsejable para garantizar la validez de los resultados cada día. Use controles en niveles tanto normales como patológicos.
Los controles y los resultados correspondientes del laboratorio de control de calidad figuran en el certificado de cnálisis (CoA) incluido con el kit. Los valores e intervalos reflejados en un CoA siempre se corresponden con el lote de kit actual, y deben usarse para cotejar los resultados de forma directa.
Si los hay, también es recomendable participar en programas de control de calidad nacionales o internacionales para garantizar la precisión de los resultados.
Emplee unos métodos estadísticos adecuados para analizar las tendencias y los valores de control. Si los resultados del ensayo no coinciden con los intervalos aceptables establecidos del material de control, los resultados de paciente deben considerarse como no válidos.
En tal caso, compruebe las siguientes cuestiones técnicas: Aparatos de pipeteo y temporizadores; fotómetro, fechas de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado.
Si, una vez comprobadas todas estas cuestiones, sigue sin encontrar errores, póngase en contacto su distribuidor o directamente con DRG.

10 CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Encontrará información sobre lo siguiente:

10.1 Especificad de los anticuerpos (reactividad cruzada)

10.2 Capacidad de detección

10.3 Repetibilidad y reproducibilidad

10.4 Recuperación

10.5 Linealidad

en la versión en inglés detallada de las instrucciones de uso.

11 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Se obtendrán unos resultados fiables y reproducibles si el procedimiento de ensayo se lleva a cabo habiendo comprendido completamente las instrucciones de uso y observando las directrices de garantía de calidad del laboratorio.

Manipular las muestras de forma indebida o alterar esta prueba podría influir en los resultados.

Encontrará información sobre lo siguiente:

11.1 Sustancias interferentes

11.2 Efecto gancho en concentraciones elevadas

11.3 Autenticidad (desviación)

en la versión en inglés detallada de las instrucciones de uso.

12 CUESTIONES LEGALES

12.1 Fiabilidad de los resultados

La prueba se debe realizar siguiendo exactamente las instrucciones de uso del fabricante. Es más, el usuario debe cumplir estrictamente las directrices de garantía de calidad del laboratorio y las normas y/o legislaciones nacionales aplicables. Esto es especialmente relevante al usar reactivos de control. Es importante incluir siempre en el procedimiento de la prueba una cantidad suficiente de controles que validen la precisión de la prueba.

Los resultados de la prueba serán válidos únicamente si todos los controles están dentro de los intervalos especificados y si todos los demás parámetros de la prueba están dentro también de las especificaciones del ensayo pertinentes. Si existe alguna duda o reparo en relación con un resultado, póngase en contacto con DRG.

12.2 Aplicación de terapias

La aplicación de una terapia no debe estar justificada únicamente por los resultados de laboratorio, aun cuando todos los resultados de la prueba coincidan con lo establecido en el punto 11.1. Un resultado de laboratorio es solo una parte del cuadro clínico total de un paciente.

La aplicación de una terapia solo estará justificada en aquellos casos en los que los resultados de laboratorio coincidan con el cuadro clínico general del paciente.

El resultado de la prueba en sí no debe tomarse como único factor determinante de la aplicación de una terapia.

12.3 Responsabilidad

Cualquier alteración del kit de prueba y/o intercambio o mezcla de componentes de lotes distintos entre un kit de prueba y otro podría afectar negativamente a los resultados previstos y a la validez de la prueba en general. Tal alteración o intercambio invalidará cualquier reclamación de sustitución.

Tampoco serán válidas las reclamaciones enviadas con motivo de una mala interpretación por parte del cliente de los resultados de laboratorio según el punto 11.2. Con independencia de todo esto, en caso de reclamación, la responsabilidad del fabricante no superará el valor del kit de prueba. Cualquier daño causado al kit de prueba durante su transporte quedará fuera de la responsabilidad del fabricante.

12.4 Información de incidentes graves

Cualquier incidente grave relacionado con el producto deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que estén establecidos el usuario y/o el paciente.

1 DESTINATION DU DISPOSITIF

Le **DRG Aldosterone ELISA** est un dosage immunoenzymatique manuel pour la mesure **quantitative** de l'aldostérone dans le sérum ou le plasma humain (plasma EDTA K_2, EDTA K_3, plasma avec héparine de lithium ou plasma citrate 3,2 %) ou dans l'urine humaine.

Destiné à une utilisation de diagnostic in vitro. Destiné à un usage professionnel en laboratoire.

Pour de plus amples informations sur l'usage prévu, veuillez vous reporter à la version anglaise du mode d'emploi.

2 RAPPORT SUR LA VALIDITÉ SCIENTIFIQUE

Vous trouverez des informations à ce sujet dans la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

3 PRINCIPE DU TEST

Le DRG Aldosterone ELISA est un dosage d'immunoabsorption par enzyme (ELISA) en phase solide reposant sur **le principe de la liaison compétitive**.

Les puits de microtitration sont recouverts d'un anticorps monoclonal (souris) dirigé vers un site antigénique unique de la molécule de l'aldostérone.

Lors de la première incubation, l'aldostérone dans l'échantillon ajouté fait concurrence au conjugué enzymatique ajouté, à savoir le l'aldostérone conjugué à de la peroxydase de raifort, pour la liaison avec l'anticorps du revêtement.

Après une étape de lavage pour éliminer toutes les substances non liées, la phase solide est incubée avec la solution de substrat. La réaction colorimétrique est arrêtée par l'ajout d'une solution d'arrêt, et la densité optique (DO) du produit jaune résultant est mesurée. L'intensité de couleur est inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte dans l'échantillon.

Une courbe standard est construite en traçant les valeurs de DO en fonction des concentrations des standards, et les concentrations des échantillons inconnus sont déterminées en utilisant cette courbe standard.

4 AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

- Ce kit est destiné exclusivement à une utilisation *in vitro*.. Destiné uniquement à un usage professionnel en laboratoire.
- Lire attentivement toutes les instructions avant de commencer le dosage. Utiliser la version valide de la notice d'utilisation fournie avec la trousse. S'assurer que tout a bien été compris.
- Ne pas mélanger les composants des trousses et ne pas utiliser de composants de trousses portant des numéros de lot différents. Il est recommandé de ne pas intervertir les puits de différentes plaques, même s'ils appartiennent au même lot. Les trousses ont peut-être été expédiés ou conservés dans des conditions différentes et les caractéristiques de liaison des plaques peuvent légèrement différer.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date d'expiration indiquée sur les étiquettes de la trousse.
- Ne pas réutiliser les puits de microtitration.
- Les réactifs d'autres fabricants ne doivent pas être utilisés avec les réactifs de cette trousse de test.
- Tous les réactifs de cette trousse sont des liquides clairs, la solution de substrat est claire et incolore. Des variations dans son apparence peuvent affecter la performance du test. Dans un tel cas, contactez DRG.
- La contamination microbienne des réactifs ou des échantillons peut entraîner des résultats erronés.
- Laisser les réactifs atteindre la température ambiante (20 °C à 26 °C) avant de commencer le test. La température affecte la lecture de la densité optique du test.
- Tous les volumes indiqués doivent être réalisés conformément au protocole. Des résultats de tests optimaux ne sont possibles qu'avec des pipettes et des lecteurs de microplaques calibrés.
- N'utilisez les réservoirs que pour des réactifs uniques. Ceci s'applique particulièrement aux réservoirs de substrat. L'utilisation d'un réservoir pour distribuer une solution de substrat qui avait été précédemment utilisé pour la solution de conjugué peut colorer la solution. Ne pas reverser les réactifs dans les flacons d'origine, car cela pourrait contaminer les réactifs.

Précautions générales

- Suivre les directives relatives à l'assurance qualité et à la sécurité au laboratoire.
- Ne jamais les pipeter à la bouche et éviter tout contact des réactifs et des échantillons avec la peau ou les muqueuses.
- Ne pas fumer, boire, manger ni utiliser des cosmétiques dans les zones de manipulation des échantillons ou de réactifs de la trousse.
- Porter des blouses de laboratoire et des gants en latex jetables lors de la manipulation des échantillons et des réactifs et, si nécessaire, des lunettes de sécurité.

Informations sur les risques biologiques

- Tous les réactifs de cette trousse de test contenant du sérum ou du plasma humain ont été testés et confirmés négatifs pour le VIH I/II, le HBsAg et le VHC par les procédures approuvées par la FDA. Cependant, aucune méthode d'essai connue ne peut offrir une garantie totale qu'aucun agent infectieux n'est présent.
- Le dispositif contient des matières d'origine animale, qui sont certifiées apparemment exemptes de maladies infectieuses ou contagieuses et de parasites nuisibles.
- Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB (encéphalopathie spongiforme bovine) n'a pas été signalée.
- Tous les matériaux et échantillons d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme susceptibles de transmettre des maladies infectieuses.
- La manipulation doit être conforme aux procédures définies par les directives ou règlements nationaux concernant la sécurité et les déchets à risque biologique. Les déchets doivent être mis au rebut conformément aux règles et réglementations locales.

Informations sur les risques chimiques et classification des risques

- Certains réactifs contiennent des agents de conservation à des concentrations non soumises à une obligation de déclaration. Toutefois, en cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement à l'eau.
- La solution de substrat contient un ingrédient à des concentrations non soumises à une obligation de déclaration, qui provoque une grave irritation des yeux. En cas de contact possible avec les yeux, rincer immédiatement et soigneusement au moyen d'une douche oculaire ou à l'eau. En cas de contact avec la peau, rincer abondamment à l'eau. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant de les porter de nouveau.

- Éviter le contact avec la solution d'arrêt, qui contient < 5 % de H_2SO_4. Elle pourrait provoquer une irritation de la peau et des brûlures.
- Les produits chimiques et les réactifs préparés ou utilisés doivent être considérés comme des déchets dangereux conformément à la réglementation ou aux directives de sécurité nationales.
- Ce produit ne contient pas de substances ayant des propriétés cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR).

Les composants suivants de la trousse sont classés comme dangereux: Enzyme Conjugate ; Standard 0-5 ; Control low & Control high ; Wash Solution

Attention	**Mention de danger :** H317 - Peut provoquer une allergie cutanée. EUH071 - Corrosif pour les voies respiratoires.
	Conseil de prudence : P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/ brouillards/vapeurs/aérosols. P280 - Porter des gants de protection P333 + P313 - En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. P362 + 364 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée

Pour des informations détaillées, veuillez consulter la fiche de données de sécurité, disponible sur demande directement auprès de DRG.

5 MATÉRIAUX

5.1 Matériaux fournis avec la kit

Symbole	Quantité	Description	Préparation
Microtiterwells	12 x 8 puits (divisibles)	**Microplaque** Recouvert d'un anticorps anti-aldostérone (monoclonal).	Prêt à l'emploi
Standard (Standard 0 - 5)	6 x 1.0 mL	**Standards *** Concentrations: 0 – 20 – 80 – 200 – 500 – 1000 pg/mL Conversion: 1 pg/mL = 2.77 pmol/L *Calibré par rapport au matériau de référence suivant:* *Certified reference material Cerilliant A-096*	Lyophilisés; *Voir « Préparation des réactifs ».*
Control Low & Control High	2 x 1.0 mL	**Contrôles** * *Pour les valeurs de contrôle et les plages de valeurs, veuillez vous référer à l'étiquette du flacon ou au certificat d'analyse (CoA).*	Lyophilisés; *Voir « Préparation des réactifs ».*
Enzyme Conjugate	1 x 14 mL	**Conjugué enzymatique *** aldostérone conjugué à de la peroxydase de raifort. Coloré en rouge.	Prêt à l'emploi
Substrate Solution	1 x 14 mL	**Solution de substrat** Contient du 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB). *Tenir à l'écart de la lumière directe du soleil.*	Prêt à l'emploi
Stop Solution	1 x 14 mL	**Solution d'arrêt** Contient < 5 % de H_2SO_4. *Eviter les contacts avec la solution stop. Cela pourrait engendrer des irritations ou brûlures de la peau.*	Prêt à l'emploi
Wash Solution	1 x 30 mL	**Solution de lavage, concentré 40X***	*Voir « Préparation des réactifs ».*
	1 x	**Notice d'utilisation (IFU)**	
	1 x	**Certificat d'analyse (CoA)**	

* Contient 0,0108 % CMIT/ MIT (3:1).

Abréviations :
CMIT : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one
MIT : 2-méthylisothiazol-3(2H)-one

5.2 Matériel nécessaire mais non fourni

- Un lecteur de microplaques calibré (450 nm, avec une longueur d'onde de référence de 620 nm à 630 nm)
- Micropipettes calibrées à précision variable
- Équipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits de microplaques
- Papier absorbant
- Eau distillée
- Minuterie
- Papier graphique ou logiciel pour la réduction des données
- **En option :** Réactifs pour la détermination **de l'aldostérone dans l'urine** (REF EIA-5298-URIN)
  Contenu :
  1) ***Release Reagent*** (Réactif de libération), 1 x 3 mL, prêt à l'emploi. Contient 1 M HCl.
     Évitez tout contact avec le réactif de libération. Il peut provoquer une irritation de la peau.
  2) ***Neutralization Buffer*** (Tampon de neutralisation), 1 x 3 mL, prêt à l'emploi. Contient du tampon Tris, pH 8,5.
  3) ***Dilution Buffer*** (Tampon de dilution), 2 x 25 mL, prêts à l'emploi. Contient du PBS.
- En option : Tubes en plastique (par exemple 0,5 - 1,5 mL) pour le prétraitement des échantillons d'urine.

5.3 Stockage et stabilité du kit

Les kits et réactifs non ouverts ainsi que **les réactifs ouverts** doivent être conservés à une température entre 2 °C et 8 °C.

La microplaque doit toujours être conservée dans une poche en aluminium scellée contenant un absorbeur d'humidité. Ne pas ouvrir la poche avant qu'elle n'ait atteint la température ambiante. La microplaque est composée de 12 bandes individuelles. Chaque bande peut être divisée en 8 puits individuels. Les puits non utilisés doivent être immédiatement replacés dans la poche en aluminium contenant l'absorbeur d'humidité, scellés hermétiquement et conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C.

Une fois ouverts, les flacons de réactifs doivent être refermés hermétiquement.

	Température de stockage	**Stabilité**
Kit non ouvert et réactifs non ouverts	2 °C à 8 °C	Jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date !
Kit ouvert	2 °C à 8 °C	8 semaines (Pour les réactifs reconstitués, voir « 4.4 Préparation des réactifs »).

5.4 Préparation des réactifs

Amener tous les réactifs et le nombre requis de bandes à température ambiante (20 °C à 26 °C) avant de les utiliser.

Standards

Reconstituer le contenu lyophilisé de chaque flacon de standard avec 1.0 mL d'eau distillée et laisser reposer pendant au moins 10 minutes à température ambiante. Mélanger plusieurs fois avant utilisation.

Stabilité après la reconstitution:	entre 2 °C et 8 °C	8 jours
	à -20 °C (en aliquotes)	12 semaines

Contrôles

Reconstituer le contenu lyophilisé de chaque flacon de contrôle avec 1.0 mL d'eau distillée et laisser reposer pendant au moins 10 minutes à température ambiante. Mélanger plusieurs fois avant utilisation.

Stabilité après la reconstitution:	entre 2 °C et 8 °C	8 jours
	à -20 °C (en aliquotes)	12 semaines

Solution de lavage

Ajouter l'eau distillée à la solution de lavage concentrée à 40x (*Wash Solution*).

Diluer 30 mL de solution de lavage concentrée avec 1170 mL d'eau distillée pour un volume final de 1200 mL.

Stabilité après dilution:	entre 20 °C et 26 °C	1 semaine

5.5 Élimination du kit

L'élimination du kit et de tout le matériel/tous les réactifs doit être conforme aux réglementations nationales. Des informations spécifiques au produit sont indiquées dans la fiche de données de sécurité, section 13.

5.6 Kits de tests endommagés

En cas de dommage du kit de tests ou de ses composants, DRG doit en être informé par écrit, au plus tard une semaine après réception du kit. Les composants endommagés ne doivent pas être utilisés pour le test. Ils doivent être stockés jusqu'à ce qu'une solution adaptée ait été trouvée. Après cela, ils doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur.

6 PRÉLÈVEMENT, STOCKAGE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le matériau d'échantillon suivant peut être utilisé dans ce test:

Sérum ou plasma humain (plasma EDTA K_2, EDTA K_3, plasma avec héparine de lithium ou plasma citrate 3,2 %) ou **l'urine**

Les échantillons contenant de l'azoture de sodium ne doivent pas être utilisés dans le test.

En général, il faut éviter d'utiliser des échantillons hémolytiques, ictériques ou lipémiques. Pour de plus amples informations, se reporter au chapitre « *Substances interférentes* ».

6.1 Echantillons de sérum / plasma

6.1.1 Prélèvement des échantillons

Sérum: Prélever le sang par ponction veineuse (ex. Sarstedt Monovette pour le sérum), laisser coaguler et extraire le sérum par centrifugation à température ambiante. Ne pas centrifuger avant la coagulation complète. Le temps de coagulation peut être plus long chez les patients sous traitement anticoagulant.

Plasma: Prélever le sang total dans des tubes de centrifugation contenant un anticoagulant (ex. Sarstedt Monovette avec la préparation de plasma adéquate) et centrifuger immédiatement après le prélèvement.

Le sang total ne doit pas être congelé avant la centrifugation.

Stabilité du sang total	à 20 °C à 26 °C	4 jours

6.1.2 Stockage des échantillons

Les échantillons doivent être conservés hermétiquement fermés avant d'effectuer le dosage. S'ils sont conservés au congélateur, ne les congeler qu'une seule fois. Les échantillons décongelés doivent être retournés plusieurs fois avant le test.

Stabilité:	entre 2 °C et 8 °C	5 jours
	à -20 °C (en aliquotes)	12 mois

6.1.3 Préparation des échantillons

Les échantillons peuvent être dosés sans préparation supplémentaire.

6.1.4 Dilution de l'échantillon

Si, lors d'un test préliminaire, la concentration de l'échantillon se révèle être supérieure à celle du standard le plus concentré, alors l'échantillon doit être dilué avec le *Standard 0* et testé de nouveau, comme décrit dans Réalisation du test.

Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en considération.

Exemple: dilution 1:10: 10 µL de l'échantillon + 90 µL *Standard 0* (bien mélanger).

6.2 Echantillons d'urine

La concentration d'aldostérone peut également être déterminée à partir d'échantillons d'urine. Cependant, les échantillons d'urine doivent être prétraités avant l'analyse. Cela nécessite des réactifs supplémentaires qui ne sont pas inclus dans ce kit mais peuvent être commandés séparément (REF EIA-5298-URIN).

6.2.1 Prélèvement des échantillons d'urine

Nettoyez d'abord la zone génitale avec un désinfectant doux pour éviter toute contamination. Ensuite, recueillez de l'urine propre à mi-course dans un récipient stérile approprié.

Comme la sécrétion d'aldostérone suit un rythme circadien, il est recommandé de recueillir l'urine dans un récipient spécial réfrigéré sur une période complète de 24 heures (urine de 24 heures).

Directement après la collecte, l'urine doit être centrifugée pendant 5 à 10 minutes (par exemple à 2000 *g*) pour éliminer les débris cellulaires.

Utiliser le surnageant pour la quantification de l'analyte.

6.2.2 Stockage des échantillons d'urine

Les échantillons (surnageant d'urine) doivent être conservés hermétiquement fermés avant d'effectuer le dosage. S'ils sont conservés au congélateur, ne les congeler qu'une seule fois. Les échantillons décongelés doivent être retournés plusieurs fois avant le test.

Stabilité du surnageant d'urine	entre 2 °C et 8 °C	7 jours
	à -20 °C (en aliquotes)	7 jours

6.2.3 Protocole de prétraitement des échantillons d'urine

1. Fixez le nombre souhaité de flacons (par exemple, des tubes en plastique de 0,5 à 1,5 mL; non inclus dans ce kit).
2. Distribuez **25 µL d'urine** avec de nouveaux embouts jetables dans les tubes appropriés.
3. Distribuer **25 µL *Release Reagent*** (réactif de libération) dans chaque tube.
   Bien mélanger pendant 10 secondes. Il est important d'avoir un mélange complet à cette étape.
4. Incuber pendant la nuit entre 2 °C et 8 °C.
5. Ajouter **25 µL *Neutralization Reagent*** (réactif de neutralisation) dans chaque tube et mélanger soigneusement.
6. Ajouter **400 µL *Dilution Buffer*** (tampon de dilution) dans chaque tube et mélanger soigneusement.
   (Ce prétraitement conduit à une dilution de 1:19. Par conséquent, le facteur de dilution 19 doit être pris en compte pour le calcul de la concentration finale de l'échantillon d'urine).
7. Transférer **100 µL d'échantillons d'urine prétraités et dilués** directement dans le puits de microtitration et continuer avec l'étape 3 de la procédure de test (chapitre 6.2).

6.2.4 Stockage des échantillons d'urine prétraités

Les échantillons (surnageant d'urine) doivent être conservés hermétiquement fermés avant d'effectuer le dosage. S'ils sont conservés au congélateur, ne les congeler qu'une seule fois. Les échantillons décongelés doivent être retournés plusieurs fois avant le test.

Stabilité des échantillons d'urine prétraités et dilués	entre 2 °C et 8 °C	7 jours
	à -20 °C (en aliquotes)	7 jours

6.2.5 Dilution de l'échantillon d'urine

Si, lors d'un test préliminaire, la concentration de l'échantillon d'urine se révèle être supérieure à celle du standard le plus concentré, alors l'échantillon d'urine prétraité et dilué doit être dilué avec le *Dilution Buffer* et testé de nouveau, comme décrit dans *Procédure du test*.

Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en considération.

Exemple:

dilution 1:10: 10 µL de l' échantillon d'urine prétraité et dilué + 90 µL *Dilution Buffer* (bien mélanger).
(facteur de dilution final = 19 x 10 = 190)

7 PROCÉDURE DE DOSAGE

7.1 Notes de procédure

- Tous les réactifs et échantillons doivent être amenés à température ambiante (entre 20 °C et 26 °C) avant d'être utilisés.
- Tous les réactifs et échantillons doivent être mélangés sans mousse.
- Ne pas interchanger les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée.
- Utiliser des embouts de pipette en plastique neufs pour chaque standard, contrôle ou échantillon afin d'éviter tout transfert.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, pipeter les échantillons du patient et distribuer le conjugué sans éclabousser précisément le fond des puits.
- Mélanger soigneusement le contenu des puits de la microplaque pour garantir de bons résultats.
- Ne pas laisser les puits sécher pendant le dosage ; ajouter les réactifs immédiatement après avoir terminé les étapes de rinçage.
- Une fois le test lancé, toutes les étapes doivent être réalisées sans interruption et dans le même ordre pour chaque étape.
- La réaction enzymatique est linéairement proportionnelle au temps et à la température.
- La densité optique dépend du temps d'incubation et de la température. Respecter les temps et températures d'incubation indiqués dans le chapitre « Procédure de test ».
- Avant de commencer le dosage, il est recommandé que tous les réactifs soient prêts, les bouchons retirés, tous les puits nécessaires fixés dans le support, etc. Cela permet de garantir un temps égal pour chaque étape de pipetage sans interruption.
- **Remarque importante pour la procédure de lavage:**
  Le lavage est essentiel. Des puits mal lavés donneront des résultats erronés. La sensibilité et la précision de ce dosage sont fortement influencées par l'exécution correcte de la procédure de lavage!
- **Réalisation de tests avec des dispositifs d'analyse entièrement automatisés:**
  Il est possible d'effectuer des tests automatisés au moyen de dispositifs d'analyse entièrement ouverts automatisés. Toutefois, la combinaison doit être validée par l'utilisateur.

7.2 Procédure de test

Chaque cycle doit inclure une courbe standard.

Les contrôles servent de contrôles internes pour la fiabilité de la procédure de test. Ils doivent être dosés lors de chaque cycle de tests.

La procédure de test décrite correspond à un traitement manuel.

Remarque importante: La précision de ce test est fortement influencée par le respect de la température d'incubation.

1. Fixer le nombre souhaité de puits de microtitration dans le support du cadre.
2. Pipeter **100 µL** de chaque standard (***Standard***), contrôle (***Control***) et **échantillon** avec de nouveaux embouts jetables dans les puits correspondants.
   Pour les échantillons d'urine, pipeter **100 µL** des échantillons d'urine prétraités et dilués (voir chapitre 5.2.2 Protocole de prétraitement des échantillons d'urine, étape 7).
3. Incuber pendant **30 minutes** à température ambiante.
4. Ajouter **100 µL** de conjugué enzymatique (***Enzyme Conjugate***) dans chaque puits.
   Bien mélanger pendant 10 secondes. Il est important d'avoir un mélange complet à cette étape.
5. Incuber pendant **60 minutes** à température ambiante.
6. Laver les puits comme suit:
   Si l'étape de lavage est effectuée à la main:
   Agiter énergiquement le contenu des puits.
   Rincer les puits à **3 reprises** avec **300 µL** de solution de lavage diluée par puits.

   Si un laveur de plaques automatique est utilisé:
   Rincer les puits à **3 reprises** avec **300 µL** de solution de lavage diluée par puits.

   À la fin de l'étape de lavage, toujours frapper énergiquement les puits sur du papier absorbant pour éliminer les gouttelettes résiduelles.
7. Pipeter **100 µL** de solution de substrat (***Substrate Solution***) dans chaque puits.
8. Incuber pendant **30 minutes** à température ambiante.
9. Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant **50 µL** de solution d'arrêt (***Stop Solution***) dans chaque puits.
10. Mesurer la densité optique (DO) de la solution dans chaque puits **à 450 nm (lecture) et à 620 nm à 630 nm (soustraction des bruits de fond, recommandé)** avec un lecteur de microplaques.
    Il est recommandé de lire les puits dans un délai de **10 minutes** après l'ajout de la solution d'arrêt.

7.3 Calcul des résultats

1. La concentration des **échantillons de sérum / plasma** peut être lue **directement** à partir de la courbe standard.
   Pour les **échantillons d'urine**, la concentration lue sur la courbe standard doit être **multipliée** par le **facteur de dilution 19** (voir chapitre 5.2.2).
2. Pour les déterminations en double, prendre la moyenne des deux valeurs de densité optique (DO) pour chaque standard, contrôle et échantillon de patient. Si les deux valeurs s'écartent considérablement l'une de l'autre, DRG recommande de tester à nouveau les échantillons.
3. Les échantillons dont la concentration est supérieure à celle de l'étalon le plus élevé peuvent être dilués davantage et dosés à nouveau comme décrit dans la section « Procédure de test» ou doivent être signalés comme > 1000 pg/mL. Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en compte.
4. Méthode automatisée:
   Les résultats figurant dans les instructions d'utilisation ont été calculés automatiquement en utilisant un ajustement de la courbe logistique à quatre paramètres (4 PL). (Les méthodes privilégiées sont les modèles logistiques à quatre paramètres [4 PL] de Rodbard ou de Marquardt.) D'autres fonctions de réduction des données peuvent donner des résultats légèrement différents.
5. Méthode manuelle:
   Avec du papier graphique linéaire ou semi-logarithmique, construire une courbe standard en traçant la DO (moyenne) obtenue à partir de chaque standard en fonction de sa concentration avec la valeur de la DO sur l'axe vertical (Y) et la concentration sur l'axe horizontal (X). Déterminer la concentration correspondante de l'échantillon à partir de la courbe standard en utilisant la valeur (moyenne) de la DO pour chaque échantillon.

7.3.1 Exemple de courbe standard caractéristique

Les données suivantes ont uniquement une fin de démonstration et **ne peuvent pas** être utilisées à la place des générations de données au moment du dosage.

Standard		**Densité optique (450 nm)**
Standard 0	(0 pg/mL)	2,040
Standard 1	(20 pg/mL)	1,634
Standard 2	(80 pg/mL)	0,966
Standard 3	(200 pg/mL)	0,516
Standard 4	(500 pg/mL)	0,223
Standard 5	(1000 pg/mL)	0,130

7.4 Calcul final pour les échantillons d'urine

Calculer l'excrétion sur 24 heures pour chaque échantillon d'urine: µg/24 h = **µg/L x L/24 h**

Example:

Concentration pour l'échantillon d'urine lue sur la courbe standard = 500 pg/mL

Résultat après correction avec le facteur de dilution 19 = 9500 pg/mL

9500 pg/mL ⁄ 1000 = 9,5 µg/L

Volume total de l'urine de 24 heures = 1,3 L (example)

9,5 µg/L × 1,3 L/24 h = **12,35 µg/24 h**

8 VALEURS DE RÉFÉRENCE

Il est fortement recommandé à chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs de référence.
Les données pour valeurs de référence se trouvent dans la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9 CONTRÔLE DE QUALITÉ

Une bonne assurance qualité au laboratoire exige que des contrôles soient effectués avec chaque courbe standard. Un nombre statistiquement significatif de contrôles doit être analysé afin d'établir les valeurs moyennes et les plages acceptables pour garantir une bonne performance.
Il est recommandé d'utiliser les échantillons de contrôle conformément aux réglementations locales et nationales. L'utilisation d'échantillons de contrôle est conseillée pour assurer la validité jour par jour des résultats. Utiliser les contrôles au niveau normal et au niveau pathologique.
Les contrôles et les résultats correspondants du laboratoire de contrôle de la qualité sont indiqués dans le certificat d'analyse (CoA) joint au kit. Les valeurs et les plages indiquées sur le « CoA » se rapportent toujours au lot actuel du kit et doivent être utilisées pour une comparaison directe des résultats.
En cas de disponibilité, il est également recommandé de participer à des programmes nationaux ou internationaux d'évaluation de la qualité afin d'assurer l'exactitude des résultats.
Appliquer les méthodes statistiques appropriées pour l'analyse des valeurs de contrôle et des tendances. Si les résultats du dosage ne concordent pas avec les intervalles acceptables établis du matériel de contrôle, les résultats de patient doivent être considérés comme invalides.
Dans ce cas, veuillez vérifier les domaines techniques suivants: Dispositifs de pipetage et de chronométrage; photomètre, dates d'expiration des réactifs, conditions de stockage et d'incubation, méthodes d'aspiration et de lavage. Si aucune erreur n'est révélée par l'examen des éléments susmentionnés, veuillez contacter votre distributeur ou DRG directement.

10 CARACTERISTIQUES EN MATIERE DE PERFORMANCES

Les données pour:

10.1 Spécificité des anticorps (des réactions croisées)

10.2 Capacité de détection

10.3 Répétabilité, reproductibilité

10.4 Récupération

10.5 Linéarité

se trouvent dans la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

11 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Les résultats seront fiables et reproductibles si la procédure de dosage est effectuée dans le respect le plus strict de la notice d'utilisation et des directives relatives à l'assurance qualité en laboratoire.

Toute manipulation incorrecte des échantillons ou toute modification de ce test peut affecter les résultats.

Les données pour:

11.1 Substances interférentes

11.2 Effet crochet

se trouvent dans la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

12 ASPECTS JURIDIQUES

12.1 Fiabilité des résultats

Le test doit être effectué exactement selon la notice d'utilisation du fabricant. En outre, l'utilisateur doit adhérer strictement aux directives d'assurance qualité en laboratoire et aux normes et/ou lois nationales applicables. Ceci s'applique en particulier dans le cadre de l'utilisation des réactifs de contrôle. Il est important de toujours inclure dans la procédure de test un nombre suffisant de contrôles pour valider l'exactitude et la précision du test.
Les résultats de tests ne sont valides que si tous les contrôles se situent dans l'intervalle spécifié et que tous les autres paramètres de

test correspondent également aux spécifications du dosage. En cas de doute ou de préoccupation relative à un résultat, veuillez contacter DRG.

12.2 Décisions thérapeutiques

Les décisions thérapeutiques ne doivent jamais s'appuyer uniquement sur les résultats de laboratoire, même si tous les résultats de tests sont conformes aux critères définis au point 11.1. Tout résultat de laboratoire ne représente qu'une partie du tableau clinique global d'un patient.
Des décisions thérapeutiques ne peuvent être prises que dans les cas où les résultats de laboratoire sont en accord avec le tableau clinique global du patient.
Le résultat de test lui-même ne doit jamais être le seul critère déterminant la prise de décisions thérapeutiques.

12.3 Responsabilité

Toute modification du kit de test et/ou échange ou mélange de composants de différents lots de kits pourrait avoir un impact négatif sur les résultats escomptés et sur la validité du test global. De telles modifications et/ou de tels échanges invalident toute demande de remplacement.
Les réclamations dues à une mauvaise interprétation des résultats de laboratoire par le client selon le point 11.2 sont également invalides. Quoi qu'il en soit, en cas de réclamation, la responsabilité du fabricant ne doit pas excéder la valeur du kit de test. Tout dommage causé au kit de test lors du transport ne relève pas de la responsabilité du fabricant.

12.4 Notification des incidents graves

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

LITERATURE / LITERATUR / PUBBLICAZIONI / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA

1. Brown RD, Strott CA, and Liddle GW. Site of stimulation of Aldosterone biosynthesis by angiotensin and potassium. *J Clin Invest.* 1972, 51 (6), 1413–8.
2. Bauer JH, Gauntner WC. Effect of potassium chloride on plasma renin activity and plasma aldosterone during sodium restriction in normal man. *Kidney Int.* 1979, 15 (3): 286–93.
3. Williams GH, Dluhy RG. Aldosterone biosynthesis. Interrelationship of regulatory factors. *Am J Med.* 1972, 53 (5), 595–605.
4. Tiu SC et al. The use of aldosterone-renin ratio as a diagnostic test for primary hyperaldosteronism and its test characteristics under different conditions of blood sampling. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005, 90 (1), 72-8.
5. Mulatero P et al. Confirmatory tests in the diagnosis of primary aldosteronism. *Horm Metab Res*. 2010, 42 (6), 406-10.
6. Quillo AR. Primary aldosteronism: results of adrenalectomy for nonsingle adenoma. *J Am Coll Surg*. 2011, 213 (1), 106-12.
7. Grossmann C and Gekle M. New aspects of rapid aldosterone signaling. *Mol Cell Endocrinology* 2009, 308 (1-2), 53-62.
8. Thomas L (editor). Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). *8th Edition; Labor und Diagnose* 2012, 1558.
9. Perschel FH et al. Rapid Screening test for primary hyperaldosteronism: ratio of plasma aldosterone to renin concentration determined by fully automated chemiluminescence immunoassays. *Clin. Chemistry* 2004; 50 (9), 1650-55.
10. Rege J et al. Steroid Biomarkers in Human Adrenal Disease. *J Steroid Biochem Mol Biol. 2019 190: 273–280*.
11. Raff H et al. Physiological Basis for the Etiology, Diagnosis, and Treatment of Adrenal Disorders: Cushing's Syndrome, Adrenal Insufficiency, and Congenital Adrenal Hyperplasia. *Compr Physiol. 2014; 4(2): 739–769*.
12. Tsilosani A, Gao C, Zhang W. Aldosterone-Regulated Sodium Transport and Blood Pressure. *Front Physiol. 2022; 13: 770375*.
13. Yozamp N et al. 2021. Intra-Individual Variability of Aldosterone Concentrations in Primary Aldosteronism: Implications for Case Detection. *Hypertension*, 2021; 77(3), 891-899.
14. Kawarazaki W and Fujita T. The Role of Aldosterone in Obesity-Related Hypertension. *American Journal of Hypertension* 2016; 29(4), 415-423.
15. Eisenhofer G et al. Reference intervals for plasma concentrations of adrenal steroids measured by LC-MS/MS: Impact of gender, age, oral contraceptives, body mass index and blood pressure status. *Clin Chim Acta 2017; 470, 115-124*.
16. Kerstens M et al. Reference Values for Aldosterone–Renin Ratios in Normotensive Individuals and Effect of Changes in Dietary Sodium Consumption. *Clin.Chem. 2011; 57:11, 1607-1611*.
17. Ghazal et al. Hormone Immunoassay Interference: A 2021 Update. Ann Lab Med. (2022) 42(1): 3-23.
18. Guder W.G. The Quality of Diagnostic Samples; Recommendation of the working group on preanalytical quality of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine, 2010, 3rd edition, GIT Verlag GmbH.
19. Dimeski G. Interference Testing. Clin Biochem Rev 2008; 29 Suppl, 43-48.

SYMBOLS USED / VERWENDETE SYMBOLE / SIMBOLI UTILIZZATI / SÍMBOLOS UTILIZADOS / SYMBOLES UTILISES /

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
CE	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
IVD	*In vitro* diagnostic medical device	*In-vitro*-Diagnostikum	Diagnostica in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostic in vitro
REF	Catalogue number	Katalognummer	No. di Cat.	No de catálogo	Référence
LOT	Batch code	Chargen-bezeichnung	Lotto no	Número de lote	No. 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	Temperaturgrenzwerte	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservacion	Temperature de conservation
	Use-by date	Verwendbar bis	Data di scadenza	Fecha de caducidad	Date limite d'utilisation
	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Distributor	Vertriebspartner	Distributore	Distribuidor	Distributeur
	Date of manufacture	Herstellungsdatum	Data di produzione	Fecha de fabricación	Date de production
	Biological risks	Biologische Risiken	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution	Achtung	Attenzione	Precaución	Attention
UDI	Unique device Identifier	eindeutige Produktidentifizierung	Identificativo unico del dispositivo	Identificación exclusiva del dispositivo	Identifiant de dispositif unique
RUO	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
Content	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Conditionnement
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité
Microtiterwells	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Piastra per microtitolazione	Placa de microtítulo	Microplaque
Standard	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
Control Low	Control Low	Kontrolle Niedrig	Controllo Basso	Control Bajo	Contrôle Bas
Control High	Control High	Kontrolle Hoch	Controllo Alto	Control Alto	Contrôle Haut
Enzyme Conjugate	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Coniugato enzimatico	Conjugado enzimático	Conjugué enzymatique
Substrate Solution	Substrate Solution	Substratlösung	Soluzione di substrato	Solución de sustrato	Solution de substrat
Stop Solution	Stop Solution	Stopplösung	Soluzione d´arresto	Solución de parada	Solution d' arrêt
Wash Solution	Wash Solution	Waschlösung	Soluzione di lavaggio	Solución de lavado	Solution de lavage