

# Aldosterone



**Only for in-vitro diagnostic use**

**Instructions for use / Gebrauchsanweisung / Notice d'utilisation / Instrucciones de uso /  
Instruções de utilização**

English .....	2
Deutsch .....	8
Français .....	14
Español .....	20
Português .....	26
Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografía / Bibliografia .....	34
Packaging materials / Verpackungsmaterialien / Matériels d'emballage / Materiales de embalaje / Materiais de embalagem .....	34
Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des symboles / Símbolos / Tabela de símbolos .....	35
Summary of Test Procedure / Kurzanleitung Testdurchführung / Résumé de la procedure de test / Resumen de la técnica / Resumo do Procedimento de Teste .....	36

---

**REF**

**DNOV012 (96 Determinations)**

---

## ENGLISH

### 1. INTRODUCTION

---

Aldosterone is a steroid hormone produced by the adrenal cortex in the adrenal gland, is the most potent mineralocorticoid in humans, it regulate sodium and potassium balance in the blood.

Aldosterone secretion appears to be stimulated primarily through the renin-angiotensin system.

Acting on mineralocorticoid receptors (MR) on principal cells in the collecting ducts of the kidneys, it increases the permeability of their apical (luminal) membrane to potassium and sodium and activates their basolateral Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumps, stimulating ATP hydrolysis, reabsorbing sodium (Na<sup>+</sup>) ions and water into the blood, and excreting potassium (K<sup>+</sup>) ions into the urine. Aldosterone regulates plasma bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) levels and its acid/base balance.

Aldosterone is responsible for the reabsorption of about 2% of filtered sodium in the kidneys.

Plasma aldosterone levels normally vary with body position (upright>supine) and salt intake. Overall plasma aldosterone levels show a circadian rhythm which is similar to but less marked than cortisol, with peak levels in the early morning; about 75% of the daily production is secreted between 04:00 am and 10:00 am each day. Age-related levels tend to decline from fetal through adult life.

Abnormally high plasma aldosterone concentrations can occur in adenomas, glucocorticoid-responsive hyperaldosteronism, idiopathic.

Abnormally low aldosterone secretion occurs in a number of conditions including salt-wasting forms of congenital adrenal hyperplasia, nephropathy, and renal tubular acidosis.

### 2. INTENDED USE

---

Competitive immunoenzymatic colorimetric method for quantitative determination of Aldosterone in human serum or plasma.

### 3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

---

Microtiter strip wells are precoated with anti-Aldosterone antibodies (solid-phase). Aldosterone in the sample competes with Aldosterone-HRP conjugate for antibody binding. After incubation a bound/free separation is performed by solid-phase washing. The formed immune complex is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product. The intensity of this product is **inversely** proportional to the amount of Aldosterone in the sample. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorption at 450 nm is read using an ELISA microwell plate reader.

### 4. MATERIALS

---

#### 4.1 Reagents supplied

- **Microtiterplate:** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated with anti- Aldosterone, in resealable aluminium foil.
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 mL sulphuric acid, 0.15 mol/L (avoid any skin contact).
- **Aldosterone conjugate:** 1 bottle containing 15 mL of horseradish peroxidase labelled aldosterone.
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0.26g/L (avoid any skin contact).
- **Wash solution 10x conc.:** 1 bottle containing 50 mL 0.2 M Phosphate buffer pH 7.4
- **Aldosterone control A:** 1 bottle containing 1 mL of a lot-specific control solution. The concentration is indicated on the label of the bottle. Contains < 0.01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Aldosterone control B:** 1 bottle containing 1 mL of a lot-specific control solution. The concentration is indicated on the label of the bottle. Contains < 0.01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Aldosterone Standards:** 6 bottles, 1 mL each; contain < 0.01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Standard 0:	0 pg/mL
Standard 1:	20 pg/mL
Standard 2:	80 pg/mL
Standard 3:	300 pg/mL
Standard 4:	800 pg/mL
Standard 5:	2000 pg/mL

#### 4.2 Materials supplied

- 1 Cover foil
- 1 Instructions for use (IFU)

#### 4.3 Materials and Equipment needed

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450 nm, 620-630 nm
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µL
- rotating mixer
- Distilled water
- Disposable tubes
- Timer

### 5. STABILITY AND STORAGE

---

The reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C in the dark.

## 6. REAGENT PREPARATION

---

*It is very important to bring all reagents, samples and standards to room temperature (22...28 °C) for at least 30 minutes before starting the test run! At the end of the assay, store immediately the reagents at 2-8 °C; avoid long exposure to room temperature.*

### 6.1 Microtiterplate

The ready to use break apart snap-off strips are coated with anti-Aldosterone antibodies. Store at 2...8 °C. Open the bag only when it is at room temperature. *Immediately after removal of strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C; stability until expiry date.*

### 6.2 Aldosterone Conjugate

The conjugate is ready to use.

### 6.3 Aldosterone Standards

Put the standards on a rotating mixer for at least 5 min. before use. The calibrators are ready to use. After first use the standards are still stable for another 6 months if stored at 2...8 °C.

### 6.4 Aldosterone controls

The bottles contain 1 mL of a lot-specific control solution. The concentration is indicated on the label.

### 6.5 TMB Substrate Solution

The bottle contains 15 mL of a tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide system. The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8 °C in the dark. *The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away.*

### 6.6 Stop Solution

The bottle contains 15 mL 0.15 mol/l sulphuric acid solution. This ready to use solution has to be stored at 2...8 °C.

### 6.7 Wash Solution

Dilute the content of the vial "10X Conc. Wash Solution" with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2...8 °C. In concentrated wash solution it is possible to observe the presence of crystals, in this case mix at room temperature until complete dissolution of crystals; for greater accuracy dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL on taking care also transfer the crystals, then mix until crystals are completely dissolved.

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

---

The determination of Aldosterone can be performed in human plasma as well as in human serum.

- *serum samples:*

SST tubes ("Serum Separation Tube") can be used to obtain serum without any interference with the assay.

- *plasma samples:*

Plasma samples can be obtained with EDTA, Lithium heparin and Sodium heparin without any interference with the assay.

If the assay is performed on the day of sample collection, the specimen should be kept at 2...8 °C; otherwise, it should be aliquoted and stored deep-frozen (-20 °C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. *Avoid repeated freezing and thawing.*

Samples with concentration greater than 2000 pg/mL have not to be diluted; such samples have to be reported as ">2000 pg/mL".

## 8. ASSAY PROCEDURE

---

### 8.1 Test Preparation

Please read the test instructions for use carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the instructions for use as described. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and standards should be carefully established. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve. Please allocate at least:

1 well	(e.g. A1)	for the substrate blank
2 wells	(e.g. B1+C1)	for standard 0
2 wells	(e.g. D1+E1)	for standard 1
2 wells	(e.g. F1+G1)	for standard 2
2 wells	(e.g. H1+A2)	for standard 3
2 wells	(e.g. B2+C2)	for standard 4
2 wells	(e.g. D2+E2)	for standard 5
2 wells	(e.g. F2+G2)	for control A
2 wells	(e.g. H2+A3)	for control B

*It is recommended to determine standards, controls and patient samples in duplicate.*

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard and each patient sample.

Adjust the incubator to 37 °C.

1. Dispense 50 µL standards, controls and samples into their respective wells. Add 100 µL conjugate to each well. Leave well A1 for substrate blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour at 37 °C.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µL diluted wash solution. Avoid overflows from the reaction wells.

**Important note:** During each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel.

**Automatic washer:** In case you use automatic equipment, wash the wells at least 5 times.

*Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.*

5. Dispense 100 µL TMB Substrate Solution into all wells.
6. **Incubate for exactly 20 min at room temperature (+22 - +28 °C) in the dark.**
7. Dispense 100 µL Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution. Shake the microplate gently.  
*Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.*
8. Measure the absorbance (E) of the specimen against blank at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against blank within 5 minutes.

## 8.2 Measurement

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader **to zero** using the **substrate blank in well A1**.

*If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!*

**Measure the absorbance** of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard and sample.

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

## 9. RESULTS

---

### 9.1 Calculation of Results

Calculate the mean absorbance for each point of the standard curve and each sample. Plot the mean value of absorbance of the standards against concentration. Draw the best-fit curve through the plotted points. (e. g.: Four Parameter Logistic). Interpolate the values of the samples on the standard curve to obtain the corresponding values of the concentrations expressed in pg/mL.

### 9.2 Reference Values

To determine the normal range for serum / plasma samples, EDTA plasma samples from 150 apparently healthy male and female adults have been tested. The posture of the patients, whether they were upright or supine before the collection of the specimen, is unknown.

Result:

Serum / plasma normal range
< 14.6 - 174 pg/mL

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore, each laboratory should consider the range given by the manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

## 10. QUALITY CONTROL

---

Each laboratory should assay controls at normal, high and low levels range of Aldosterone for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. The individual laboratory should set acceptable assay performance limits. Other parameters that should be monitored include the 80, 50 and 20% intercepts of the standard curve for run-to-run reproducibility. In addition, maximum absorbance should be consistent with past experience. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

## 11. PERFORMANCE AND CHARACTERISTICS

### 11.1 Analytical Sensitivity

Analytical sensitivity has been investigated through the LOB (Limit of Blank), LOD (Limit of Detection), LOQ (limit of Quantitation) and Analytical Sensitivity (A.S.).

The table below shows the criteria of the study and the results obtained.

	Criteria	Results (pg/mL)
LOB	60 replicates of Cal 0, used as "Blank", have been investigated in 9 different sessions over 5 days	15.3
LOD	6 low serum samples have been analyzed in 10 different sessions over 5 days	41.5
LOQ	6 low serum samples have been analyzed in 10 different sessions over 5 days	79.1
A.S.	20 replicates of Cal 0 and 5 replicates of Cal 2 have been assayed. A.S. has been calculated by linear regression.	14.6

### 11.2 Precision and Reproducibility (Complex Precision)

To determine precision and reproducibility 5 different serum samples have been used.

The table below shows the Within Run and Total CV%.

Sample	n°	Mean (pg/mL)	Within Run CV%	Total CV%
PS1	20	1410.102	5.1%	7.2%
PS2	20	824.239	5.2%	8.4%
PS3	20	483.272	5.7%	8.4%
PS4	20	257.171	6.8%	12.3%
PS5	20	127.102	10.4%	13.9%

### 11.3 Sample type study

Sample type study has been evaluated by performing the assay in parallel with serum and plasma belonging to the same subject. 20 different subjects have been used.

Serum obtained with SST tubes, and plasma obtained with EDTA, lithium-heparin and sodium-heparin have been investigated.

The interference has been evaluated as "significant" if it causes a concentration bias >10% between the sample and the reference (EDTA plasma).

The table below shows the results obtained:

Sample	Bias	Interference
EDTA plasma	reference	/
Serum	9.1%	No
Serum (SST pipes)	6.4%	No
Lithium heparin plasma	5.1%	No
Sodium heparin plasma	7.6%	No

Conclusion: following the study, serum and plasma samples can be used indifferently with this kit.

### 11.4 Analytical Specificity

#### 11.4.1 Interfering Substances

Interference by conjugated Bilirubin, Hemoglobin and Triglycerides has been investigated by adding the interfering substance to the serum sample and by comparing its concentration to the unspiked sample.

Samples with low and high concentration of Aldosterone have been analyzed.

The interference has been evaluated as "significant" if it causes a concentration (bias) >10% between spiked and unspiked sample.

The table below shows the results obtained:

Substance	Conc. assayed	Interference
Triglycerides	600 mg/dL	No
Bilirubin, conjugated	33.1 mg/dL	No
Hemoglobin	6.6 mg/dL	No

Conclusion: following the study, there is no significant interference by conjugated Bilirubin, Hemoglobin and Triglycerides at the concentration assayed.

## 11.4.2 Cross-Reactivity

The following cross-reactants have been spiked in serum samples with low and high Aldosterone concentration. The respective low and high unspiked samples were used as reference.

The interference has been evaluated as "significant" if it causes a concentration bias >10 % between spiked and unspiked sample. The table below shows the results obtained:

Cross-reactant	Conc. assayed	Interference
Corticosterone	0.1 µg/mL	No
Androsterone	5 µg/mL	No
Cortisone	0.1 µg/mL	No
Diidrotestosterone (DHT)	0.5 µg/mL	No
Estradiol	10 µg/mL	No
Estrone	10 µg/mL	No
Estriol	10 µg/mL	No
Testosterone	0.2 µg/mL	No
DHEA-S	10 µg/mL	No

## 11.5 Accuracy

### 11.5.1 Linearity

Three tests have been performed using 3 pair of serum (with low and high Aldosterone concentration); 11 dilutions spanning the range low to high have been analyzed.

The assay is linear over the analyzed range (approximately 85.8 – 1520.9 pg/mL).

### 11.5.2 Recovery

Three tests have been performed using 3 serum samples with low aldosterone concentration, each one spiked with the Standard 5 in different percentages.

The mean recovery in the three samples has been 109 %, 102 % and 111 %.

## 11.6 Correlation

126 EDTA plasma samples have been tested with the Aldosterone ELISA kit and with the IDS - iSYS Aldosterone assay (reference method).

The linear regression curve is:

$$Y = 1.106 \cdot X - 36.06$$

$$r^2 = 0.94$$

## 12. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- The test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use by professional persons. Not for internal or external use in humans or animals.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV 1+2 antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive. Nevertheless, all materials should still be regarded and handled as potentially infectious.
- Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- Do not use heavily haemolysed or highly lipemic samples.
- Maximum precision is required for dispensation of the reagents.
- Avoid the exposure of TMB substrate to direct sunlight, metal or oxidants.
- This method allows the determination of Aldosterone from 41,5 pg/mL (LOD) to 2000 pg/mL.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.

- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Microbiologically contaminated samples should not be used in the assay. Highly lipemic or haemolysed specimens should also not be used.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results.
- Addition of the substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the stop solution. Therefore, the addition of the substrate and the stopping solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during reaction
- The ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.
- The treatment with natural or synthetic steroids can affect the blood levels of Aldosterone

### 12.1 Safety note for reagents containing hazardous substances

Reagents may contain CMIT/MIT (3:1).

Therefore, the following hazard and precautionary statements apply.

**Warning**



H317	May cause an allergic skin reaction.
P261	Avoid breathing spray.
P280	Wear protective gloves/ protective clothing.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/ attention.
P362+P364	Take off contaminated and Wash it before reuse.

Further information can be found in the safety data sheet

### 12.2 Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

For information about the packaging materials refer to PACKAGING MATERIALS.

## 13. ORDERING INFORMATION

---

**REF**

DNOV012

Aldosterone

(96 Determinations)

# DEUTSCH

## 1. EINLEITUNG

---

Aldosteron ist ein Steroidhormon, das von der Nebennierenrinde produziert wird. Es ist das potenteste Mineralokortikoid des Menschen. Es reguliert den Natrium-Kalium-Haushalt des Blutes.

Die Aldosteron-Sekretion scheint primär durch das Renin-Angiotensin-System stimuliert zu werden. Durch die Wechselwirkung mit Mineralokortikoidrezeptoren (MR) in den Sammelrohren der Nieren werden die Permeabilität der apikalen (luminalen) Membran für Kalium und Natrium erhöht, die basolateralen Na<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup>-Pumpen aktiviert und die ATP-Hydrolyse, Wiederaufnahme von Natriumionen und Wasser ins Blut sowie die Ausscheidung von Kaliumionen in den Urin stimuliert. Aldosteron reguliert den Bicarbonat- (HCO<sub>3</sub>) Gehalt und die Säure-Basen-Balance. Aldosteron ist verantwortlich für die Resorption von ca 2% des gefilterten Natriums in die Nieren.

Die Plasmakonzentration von Aldosteron variiert normalerweise mit der Körperposition (stehend > auf dem Rücken liegend) und der Salzaufnahme. Insgesamt zeigt der Aldosteron Gehalt einen circadianen Rhythmus, der dem des Cortisols ähnelt, aber weniger stark ausgeprägt ist, mit einem Peak am frühen Morgen (ca. 75% der täglichen Produktion werden zwischen 4 und 10 Uhr vormittags sekretiert). Altersabhängig nimmt der Gehalt vom Fötus zum Erwachsenen ab. Ungewöhnlich hohe Plasma-Aldosteron-Konzentrationen können auftreten bei Adenomen, auf Glucokortikoide ansprechender Hyperaldosteronismus und Idiopathie.

Ungewöhnlich niedrige Konzentrationen treten bei einer Vielzahl von Bedingungen auf inkl. salzverbrauchender Formen der kongenitalen adrenalen Hyperplasie, Nephropathie und der renal tubulären Azidose.

## 2. VERWENDUNGSZWECK

---

Kompetitive immunoenzymatische kolorimetrische Methode für die quantitative Bestimmung von Aldosteron in humanem Serum oder Plasma.

## 3. TESTPRINZIP

---

Die Mikrotiterplatte ist mit Antikörpern gegen Aldosteron beschichtet. Aldosteron in der Probe konkurriert mit dem zugegebenen, Aldosteron-HRP Konjugat um die Bindung an den Antikörpern auf der Mikrotiterplatte. Ungebundene Substanzen werden bei dem anschließenden Waschschrift entfernt. Die gebildeten Immunkomplexe werden durch die Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB) Substrat, welches ein blaues Reaktionsprodukt bildet, sichtbar gemacht. Die Intensität dieses Produktes ist invers proportional zur Aldosteronkonzentration in der Probe. Die Zugabe von Schwefelsäure (Stopplösung) beendet die Enzymreaktion und färbt das Reaktionsprodukt gelb, welches bei 450 nm nachgewiesen werden kann.

## 4. MATERIAL

---

### 4.1 Mitgelieferte Reagenzien

- **Beschichtete Mikrotiterplatte:** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit anti-Aldosteron; in Aluminiumbeutel.
- **Stopplösung:** 1 Flasche mit 15 mL Schwefelsäure, 0.15 mol/L (Hautkontakt vermeiden).
- **Aldosterone Konjugat:** 1 Flasche mit 15 mL HRP-markiertem Aldosteron.
- **TMB Substrat Solution:** 1 Flasche mit 15 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0.26 g/L, (Hautkontakt vermeiden).
- **Waschlösung 10x konz.:** 1 Flasche mit 50 mL 0.2M Phosphatpuffer pH 7,4.
- **Aldosterone Kontrolle A:** 1 Flasche mit 1 mL einer lot-spezifischen Kontrolllösung. Die Konzentration ist auf dem Flaschenetikett angegeben. Enthält < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Aldosterone Kontrolle B:** 1 Flasche mit 1 mL einer lot-spezifischen Kontrolllösung. Die Konzentration ist auf dem Flaschenetikett angegeben. Enthält < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Aldosterone Standards:** 6 Flaschen mit je 1 mL; enthalten < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Standard 0:	0 pg/mL
Standard 1:	20 pg/mL
Standard 2:	80 pg/mL
Standard 3:	300 pg/mL
Standard 4:	800 pg/mL
Standard 5:	2000 pg/mL

### 4.2 Mitgeliefertes Zubehör

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Gebrauchsanweisung

### 4.3 Erforderliche Materialien und Geräte

- 37° C Inkubator
- Photometer mit Filtern 450/620 – 630 nm
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung
- Mikropipetten mit Einmalspitzen
- Rotationsmischer
- Aqua dest.
- Einmalröhrchen
- Timer

## 5. STABILITÄT UND LAGERUNG

---

Die original verschlossenen Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum haltbar, wenn sie bei +2...+8° C im Dunkeln gelagert werden.

## 6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

---

*Alle Reagenzien, Proben und Kontrollen sind vor ihrer Verwendung für mindestens 30 Minuten auf Raumtemperatur (22...28° C) zu bringen! Nach Ende der Messung sind die Reagenzien unverzüglich wieder bei +2 - +8° C zu lagern. Längeres Aufbewahren bei Raumtemperatur ist zu vermeiden.*

### 6.1 Mikrotiterplatte

Die abbrechbaren Streifen sind mit anti-Aldosteron Antikörpern beschichtet. Die gebrauchsfertigen Vertiefungen sind bei 2...8° C aufzubewahren. Den Aluminiumbeutel nur öffnen, wenn er Raumtemperatur hat. *Nichtverbrauchte Vertiefungen im Aluminiumbeutel zusammen mit dem Trockenmittel sofort wieder verschließen und bei 2...8° C lagern.*

### 6.2 Aldosteron Konjugat

Das Konjugat ist gebrauchsfertig.

### 6.3 Aldosteron Standards

Die Standards sind gebrauchsfertig. Vor der Verwendung 5 min auf einem Rotationsmischer mischen. Nach dem ersten Öffnen sind die Standards für weitere 6 Monate bei +2...+8° C haltbar.

### 6.4 Aldosteron Kontrollen

Die Flaschen enthalten 1 mL einer gebrauchsfertigen lot-spezifischen Kontrolllösung. Die Konzentration ist auf dem Etikett angegeben.

### 6.5 TMB-Substratlösung

Das Fläschchen enthält 15 mL eines Tetramethylbenzidin/Wasserstoffperoxidgemisches. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8° C vor Licht geschützt aufzubewahren. *Die Lösung ist leicht hellblau. Sollte die TMB-Substratlösung dunkelblau sein, ist sie kontaminiert und kann nicht im Test verwendet werden.*

### 6.6 Stopplösung

Das Fläschchen enthält 15 mL 0.15 mol/l Schwefelsäure. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8° C aufzubewahren.

### 6.7 Waschlösung

Die 10fach-konzentrierte Waschlösung mit destilliertem Wasser auf 500 mL Gesamtvolumen verdünnen. Bei kleineren Volumina bitte das 1:10 Verhältnis beachten. Die verdünnte Waschlösung ist bei 2...8° C 30 Tage haltbar.

Sollten Kristalle im Konzentrat auftreten, die Lösung bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Auflösung der Kristalle gut mischen; Um die Genauigkeit zu erhöhen, die gesamte Flasche konzentrierte Waschlösung auf 500 mL verdünnen. Darauf achten, auch die Kristalle zu übernehmen und so lange mischen, bis die Kristalle vollständig aufgelöst sind.

## 7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

---

Die Bestimmung von Aldosteron kann mit humanem Serum oder humanem Plasma durchgeführt werden.

-Serumproben

SST-Röhrchen ("Serum Separation Tubes") können verwendet werden, um Serum zu erhalten, ohne den Test zu beeinträchtigen.

- Plasmaproben:

Plasmaproben können mit EDTA, Lithium-Heparin und Natrium-Heparin erhalten werden, ohne den Test zu beeinträchtigen.

Kann die Bestimmung nicht am Tag der Probenentnahme erfolgen, muss die Probe bei -20° C gelagert werden. Gefrorene Proben müssen nach dem Auftauen gut gemischt werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Proben mit einer Konzentration von mehr als 2000 pg/mL müssen nicht verdünnt werden. solche Proben sind als "> 2000 pg/mL" anzugeben.

## 8. TESTDURCHFÜHRUNG

---

### 8.1 Testvorbereitung

Gebrauchsanweisung **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Gebrauchsanweisung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Vor Testbeginn die Verteilung bzw. Position der Patientenproben und Standards auf den Mikrotiterstreifen genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen. Das Pipettieren der Proben sollte maximal 10 Minuten dauern, um eine Drift innerhalb des Testes zu vermeiden. Wenn mehr als eine Mikrotiterplatte gemessen wird, wird empfohlen für jede Platte eine Standardkurve zu erstellen.

1 Vertiefung	(z.B. A1)	Blank
2 Vertiefungen	(z.B. B1+C1)	für Standard 0
2 Vertiefungen	(z.B. D1+E1)	für Standard 1
2 Vertiefungen	(z.B. F1+G1)	für Standard 2
2 Vertiefungen	(z.B. H1+A2)	für Standard 3
2 Vertiefungen	(z.B. B2+C2)	für Standard 4
2 Vertiefungen	(z.B. D2+E2)	für Standard 5
2 Vertiefungen	(z.B. F2+G2)	für die Kontrolle A
2 Vertiefungen	(z.B. H2+A3)	für die Kontrolle B

*Prinzipien der Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin erfordern zur höheren Sicherheit für Standards, Kontrollen und Patientenproben mindestens Doppelbestimmungen.*

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Kontrollen und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Inkubator auf 37° C vorheizen.

1. Pipettiere 50 µL Standards, Kontrollen und Proben in die entsprechenden Vertiefungen. Gebe 100 µL Konjugat in jeder Vertiefung mit Ausnahme des Substratblanks.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **Inkubiere für 1 h bei 37° C.**
4. Nach der Inkubation die Folie entfernen und den Inhalt der Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken. Absaugen und jede Vertiefung dreimal mit 300 µL verdünnter Waschlösung waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte mindestens 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen mit den Öffnungen nach unten kurz auf Fliesspapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.

**Wichtiger Hinweis:** Bei maschineller Abarbeitung jede Vertiefung mindestens fünfmal waschen.

*Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falsch erhöhten Messergebnissen führt!*

5. 100 µL TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.
6. **Inkubiere für genau 20 min bei Raumtemperatur (22 – 28° C) im Dunkeln.**
7. In alle Vertiefungen 100 µL Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei der TMB-Substratlösung Zugabe pipettieren. Die Mikrotiterplatte leicht schwenken. *Während der Inkubation gebildete blaue Farbe schlägt in gelb um.*
8. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450 nm gegen eine Referenzlängenwelle von 620-630 nm oder gegen blank innerhalb von 5 Minuten messen.

## 8.2 Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes (Blank) in **A1** den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers (ELISA-Readers) vornehmen.

*Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert der Position A1 von allen anderen Extinktionswerten abgezogen werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!*

**Extinktion** aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Kontrollen und Proben notieren.

*Eine bichromatische Messung mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.*

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den **Mittelwert der Extinktionswerte** berechnen.

## 9. ERGEBNISSE

### 9.1 Berechnung der Ergebnisse

Berechne den Mittelwert der Absorption jedes Punktes der Standardkurve und jeder Probe. Trage die Mittelwerte der Absorption gegen die Konzentration der Standards auf. Zeichne die am besten passende Kurve durch die Punkte (4 Parameter Fit).

Interpoliere die Werte der Proben anhand der Standardkurve, um die zugehörige Konzentration in pg/mL zu erhalten.

### 9.2 Referenzwerte

Um den Normalbereich für Serum- / Plasmaproben zu bestimmen, wurden EDTA-Plasmaproben von 150 offensichtlich gesunden männlichen und weiblichen Erwachsenen getestet. Die Haltung der Patienten (ob sie vor der Entnahme der Probe aufrecht oder in Rückenlage waren), ist unbekannt.

Ergebnis:

Serum / Plasma Normalbereich
< 14,6 - 174 pg/mL

Es ist zu beachten, dass die Bestimmung eines Bereichs erwarteter Werte für eine „normale“ Bevölkerung in einer bestimmten Methode von vielen Faktoren abhängt, wie z. B. der Spezifität und Sensitivität der verwendeten Methode und der Art der untersuchten Population. Daher sollte jedes Labor die vom Hersteller angegebene Spanne als allgemeine Indikation betrachten und auf der Grundlage der einheimischen Bevölkerung, in der das Labor arbeitet, einen eigenen Bereich von erwarteten Werten erstellen.

## 10. QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Labor sollte Kontrollen im normalen, hohen und niedrigen Bereich für Aldosteron messen, um die Leistungsfähigkeit des Testes zu überprüfen. Diese Kontrollen sollten wie unbekannte Proben behandelt und bei jedem Testlauf mitbestimmt werden. Qualitätskontrolllaufzeichnungen sollten geführt werden, um die Performance der gelieferten Reagenzien zu überwachen. Um Trends erkennen zu können, sollten angemessene statistische Methoden etabliert werden. Jedes Labor sollte Annahmekriterien für die Testperformance aufstellen. Andere Parameter, die überwacht werden sollten, schließen den 80, 50 und 20% Abschnitt der Standardkurve für die Interassay Reproduzierbarkeit ein. Zusätzlich sollte die maximale Absorption mit früheren Messungen konsistent sein. Signifikante Abweichungen von der etablierten Leistungsfähigkeit können ein Indikator sein für unbemerkte Veränderungen der experimentellen Bedingungen oder Instabilität von Kitreagenzien. Um die Ursache der Abweichung zu ermitteln, sollten frische Reagenzien verwendet werden.

## 11. TESTMERKMALE

### 11.1 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität wurde durch LOB (Limit of Blank), LOD (Detektionsgrenze), LOQ (Limit of Quantitation) und analytische Sensitivität (A.S.) untersucht.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Kriterien der Studie und die erzielten Ergebnisse.

	Kriterien	Ergebnisse (pg/mL)
LOB	60 Replikate von Cal 0, verwendet als "Blank", wurden in 9 verschiedenen Testungen über 5 Tage hinweg untersucht	15,3
LOD	In 10 verschiedenen Testungen an 5 Tagen wurden 6 Proben mit niedrigem Serumgehalt analysiert	41,5
LOQ	In 10 verschiedenen Testungen an 5 Tagen wurden 6 Proben mit niedrigem Serumgehalt analysiert	79,1
A.S.	Es wurden 20 Replikate von Cal 0 und 5 Replikate von Cal 2 untersucht. A.S. wurde durch lineare Regression berechnet.	14,6

### 11.2 Präzision und Reproduzierbarkeit (Complex Precision)

Zur Bestimmung der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit wurden 5 verschiedene Serumproben verwendet:

Probe	n°	Mittelwert (pg/mL)	Within Run CV%	Total VK%
PS1	20	1410,102	5,1%	7,2%
PS2	20	824,239	5,2%	8,4%
PS3	20	483,272	5,7%	8,4%
PS4	20	257,171	6,8%	12,3%
PS5	20	127,102	10,4%	13,9%

### 11.3 Probenstudie

Die Untersuchung des Probenotyps wurde bewertet, indem der Assay parallel mit Serum und Plasma durchgeführt wurde, die zu demselben Subjekt gehören. Es wurden 20 Subjekte verwendet.

Mit SST-Röhrchen gewonnenes Serum und mit EDTA, Lithium-Heparin und Natrium-Heparin gewonnenes Plasma wurden untersucht.

Die Interferenz wurde als "signifikant" bewertet, wenn zwischen der Probe und der Referenz (EDTA-Plasma) ein BIAS von >10% auftritt.

Die nachfolgende Tabelle zeigt die erzielten Ergebnisse:

Probe	BIAS	Interferenz
EDTA Plasma	Referenz	/
Serum	9,1%	nein
Serum (SST-Röhrchen)	6,4%	nein
Lithium-Heparin Plasma	5,1%	nein
Natrium-Heparin Plasma	7,6%	nein

Schlussfolgerung: Gemäß dieser Studie können Serum- und Plasmaproben mit diesem Kit unabhängig voneinander verwendet werden.

## 11.4 Analytische Spezifität

### 11.4.1 Interferenzen

Die Interferenz durch konjugiertes Bilirubin, Hämoglobin und Triglyceride wurde untersucht, indem der Serumprobe die störende Substanz zugesetzt wurde und die Konzentration der Probe mit der nicht gespikten Probe verglichen wurde.

Proben mit niedriger und hoher Aldosteronkonzentration wurden analysiert.

Die Interferenz wurde als "signifikant" bewertet, wenn sie ein BIAS von > 10% zwischen der gespikten und der nicht gespikten Probe verursacht.

Die nachfolgende Tabelle zeigt die erzielten Ergebnisse:

Substanz	Testkonzentration	Interferenz
Triglyceride	600 mg/dL	nein
Bilirubin, konjugiert	33,1 mg/dL	nein
Haemoglobin	6,6 mg/dL	nein

Schlussfolgerung: Gemäß der Studie gibt es bei der untersuchten Konzentration keine signifikanten Interferenzen durch konjugiertes Bilirubin, Hämoglobin und Triglyceride.

### 11.4.2 Kreuzreaktivität

Die folgenden Kreuzreaktanten wurden in Serumproben mit niedriger und hoher Aldosteronkonzentration dotiert. Die jeweiligen Proben mit niedriger und hoher Dichte wurden als Referenz verwendet.

Die Interferenz wurde als "signifikant" bewertet, wenn sie ein BIAS > 10% zwischen der dotierten und der nicht dotierten Probe verursacht.

Die nachfolgende Tabelle zeigt die erzielten Ergebnisse:

Kreuzreaktant	Testkonzentration	Interferenz
Corticosterone	0,1 µg/mL	nein
Androsterone	5 µg/mL	nein
Cortison	0,1 µg/mL	nein
Diidrotosterone (DHT)	0,5 µg/mL	nein
Estradiol	10 µg/mL	nein
Estrone	10 µg/mL	nein
Estriol	10 µg/mL	nein
Testosterone	0,2 µg/mL	nein
DHEA-S	10 µg/mL	nein

## 11.5 Richtigkeit

### 11.5.1 Linearität

Es wurden drei Tests mit drei Serumpaaren durchgeführt (mit niedriger und hoher Aldosteronkonzentration); Es wurden 11 Verdünnungen analysiert, die den Bereich niedrig bis hoch abdecken.

Der Assay ist über den analysierten Bereich linear (ca. 85,8 - 1520,9 pg/mL).

### 11.5.2 Recovery

Es wurden drei Tests mit drei Serumproben mit niedriger Aldosteronkonzentration durchgeführt, von denen jede mit Standard 5 in unterschiedlichen Prozentsätzen dotiert war.

Die mittlere Wiederfindung in den drei Proben betrug 109%, 102% und 111%.

## 11.6 Übereinstimmung

126 EDTA - Plasmaproben wurden mit dem ELISA - Kit Aldosterone und mit dem Aldosteron - Test IDS - iSYS (Referenzmethode) getestet.

Die lineare Regressionskurve ist:

$$Y = 1,106 \cdot X - 36,06$$

$$r^2 = 0,94$$

## 12. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Gebrauchsanweisung sind strikt zu befolgen. Bei Anwendung des Testkits auf Diagnostika-Geräten ist die Testmethode zu validieren. Jede Änderung am Aussehen, der Zusammensetzung und der Testdurchführung sowie jede Verwendung in Kombination mit anderen Produkten, die der Hersteller nicht autorisiert hat, ist nicht zulässig; der Anwender ist für solche Änderungen selbst verantwortlich. Der Hersteller haftet für falsche Ergebnisse und Vorkommnisse aus solchen Gründen nicht. Auch für falsche Ergebnisse aufgrund von visueller Auswertung wird keine Haftung übernommen.
- Nur für in-vitro-Diagnostik.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAG nicht-reaktiv getestet. Dennoch sind alle Materialien als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Material tierischen Ursprungs, das zur Herstellung des Kits verwendet wurde, wurde von als gesund zertifizierten Tieren und das Rinderprotein aus nicht mit BSE infizierten Ländern bezogen. Diese Materialien sollten jedoch als potenziell infektiös behandelt werden.

- Reagenzien unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Die Deckel der Fläschchen nicht vertauschen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat- und Standardfläschchen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten Patientenproben und Konjugat sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Keine stark hämolytischen oder lipämischen Proben verwenden.
- Den Kontakt mit Reagenzien, die Wasserstoffperoxid, Schwefelsäure und Konservierungsmittel enthalten, die beim Verschlucken toxisch sein können, vermeiden.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Der ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.
- Diese Methode erlaubt die Bestimmung von Aldosteron in einem Bereich von 41,5 pg/mL (LOD) bis 2000 pg/mL.
- Die TMB-Substratlösung enthält einen Reizstoff, der bei Inhalation, Verschlucken oder Absorption durch die Haut gefährlich sein kann. Um Schädigungen vorzubeugen, sollte die Inhalation, des Verschlucken und der Kontakt mit Haut und Augen vermieden werden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure. Schwefelsäure ist giftig und korrosiv. Zum Schutz vor Verbrennungen durch Chemikalien den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
- Die Zugabe der TMB-Substratlösung initiiert eine kinetische Reaktion, die durch die Zugabe von Stopplösung beendet wird. Daher müssen die TMB-Substratlösung und die Stopplösung in der gleichen Reihenfolge pipettiert werden, um Unterschiede bezüglich der Reaktionszeit zu vermeiden.
- Richtlinien für die Durchführung der Qualitätskontrolle im medizinischen Labor sollten beachtet werden durch die Verwendung von Kontrollen oder gepoolten Seren.
- Das unvollständige Entfernen von Flüssigkeiten aus den Vertiefungen der Mikrotiterplatte kann die Präzision beeinflussen und/ oder den Hintergrund verstärken.  
Um die Präzision zu verbessern, wird empfohlen, die Anzahl der Waschschrte bei maschineller Abarbeitung zu erhöhen.
- ELISA Platten Photometer messen vertikal. Der Boden der Vertiefungen sollte daher nicht berührt werden.
- Mikrobiologisch kontaminierte oder hoch-lipämische bzw. hämolytische Proben sollten nicht verwendet werden.
- Die Behandlung mit natürlichen oder synthetischen Steroiden kann den Blutwert für Aldosterone beeinflussen.
- Der ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.

## 12.1 Sicherheitshinweis für Reagenzien, die Gefahrstoffe enthalten

Die Reagenzien können CMIT/MIT (3:1) enthalten (siehe 4.1)

Daher gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

### Achtung



H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
P261	Einatmen von Aerosol vermeiden.
P280	Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Seife und Wasser waschen.
P333+P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

Weitere Informationen können dem Sicherheitsdatenblatt entnommen werden

## 12.2 Entsorgungshinweise

Rückstände von Chemikalien und Zubereitungen werden im Allgemeinen als gefährliche Abfälle betrachtet. Die Entsorgung dieser Art von Abfällen wird durch nationale und regionale Gesetze und Vorschriften geregelt. Wenden Sie sich an Ihre örtlichen Behörden oder an Abfallentsorgungsunternehmen, die Sie über die Entsorgung von Sondermüll beraten.

Informationen zu den Verpackungsmaterialien finden Sie unter VERPACKUNGSMATERIALIEN.

## 13. BESTELLINFORMATION

**REF**

DNOV012

Aldosterone

(96 Bestimmungen)

# FRANÇAIS

## 1. INTRODUCTION

---

L'aldostérone est une hormone stéroïdienne du cortex de la surrénale dans la glande adrénale et le minéralcorticoïde le plus diffus chez les êtres humains ; il régule l'équilibre du potassium et du sodium dans le sang. La sécrétion de l'aldostérone semble être régulée à travers le système rein-angiotensine. L'aldostérone agit sur les récepteurs des minéralcorticoïdes des cellules rénales en augmentant la perméabilité de la membrane apicale (lumière) au potassium et au sodium et il active les pompes Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ; il stimule l'hydrolyse de l'ATP, la réabsorption de l'eau et du sodium dans le sang et l'excrétion du potassium dans les urines. L'aldostérone est impliquée dans la régulation de l'équilibre acide/base.

L'aldostérone est responsable de la réabsorption d'environ 2 % du sodium filtré dans les reins.

Les taux d'aldostérone dans le plasma varient normalement selon la position du corps (debout>couché). Les taux plasmatiques d'aldostérone présentent un rythme circadien semblable au cortisol avec des pics en matinée ; environ 75 % de la production quotidienne est sécrétée entre 04 :00 h et 10 :00 h chaque jour. Les taux tendent à diminuer avec l'âge.

Des concentrations élevées d'aldostérone dans le plasma se présentent par exemple en cas d'adénomes et hyperaldostéronisme et dans les idiopathies sensibles aux glucocorticoïdes.

Une sécrétion anormalement faible d'aldostérone se présente dans des cas comme l'hyperplasie adrénale congénitale, la néphropathie et les acidoses tubulaires rénales.

## 2. INDICATION D'UTILISATION

---

Méthode immunoenzymatique colorimétrique par compétition pour la détermination quantitative d'Aldosterone dans le sérum ou le plasma humain.

## 3. PRINCIPE DU DOSAGE

---

L'Aldosterone (antigène) présent dans l'échantillon rentre en compétition avec l'Aldosterone antigénique marqué à la peroxydase de raifort (HRP, Conjugué) par rapport à l'anticorps anti-Aldosterone adsorbé sur la microplaque (phase solide). Après de l'incubation, la séparation libre-lié est obtenue par simple lavage de la phase solide. Après, l'enzyme HRP présent dans la fraction liée catalyse la réaction entre le substrat (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et le substrat TMB (TMB), en développant une coloration bleue qui vire au jaune après ajout de la solution d'arrêt (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

L'intensité de la couleur développée est inversement proportionnelle à la concentration d'Aldosterone dans l'échantillon. Un lecteur de microplaques ELISA permet la lecture de l'absorption à 450 nm.

## 4. MATERIELS

---

### 4.1 Réactifs fournis

- **Puits recouverts d'Anti-Aldosterone** : 12 bandes détachables enduites d'Anti-Aldosterone de 8 puits, en sachet d'aluminium refermable.
- **Solution stop** : 1 flacon contenant 15 mL d'acide sulfurique, 0.15 mol/l (éviter tout contact avec la peau).
- **Conjugué Aldosterone-HRP** : 1 flacon contenant 15 mL mL d'Aldosterone marqué à la peroxydase de raifort.
- **Solution de TMB** : 1 flacon contenant 15 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0.26g/l, (éviter tout contact avec la peau).
- **Solution de lavage (concentrée x 10)** : 1 flacon contenant 50 mL 0.2M tampon phosphate ph 7,4
- **Contrôle d'Aldosterone A** : 1 flacon contenant 1 mL d'un lot spécifique d'une solution de contrôle prête à l'emploi. La concentration est indiquée sur l'étiquette. Contient < 0,01 % (v/v) CMIT/ MIT (3:1).
- **Contrôle d'Aldosterone B** : 1 flacon contenant 1 mL d'un lot spécifique d'une solution de contrôle prête à l'emploi. La concentration est indiquée sur l'étiquette. Contient < 0,01 % (v/v) CMIT/ MIT (3:1).
- **Etalons Aldosterone** : 6 flacons, 1 mL chacun ; contiennent < 0,01 % (v/v) CMIT/ MIT (3:1).  
Etalon 0: 0 pg/mL  
Etalon 1: 20 pg/mL  
Etalon 2: 80 pg/mL  
Etalon 3: 300 pg/mL  
Etalon 4: 800 pg/mL  
Etalon 5: 2000 pg/mL

### 4.2 Matériels fournis

- 1 couvercle autocollante
- 1 notice d'utilisation

### 4.3 Matériels et équipements requis

- Lecteur de microplaques ELISA, pour mesure l'absorbance à 450 nm, 620-630 nm
- Incubateur 37 ° C
- Equipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits
- Pipettes
- Vortex
- Eau distillée
- Tubes jetables
- Chronomètre

## 5. STABILITE ET CONSERVATION

---

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C à l'obscurité.

## 6. PREPARATION DES REACTIFS

---

*Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient portés à température ambiante (22 °C – 28°C) pendant au moins 30 minutes avant de commencer le dosage ! À la fin de l'essai conserver les réactifs immédiatement à 2-8°C; évitez la longue exposition à température ambiante.*

### 6.1 Bandes détachables enduites

Les bandes détachables sont enduites d'anticorps d'anti Aldosterone et sont prêtes à l'emploi. Conserver entre 2 °C et 8 °C. N'ouvrir l'emballage que si la pièce est à température ambiante. *Après avoir prélevé les bandes nécessaires, refermer immédiatement les autres dans le sachet d'aluminium avec le déshydratant fourni et les conserver entre 2 °C et 8 °C ; elles sont stables jusqu'à la date de péremption.*

### 6.2 Conjugué Aldosterone-HRP

Le conjugué est prêt à l'emploi.

### 6.3 Etalons Aldosterone

Mélanger 5 minutes avant utilisation avec un vortex. Les étalons sont prêts à l'emploi. *Après la première utilisation les contrôles restent stables pendant encore 6 mois s'ils sont conservés à 2 – 8°C.*

### 6.4 Contrôles

Les flacons contiennent 1 mL d'une solution de contrôle prête à l'emploi. La concentration est indiquée sur l'étiquette.

### 6.5 Solution TMB

Le flacon contient 15 mL d'un mélange de peroxyde d'hydrogène et de tétraméthylbenzidine. Le réactif est prêt à l'emploi et doit être conservé 2 °C et 8 °C à l'obscurité. *La solution doit être incolore ou avoir une légère teinte bleue. Si le substrat devient bleu, il a pu être contaminé et doit être remplacé.*

### 6.6 Solution stop

Le flacon contient 15 mL d'une solution d'acide sulfurique 0.15 mol/l. Cette solution est prête à l'emploi et doit être conservée entre 2 °C et 8 °C.

### 6.7 Solution de lavage

Diluer le contenu de la solution de lavage concentrée 10x avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 500 mL avant utilisation. Pour les petits volumes respecter le rapport de dilution de 1:10. La solution de lavage diluée est stable pendant 30 jours entre 2 °C et 8 °C.

Dans une solution de lavage concentrée, il est possible d'observer la présence de cristaux; dans ce cas, mélanger à température ambiante jusqu'à dissolution complète des cristaux; pour une plus grande précision, diluez la totalité de la bouteille de solution de lavage concentrée à 500 mL en prenant soin de transférer également les cristaux, puis mélangez jusqu'à dissolution complète des cristaux.

## 7. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

---

Utiliser des échantillons de sérum ou de plasma humain pour ce dosage.

- échantillons de sérum:

Les tubes SST («Serum Separation Tube») peuvent être utilisés pour obtenir du sérum sans aucune interférence avec le dosage.

- échantillons de plasma:

Les échantillons de plasma peuvent être obtenus avec l'EDTA, l'héparine de Litium et l'héparine de sodium sans aucune interférence avec le dosage.

Si le dosage est effectué le jour même du prélèvement, les échantillons doivent être conservés entre 2 °C à 8 °C ; sinon ils doivent être aliquotés et congelés (-20 °C). Si les échantillons sont congelés, bien mélanger les échantillons congelés avant le dosage. *Eviter les répétitions de congélation décongélation.*

Échantillons avec une concentration plus élevée que 2000 pg/mL ne doivent pas être dilués; ces échantillons doivent être signalés comme "> 2000 pg/mL".

## 8. PROCEDE DU DOSAGE

---

### 8.1 Préparation du dosage

Lire attentivement la notice d'utilisation **avant de** réaliser le dosage. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict d'utilisation comme décrit. Avant de commencer le dosage, déterminer le plan de distribution et d'identification des échantillons et des contrôles. Sélectionner le nombre de bandes ou de puits nécessaires et les placer sur le support. Le pipetage des échantillons ne doit pas prendre plus de 10 minutes afin d'éviter toutes dérives du dosage. Si cela dure plus de 10 minutes, suivre le même ordre d'utilisation. Si plusieurs plaques sont utilisées, il est recommandé de répéter la courbe dose/réponse.

Réserver au moins :

1 puits	(ex. A1)	Pour le blanc
2 puits	(ex. B1+C1)	Pour l'étalon 0
2 puits	(ex. D1+E1)	Pour l'étalon 1
2 puits	(ex. F1+G1)	Pour l'étalon 2
2 puits	(ex. H1+A2)	Pour l'étalon 3
2 puits	(ex. B2+C2)	Pour l'étalon 4
2 puits	(ex. D2+E2)	Pour l'étalon 5
2 puits	(ex. F2+G2)	Pour le contrôle A
2 puits	(ex. H2+A3)	Pour le contrôle B

*Il est recommandé de déterminer les étalons, les contrôles et les échantillons du patient en doublets.*

Réaliser toutes les étapes du dosage dans l'ordre donné et sans interruption entre les étapes.

Un cône de pipette propre et jetable doit être utilisé pour distribuer chaque étalons et échantillon.

Régler l'incubateur à 37 °C.

1. Pipeter 50 µL d'étalons, de contrôles et d'échantillons dans leurs puits respectifs. Ajouter 100 µL de conjugué dans chaque puits. Garder le puits A1 pour le blanc.
2. Couvrir les puits avec le couvercle fourni dans le kit.
3. **Incuber pendant 1 heure à 37 °C.**
4. À la fin de l'incubation, enlever le couvercle, aspirer le contenu des puits et laver chaque puits trois fois avec 300 µL de solution de lavage diluée. Eviter les débordements de puits de réaction.

**Note importante :** Pendant chaque pas de lessive, secouez doucement la plaque depuis 5 secondes et enlevez la solution d'excès en tapant la plaque inversée sur un essuie-mains en papier absorbant.

**Équipement automatisé :** Si vous utilisez l'équipement automatisé, lavez les puits au moins 5 fois.

*Note :* L'étape de lavage est très importante ! Un lavage insuffisant peut conduire à une précision faible et des valeurs d'absorbance faussement élevées.

5. Pipeter 100 µL de solution de TMB dans tous les puits.
6. **Incuber pendant exactement 20 min à température ambiante (22 – 28 ° C) à l'obscurité.**
7. Pipeter 100 µL de solution stop dans tous les puits dans le même ordre à la même vitesse que pour la solution de TMB. Secouer doucement la microplaque.  
*La couleur bleue développée pendant l'incubation vire au jaune.*
8. Mesurer l'absorbance (E) des échantillons à 450 nm contre e blanc contre une longueur d'onde de référence de 620-630 nm ou contre le blanc au cours de 5 minutes.

## 8.2 Mesure

Faire le **zéro** du lecteur ELISA à l'aide du blanc dans le puits A1.

*Si - pour des raisons techniques - le lecteur d'ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le blanc dans le puits A1, soustraire la valeur d'absorbance du puits A1 de toutes les autres valeurs d'absorbance mesurées afin d'obtenir des résultats fiables !*

**Mesurer l'absorbance** de tous les puits à **450 nm** et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque contrôle et échantillon de patient.

Calculer **les valeurs moyennes d'absorbance pour tous les doublets, si nécessaires.**

## 9. RESULTATS

### 9.1 Calcul des résultats

Calculer l'absorbance moyenne pour chaque point du courbe étalon et de chaque échantillon. Tracer la valeur d'absorbance moyenne des étalons par rapport à la concentration. Dessiner le meilleur ajustement de la courbe sur les points tracés (4 paramètres logistiques).

Interpoler les valeurs des échantillons sur le courbe étalon pour obtenir les valeurs de concentrations correspondantes en pg/mL.

### 9.2 Valeurs de Référence

Pour déterminer la plage normale pour les échantillons de sérum / plasma, des échantillons de plasma EDTA de 150 hommes et femmes apparemment en bonne santé ont été testés. La posture des patients, qu'ils soient debout ou couchés avant la collecte de l'échantillon, est inconnue.

Résultat:

Plage normale du sérum / plasma
<14,6 - 174 pg / mL

Veillez noter que la détermination d'une plage de valeurs attendues pour une population «normale» dans une méthode donnée dépend de nombreux facteurs, tels que la spécificité et la sensibilité de la méthode utilisée et du type de population sous enquête. Par conséquent, chaque laboratoire doit considérer la plage indiquée par le fabricant comme une indication générale et produire sa propre plage de valeurs attendues en fonction de la population autochtone dans laquelle le laboratoire fonctionne.

## 10. CONTROLE QUALITE

Chaque laboratoire doit faire des contrôles de dosage à des niveaux de gammes normales, élevées et faibles d'Aldosterone pour surveiller la performance des dosages. Ces contrôles doivent être considérés comme inconnus et les valeurs doivent être déterminés dans chaque test effectué. Les chartes de contrôles qualité doivent être maintenues pour suivre les performances des réactifs fournis. Des méthodes de statistiques pertinentes doivent être employées pour établir des tendances. Le laboratoire individuel doit établir des limites de performance de dosage acceptables. De plus, l'absorbance maximale doit être dans la même ligne que les expériences passées. Les déviations significatives provenant des performances établies peuvent indiquer un changement non remarquable dans les conditions expérimentales ou dans la dégradation des réactifs du kit. Les réactifs frais doivent être utilisés pour déterminer la raison des variations.

## 11. PERFORMANCE ET CARACTERISTIQUES

### 11.1 Sensibilité Analytique

La sensibilité analytique a été étudiée à travers les méthodes LOB (Limite of Blank), LOD (Limite de détection), LOQ (Limite de quantification) et Sensibilité Analytique (A.S.).

Le tableau ci-dessous présente les critères de l'étude et les résultats obtenus:

	Critères	Résultats (pg/mL)
LOB	60 répliques de Cal 0, utilisé comme "blanc", ont été étudiées au cours de 9 sessions différentes sur 5 jours	15,3
LOD	6 échantillons de faible sérum ont été analysés dans 10 sessions différentes sur 5 jours	41,5
LOQ	6 échantillons de faible sérum ont été analysés dans 10 sessions différentes sur 5 jours	79,1
A.S.	20 réplicats de Cal 0 et 5 réplicats de Cal 2 ont été analysés. A.S. a été calculé par régression linéaire. 14,6	14,6

### 11.2 Precisión et Reproductibilité (Précision Complexe)

Pour déterminer la précision et la reproductibilité, 5 échantillons de sérum différents ont été utilisés.

Le tableau ci-dessous présente les pourcentages « Within Run » et Total CV.

Echantillon	n°	Moyenne (pg/mL)	Within Run CV%	Total CV%
PS1	20	1410,102	5,1%	7,2%
PS2	20	824,239	5,2%	8,4%
PS3	20	483,272	5,7%	8,4%
PS4	20	257,171	6,8%	12,3%
PS5	20	127,102	10,4%	13,9%

### 11.3 L'étude de type d'échantillon

L'étude de type d'échantillon a été évaluée en effectuant le test en parallèle avec le sérum et le plasma appartenant au même sujet.

20 sujets différents ont été utilisés.

Le sérum obtenu avec des tubes SST et le plasma obtenu avec de l'EDTA, de l'héparine de lithium et de l'héparine de sodium ont été étudiés.

L'interférence a été jugée "significative" si elle provoque un biais de concentration > 10% entre l'échantillon et la référence (plasma EDTA).

Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus :

Echantillon	Bias	Interférence
Plasma EDTA	référence	/
Sérum	9,1%	non
Sérum (tubes SST)	6,4%	non
Plasma Lithium héparine	5,1%	non
Plasma Sodium	7,6%	non

Conclusion: après l'étude, les échantillons de sérum et de plasma peuvent être utilisés indifféremment avec ce kit.

## 11.4 Spécificité analytique

### 11.4.1. Substances interférentes

L'interférence de la bilirubine conjuguée, de l'hémoglobine et des triglycérides a été étudiée en ajoutant la substance interférente à l'échantillon de sérum et en comparant sa concentration à celle de l'échantillon non dopé.

Des échantillons contenant des concentrations faibles et élevées d'aldostérone ont été analysés.

L'interférence a été jugée "significative" si elle provoque une concentration (biais) > 10% entre les échantillons enrichis et non enrichis.

Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus:

Substance	Conc. dosée	Interférence
Triglycérides	600 mg/dL	Non
Bilirubiné, conjuguée	33,1 mg/dL	Non
Hémoglobine	6,6 mg/dL	Non

Conclusion: à la suite de l'étude, il n'y a pas d'interférence significative de la bilirubine conjuguée, de l'hémoglobine et des triglycérides à la concentration dosée.

### 11.4.2. Réaction Croisée

Les réactifs croisés suivants ont été enrichis dans des échantillons de sérum avec concentration faible et élevée d'aldostérone. Les échantillons faibles et élevés respectifs non piqués ont été utilisés comme référence.

L'interférence a été jugée "significative" si elle provoque un biais de concentration > 10% entre les échantillons enrichis et non enrichis.

Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus:

Réactif Croisé	Conc. dosée	Interférence
Corticostérone	0,1 µg/mL	Non
L'androstérone	5 µg/mL	Non
Cortisone	0,1 µg/mL	Non
Diidrotestostérone (DHT)	0,5 µg/mL	Non
Estradiol	10 µg/mL	Non
Estrone	10 µg/mL	Non
Estriol	10 µg/mL	Non
Testostérone	0,2 µg/mL	Non
DHEA-S	10 µg/mL	Non

## 11.5 Exactitude

### 11.5.1 Linéarité

Trois tests ont été effectués avec 3 paires de sérum (avec une concentration faible et élevée en aldostérone); 11 dilutions couvrant la plage basse à haute ont été analysées.

Le dosage est linéaire sur la plage analysée (environ 85,8 à 1520,9 pg / mL).

### 11.5.2 Récupération

Trois tests ont été réalisés avec 3 échantillons de sérum à faible concentration en aldostérone, chacun enrichi avec le Etalon 5 en différents pourcentages.

La récupération moyenne dans les trois échantillons a été de 109%, 102% et 111%.

## 11.6 Corrélation

126 échantillons de plasma EDTA ont été testés avec le kit Aldostérone ELISA et avec le test IDS-iSYS Aldostérone (méthode de référence).

La courbe de régression linéaire est la suivante:

$$Y = 1\,106 * X - 36,06$$

$$r^2 = 0,94$$

## 12. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- La procédure de test, l'information, les précautions et mises en garde de la notice d'utilisation, doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces kits avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de dosage, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont autorisés ; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces modifications. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoires (BPL) pour la manipulation de produits sanguins.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été testés non réactifs aux antigènes HBs, en anticorps anti-VIH et en anticorps anti-VHC. Néanmoins, tous les produits doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.

- Le matériel d'origine animale utilisé dans la préparation du kit a été obtenu à partir d'animaux certifiés en bonne santé et la protéine bovine a été obtenue de pays non infectés par l'ESB, mais ces matériels doivent être manipulés comme potentiellement infectieux.
- Ne pas échanger les réactifs ou les bandes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de ce kit.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des cônes de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée
- Fermer les flacons de réactifs immédiatement après l'utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et le conjugué exactement au fond des puits en évitant les éclaboussures.
- Quand l'utilisation a automatisé l'équipement, l'utilisateur a la responsabilité de s'assurer que le kit a été convenablement évalué.
- Si le liquide n'est pas complètement extrait des puits, cela peut influencer la précision du dosage et/ou augmenter le bruit de fond. Pour améliorer la performance du kit sur les systèmes automatiques ELISA, on recommande d'augmenter le nombre de se lave.
- Les réactifs contiennent de la Procline 300® en tant que conservateur
- Le TMB est irritant, ce qui peut être nocif s'il est inhalé, ingéré ou absorbé à travers la peau. Eviter toute inhalation, ingestion ou contact avec la peau et les yeux pour prévenir de ces risques.
- La solution stop est une solution d'acide sulfurique diluée. L'aide sulfurique est un poison corrosif et peut être toxique s'il est ingéré. Eviter tout contact avec la peau ou les yeux pour prévenir des brûlures chimiques.
- L'addition de la solution de substrat initie la réaction cinétique qui se termine par l'ajout de solution stop. Par conséquent, l'addition de solution de substrat et de solution stop doit être faite durant la manipulation pour éliminer tous risques de dépassement de la durée de réaction.
- Cette méthode permet la détermination d'Aldosterone entre 41,5 pg/mL (LOD) – 2000 pg/mL.
- Suivre la notice pour les contrôles qualité dans les laboratoires médicaux en dosant les contrôles et/ou les sérums.
- Les échantillons microbiologiquement contaminés ne doivent pas être utilisés pour le dosage. Les échantillons hautement lipémiques ou hémolysés ne doivent pas être utilisés non plus.
- Les lecteurs de microplaques mesurent verticalement. Ne pas toucher le fond des puits.
- La méthode ELISA est destinée à un personnel qualifié qui est familiarisé avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

## 12.1 Note de sécurité pour les réactifs contenant des substances dangereuses

Les réactifs peuvent contenir du CMIT/MIT (3 :1) (voir chapitre 4.1)

Par conséquent, les mentions de danger et les conseils de prudence suivants s'appliquent.

### Attention



H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
P261	Éviter de respirer les aérosols.
P280	Porter des gants de protection/ des vêtements de protection.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment savon à l'eau.
P333+P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.
P362+P364	Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

De plus amples informations peuvent être trouvées dans la fiche de données de sécurité.

## 12.2 Elimination des déchets

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales. Contacter les autorités compétentes ou les sociétés de gestion des déchets pour obtenir des renseignements sur l'élimination des déchets dangereux.

Pour plus d'informations sur les matériaux d'emballage, reportez-vous à la section MATÉRIELS D'EMBALLAGE.

## 13. INFORMATION POUR LES COMMANDES

**REF**

DNOV012

Aldosterone

(96 Déterminations)

# ESPAÑOL

## 1. INTRODUCCIÓN

---

La aldosterona es una hormona esteroide producida por la corteza suprarrenal en la glándula suprarrenal, es el más potente mineralocorticoide en seres humanos, regula el equilibrio de sodio y potasio en la sangre.

La secreción de aldosterona parece ser estimulado principalmente a través del sistema renina-angiotensina.

Actuando sobre los receptores de mineralocorticoides (MR) en las células principales de los túbulos colectores de los riñones, aumenta la permeabilidad de su membrana apical (luminal) al potasio y sodio y activa sus bombas basolaterales Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, estimulando la hidrólisis de ATP, reabsorbiendo sodio (Na<sup>+</sup>) e iones de agua en la sangre, y excretando iones de potasio (K<sup>+</sup>) en la orina. La aldosterona regula los niveles de bicarbonato plasmático (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y el equilibrio ácido/base. La aldosterona es responsable de la reabsorción de aproximadamente el 2% del sodio filtrado en los riñones.

Los niveles plasmáticos de aldosterona suelen variar con la posición del cuerpo (en posición vertical > supina) y el consumo de sal. Los niveles de Aldosterona plasmática total muestran un ritmo circadiano que es similar pero menos marcado que el cortisol, con niveles pico en la mañana temprano; aproximadamente el 75% de la producción diaria es secretada entre las 04 a.m. y las 10 a.m. todos los días. Relacionada con la edad los niveles tienden a descender del feto hasta la vida adulta.

Concentraciones plasmáticas anormalmente altas de aldosterona pueden ocurrir en los adenomas, hiperaldosteronismo de respuesta a glucocorticoides, idiopático.

La secreción de aldosterona anormalmente baja se produce en una serie de condiciones incluyendo formas de pérdida de sales de hiperplasia suprarrenal congénita, nefropatía y acidosis tubular renal.

## 2. USO PREVISTO

---

Método colorimétrico inmunoenzimático competitivo para la determinación cuantitativa de Aldosterona en suero o plasma humano.

## 3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

---

Tiras de pozos de micro titulación son pre cubiertos con anticuerpos anti-Aldosterona (fase sólida). La Aldosterona en la muestra compete con el conjugado Aldosterona-HPR por la unión a los anticuerpos. Después de la incubación una separación de lo unido/libre es realizada a la fase sólida mediante lavado. El complejo inmune formado por el antígeno marcado enzimáticamente se visualiza mediante la adición del sustrato Tetrametilbenzidina (TMB) el cual genera un producto de reacción azul. La intensidad de este producto es **inversamente** proporcional a la cantidad de Aldosterona en la muestra. Se adiciona ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un color de punto final amarillo. La absorción a 450 nm se lee usando un lector de placa de micro pozos de ELISA.

## 4. MATERIALES

---

### 4.1 Reactivos suministrados

- **Anti- Aldosterona Pozos recubiertos:** 12 tiras separadas rompibles de 8 pozos recubiertas con anti- Aldosterona; en bolsa de aluminio resellable.
- **Solución de parada:** 1 botella contiene 15 mL de ácido sulfúrico, 0.15 mol/L (evitar cualquier contacto con la piel).
- **Aldosterona Conjugado:** 1 botella contiene 15 mL de Aldosterona marcada con peroxidasa de rábano picante.
- **Solución sustrato TMB:** 1 botella contiene 15 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0,26 g/l, (evitar cualquier contacto con la piel).
- **Solución de Lavado conc. 10x:** 1 botella contiene 50 mL tampón fosfato 0,2M pH 7.4
- **Control Aldosterona A:** 1 botella contiene 1 mL de una solución de control específica de lote. La concentración está indicada en la etiqueta de la botella. Contiene < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Control Aldosterona B:** 1 botella contiene 1 mL de una solución de control específica de lote. La concentración está indicada en la etiqueta de la botella. Contiene < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Estándares Aldosterona:** 6 botellas, 1 mL cada una; contiene < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Estándar 0: 0 pg/mL

Estándar 1: 20 pg/mL

Estándar 2: 80 pg/mL

Estándar 3: 300 pg/mL

Estándar 4: 800 pg/mL

Estándar 5: 2000 pg/mL

### 4.2 Materiales suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso

### 4.3 Materiales e instrumentos necesarios

- Lector de placa de micro pozos de ELISA, equipado para la medición de absorbancias a 450 nm, 620 -630 nm
- Incubadora de 37 °C
- Equipo manual o automático para el lavado de pozos
- Pipetas para medir volúmenes entre 10 y 1000 µL
- Mezclador giratorio
- Agua destilada
- Tubos desechables
- Cronómetro

## 5. ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

---

Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración escrita sobre la etiqueta cuando se almacenan de 2...8 °C en la oscuridad.

## 6. PREPARACION DE LOS REACTIVOS

---

*¡Es muy importante llevar todos los reactivos, muestras y estándares a temperatura ambiente (22...28 °C) durante al menos 30 minutos antes de empezar la corrida! ¡Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2 – 8 °C para evitar largos periodos a temperatura ambiente!*

### 6.1 Tiras rompibles recubiertas

Las tiras rompibles separadas listas para usar están recubiertas con anticuerpos anti- Aldosterona. Almacenar a 2...8 °C. Abrir la bolsa solo cuando estén a temperatura ambiente. *Inmediatamente después de remover las tiras, las tiras restantes deberán guardarse en la bolsa de aluminio junto con el desecante suministrado y almacenarse a 2...8 °C; la estabilidad es hasta la fecha de expiración.*

### 6.2 Conjugado Aldosterona

El conjugado está listo para usar.

### 6.3 Estándares Aldosterona

Los estándares están listos para usar. Poner los estándares en un mezclador giratorio por al menos 5 min. antes de usar. Después del primer uso son estables por otros 6 meses a +2...+8 °C.

### 6.4 Controles de Aldosterona

Las botellas contienen 1 mL de una solución de control específica de lote. La concentración está indicada en la etiqueta.

### 6.5 Solución sustrato TMB

La botella contiene 15 mL de un sistema de Tetrametilbenzidina/Peróxido de Hidrógeno. El reactivo está listo para usar y debe ser almacenado a 2...8 °C en la oscuridad. *La solución debe ser incolora o puede tener una ligera tinción azul. Si el sustrato se vuelve azul, este puede haberse contaminado y debe ser descartado.*

### 6.6 Solución de Parada

La botella contiene 15 mL de solución de ácido sulfúrico 0.15 mol/L. Solución lista para usar debe ser almacenada a 2...8 °C.

### 6.7 Solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido del frasco de la "Solución de lavado conc. 10X" con agua destilada hasta un volumen de 500 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:10. La solución de lavado diluida es estable por 30 días a 2...8 °C. En la solución de lavado concentrada es posible observar la presencia de cristales. En ese caso, agitar a temperatura ambiente hasta que los cristales se disuelvan por completo. Para una mayor precisión, diluir todo el frasco de la solución de lavado concentrada en 500 mL teniendo cuidado para transferir también los cristales y, a continuación, agitar hasta que se disuelvan por completo.

## 7. RECOLECCION DE MUESTRAS Y PREPARACION

---

La determinación de la Aldosterona puede ser realizada tanto en plasma como en suero humanos.

*-suero*

Los tubos SST (Serum Separation Tube) no interfieren en los resultados y por lo tanto pueden usarse sin cuidado.

*-plasma*

Las muestras de plasma se pueden obtener con EDTA, heparina de litio y heparina de sodio sin ninguna interferencia con la prueba.

Si la prueba se realiza el día de la toma de la muestra, esta debe mantenerse a 2...8 °C; si no esta debe ser alicuotada y almacenada en congelación (-20 °C). Si las muestras son almacenadas congeladas, mezclar bien las muestras descongeladas antes de hacer el ensayo. *Evitar repetidos ciclos de congelación y descongelación.*

Las muestras con una concentración superior a 2000 pg/mL no deben diluirse, pero deben informarse como "> 2000 pg/mL".

## 8. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

---

### 8.1 Preparación de la prueba

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones de uso del ensayo **antes** de realizar el ensayo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los estándares/controles. Seleccione el número necesario de tiras de microtitulación o pozos e insértelos en el soporte. El pipeteo de muestras no debe tomar más de diez minutos para evitar la deriva del análisis. Si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta.

Por favor, destinar al menos:

1 pozo	(ej. A1)	para el blanco
2 pozos	(ej. B1+C1)	para estándar 0
2 pozos	(ej. D1+E1)	para estándar 1
2 pozos	(ej. F1+G1)	para estándar 2
2 pozos	(ej. H1+A2)	para estándar 3
2 pozos	(ej. B2+C2)	para estándar 4
2 pozos	(ej. D2+E2)	para estándar 5
2 pozos	(ej. F2+G2)	para control A
2 pozos	(ej. H2+A3)	para control B

Es necesario determinar los estándares, controles y las muestras de pacientes por duplicado.

Realizar todos los pasos del ensayo en el orden dado y sin ningún retraso apreciable entre los pasos.

Se debe usar una punta limpia y desechable para el dispensado de cada estándar y de cada muestra de paciente.

Ajustar la incubadora a 37 °C.

1. Dispensar 50 µL de estándares, controles y muestras en los respectivos pozos. Adicionar 100 µL de conjugado a cada pozo. Dejar el pozo A1 para el blanco de sustrato.
2. Cubrir los pozos con la lámina autoadhesiva suministrada en el kit.
3. **Incubar por 1 hora a 37 °C.**
4. Cuando la incubación se haya completado, remover la lámina autoadhesiva suministrada, aspirar el contenido de los pozos y lavar cada pozo tres veces con 300 µL de solución de lavado diluid. Evitar rebosamiento de los pozos de reacción

**Nota importante:** Agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso del lavado. Después del último lavado asegúrese haber eliminado completamente la solución de lavado de los pozos, invierta la placa y golpéela repetidas veces contra una servilleta de papel absorbente.

**Lavados automáticos:** Si está utilizando una lavadora automática, hacer 5 lavados.

*Nota: ¡El lavado es crítico! Lavados insuficientes resultan en baja precisión y valores de absorbancia falsamente elevados.*

5. Dispensar 100 µL de solución sustrato TMB en todos los pozos.
6. **Incubar por exactamente 20 minutos a temperatura ambiente (22...28 °C) en la oscuridad.**
7. Dispensar 100 µL de solución de parada en todos los pozos en el mismo orden y a la misma velocidad que para la Solución de Sustrato TMB. Mezclar suavemente la microplaca.  
*Cualquier color azul desarrollado durante la incubación se volverá amarillo.*
8. Leer la absorbancia a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco entre 5 minutos.

## 8.2 Medición

Ajustar el lector de placa de micro pozos a **cero** usando el **blanco de sustrato en el pozo A1**.

Si - por razones técnicas - el lector de ELISA no se puede ajustar a cero con el blanco del sustrato en el pozo A1, restar el valor de absorbancia del pocillo A1 de todos los otros valores de absorbancia medidos con el fin de obtener resultados fiables!

**Medir la absorbancia** de todos los pozos a **450 nm** y grabar los valores de absorbancia de cada estándar y muestra de paciente.

Donde aplique calcular la **media de los valores de absorbancia** para todos los duplicados.

## 9. RESULTADOS

### 9.1 Cálculo de Resultados

Calcular la absorbancia media para cada punto de la curva estándar y cada muestra. Graficar el valor medio de la absorbancia de los estándares contra la concentración. Dibujar la curva de mejor ajuste a través de los puntos trazados (ej. Cuatro parámetros Logístico).

Interpolar los valores de las muestras sobre la curva estándar para obtener los valores correspondientes de las concentraciones expresadas en pg/mL.

### 9.2 Valores de Referencia

Para determinar los valores de referencia para las muestras de suero / plasma, se analizaron muestras de plasma-EDTA de 150 hombres y mujeres adultos aparentemente sanos. Se desconoce la postura del paciente (posición vertical o supina antes de la colección de muestras).

Resultado:	Valores de referencia suero / plasma
	< 14,6 - 174 pg/mL

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

## 10. CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe probar controles en los rangos normal, alto y bajo de Aldosterona para monitorear el desempeño del ensayo. Esos controles deben ser tratados como desconocidos y los se deben determinar los valores en cada procedimiento de prueba realizado. Las gráficas de control de calidad se deben mantener siguiendo el desempeño de los reactivos suministrados. Métodos estadísticos adecuados deben ser empleados para determinar las tendencias. El laboratorio individual debe establecer los límites de desempeño aceptables para el ensayo. Otros parámetros que deben ser monitoreados incluyen los interceptos del 80, 50 y 20 % de la curva estándar para la reproducibilidad corrida a corrida. En adición, la absorbancia máxima debe ser consistente con la experiencia pasada. Desviación significativa del desempeño establecido puede indicar un cambio inadvertido en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos del kit. Reactivos frescos deben ser usados para determinar la razón de las variaciones.

## 11. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPEÑO

### 11.1 Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se ha estudiado investigando el LOB (Límite de blanco), LOD (Límite de detección), LOQ (Límite de cuantificación) y la sensibilidad analítica (A.S.).

La siguiente tabla muestra los criterios del estudio y los resultados obtenidos.

	<b>Criterios</b>	<b>Resultados</b>
LOB	Se realizaron 60 réplicas de Cal 0, utilizadas como "blanco", en 5 sesiones diferentes	15,3
LOD	Se analizaron 6 muestras de suero bajo en 10 sesiones diferentes.	41,5
LOQ	Se analizaron 6 muestras de suero bajo en 10 sesiones diferentes.	79,1
A.S.	Se probaron 20 réplicas de Cal 0 y 5 réplicas de Cal 1. A.S. se calculó mediante regresión lineal.	14,6

### 11.2 Precisión y reproducibilidad

La precisión y la reproducibilidad se han evaluado comprobando 5 sueros.

La tabla indica el "Within Run" y el "Total CV%".

Muestra	n°	Media (pg/mL)	Within Run CV%	Total CV%
PS1	20	1410,102	5,1%	7,2%
PS2	20	824,239	5,2%	8,4%
PS3	20	483,272	5,7%	8,4%
PS4	20	257,171	6,8%	12,3%
PS5	20	127,102	10,4%	13,9%

### 11.3 Estudio del tipo de muestra

El uso de plasma con este kit se evaluó realizando la dosificación paralela entre suero y plasma perteneciente al mismo sujeto. Se utilizaron 20 sujetos diferentes.

Se investigó el plasma obtenido con EDTA, heparina de litio, heparina de sodio y tubos SST.

La interferencia se evaluó como "significativo" si causa una diferencia en la cuantificación (bias) de la muestra entre suero y plasma > 10%.

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos:

<b>Plasma</b>	<b>Bias</b>	<b>Interferencia</b>
EDTA plasma	referencia	/
Suero	9,1%	No
Suero - Tubos SST	6,4%	No
Plasma - Heparina de litio	5,1%	No
Plasma - Heparina de sodio	7,6%	No

Conclusión: después del estudio, las muestras de suero y plasma se pueden usar indistintamente con el kit Aldosterone ELISA.

## 11.4 Especificidad analítica

### 11.4.1 Interferencias

Las interferencias del kit con bilirrubina conjugada, hemoglobina y triglicéridos se probaron agregando la sustancia interferente a la muestra de suero y comparando la concentración obtenida con la misma muestra original.

Se analizaron muestras con diferente concentración inicial de Aldosterone.

La interferencia se evaluó como "significativa" si causa una diferencia en la concentración > 10% entre la muestra cargada y descargada.

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos:

Sustancia	Concentración	Interferencia
Triglicéridos	600 mg/dL	No
Bilirrubina conj.	33,1 mg/dL	No
Hemoglobina	6,6 mg/dL	No

Conclusión: después del estudio, no hay una interferencia significativa de bilirrubina conjugada, hemoglobina y triglicéridos en las concentraciones analizadas para el kit Aldosterone ELISA.

### 11.4.2 Reactividad cruzada

Los siguientes reactivos cruzados se agregaron a muestras de suero con una concentración de Aldosterona baja y alta. Las respectivas muestras descargadas se utilizaron como referencia.

La interferencia se evaluó como "significativa" si causa una diferencia en la cuantificación > 10% entre la muestra cargada y descargada.

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos:

Sustancia	Concentración	Interferencia
Corticosterona	0,1 µg/mL	No
Androsterona	5 µg/mL	No
Cortisona	0,1 µg/mL	No
Diidrotestosterone (DHT)	0,5 µg/mL	No
Estradiol	10 µg/mL	No
Estrona	10 µg/mL	No
Estriol	10 µg/mL	No
Testosterona	0,2 µg/mL	No
DHEA-S	10 µg/mL	No

## 11.5 Exactitud

### 11.5.1 Dilución

Se analizaron tres pares de muestras de suero (con una concentración de Aldosterona baja y alta) y 11 diluciones que cubren el rango bajo a alto.

El ensayo es lineal en el rango analizado de 85,8 -1520,9 pg/mL.

### 11.5.2 Recuperación

Se realizaron tres test utilizando 3 muestras de suero con una baja concentración de Aldosterona, cada una enriquecida con Estándar 5 en diferentes porcentajes.

La recuperación promedio en las tres muestras fue de 109%, 102% y 111%.

## 11.6 Correlación

Se analizaron 126 muestras de plasma-EDTA con el kit Aldosterone ELISA y con el kit de iSYS Aldosterone IDS (método de referencia).

La curva de regresión lineal es:

$$Y = 1,106 * X - 36,06$$

$$r^2 = 0,94$$

## 12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. El uso de los kits de prueba con analizadores y equipos similares debe ser validado. Cualquier cambio en el diseño, composición y procedimiento del test así como cualquier uso en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante no está autorizado; el usuario es responsable por tales cambios. El fabricante no es responsable por falsos resultados e incidentes por estas razones. El fabricante no es responsable de cualquier resultado por análisis visual de las muestras de pacientes.
- Solo para uso diagnóstico in-vitro.

- Todos los componentes de origen humano usados para la producción estos reactivos han sido probados para anticuerpos anti-VIH 1+2, anticuerpos anti-VHC y HBsAg y se han encontrado como no reactivos. Sin embargo, todos los materiales deben ser considerados y manipulados como potencialmente infecciosos.
- Materiales de origen animal utilizadas para la elaboración de este kit se obtuvieron a partir de animales sanos y de las proteínas de bovino se obtuvieron de los países no afectados por la EEB, pero estos materiales se deben utilizar como potencialmente infecciosos.
- No intercambiar reactivos o tiras de diferentes lotes de producción.
- Reactivos de otros fabricantes no deben ser usados junto con reactivos de este kit de prueba.
- No usar reactivos después de la fecha de expiración marcada en la etiqueta.
- Usar solo puntas de pipeta, dispensadores y material de laboratorio limpios.
- No intercambiar tapas roscas de viales de reactivos para evitar contaminación cruzada.
- Cerrar los viales de los reactivos herméticamente inmediatamente después del uso para evitar evaporación y contaminación microbiana.
- Después de la primera apertura y subsecuente almacenamiento verificar los viales de controles y conjugado para contaminación bacteriana antes de uso futuro.
- Para evitar contaminación cruzada y resultados falsamente elevados pipetear las muestras de pacientes y dispensar el conjugado sin salpicaduras exactamente en el fondo de los pozos.
- No usar muestras fuertemente hemolizadas o altamente lipémicas.
- Se requiere máxima precisión para el dispensado de los reactivos.
- Evitar la exposición del sustrato TMB a la luz solar directa, metales u oxidantes.
- Este método permite la determinación de Aldosterona de 41,5 pg/mL (LOD) a 2000 pg/mL.
- El sustrato de TMB contiene un irritante, que puede ser nocivo si es inhalado, ingerido o absorbido por la piel. Para evitar lesiones, evitar la inhalación, ingestión o contacto con la piel y los ojos.
- La solución de parada consiste en una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo y puede ser tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras, evitar contacto con la piel y los ojos.
- La adición de la solución de sustrato TMB inicia una reacción cinética, que es terminada por la adición de la solución de parada. Por lo tanto, el sustrato TMB y la solución de parada deben ser añadidos en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- Tener en cuenta las directrices para llevar a cabo el control de calidad en los laboratorios médicos por los controles de ensayo y / o pools de suero.
- Muestras con contaminación microbiana no debe ser utilizado en el ensayo. Muestras altamente hemolizadas o lipémicas tampoco deben ser utilizadas.
- Lectores de la placa miden verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los micropozos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados de ELISA, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles.
- Además de la solución sustrato inicia una reacción cinética, que es terminada por la adición de la solución de parada. Por lo tanto, la adición del sustrato y la solución de parada deben ser añadidos en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- El kit ELISA está diseñado únicamente para el personal calificado que esté familiarizado con buenas prácticas de laboratorio.
- El tratamiento con esteroides naturales o sintéticos pueden afectar los niveles sanguíneos de aldosterona.

### 12.1 Nota de seguridad para los reactivos que contienen sustancias peligrosas

Los reactivos pueden contener CMIT/MIT (3:1) (consulte el cap. 4.1)

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

#### Atención



H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261	Evitar respirar el aerosol.
P280	Llevar guantes/ prendas de protección
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante jabón agua.
P333+P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362+P364	Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Se puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad

### 12.2 Consideraciones de Eliminación

Los residuos de productos químicos y preparados se consideran generalmente como residuos peligrosos. La eliminación de este tipo de residuos está regulada por leyes y reglamentos nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o con las empresas de gestión de residuos, que le asesorarán sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

Para obtener información sobre los materiales de embalaje, consulte MATERIALES DE EMBALAJE.

## 13. INFORMACION PARA PEDIDOS

<b>REF</b>	DNOV012	Aldosterone	(96 Determinaciones)
------------	---------	-------------	----------------------

# PORTUGUÊS

## 1. INTRODUÇÃO

---

A aldosterona é uma hormona esteróide produzida pelo córtex adrenal na glândula supra-renal, sendo o mineralocorticóide mais potente em humanos, que regula o equilíbrio de sódio e potássio no sangue.

A secreção de aldosterona parece ser estimulada principalmente através do sistema renina-angiotensina.

Actuando sobre os receptores de mineralocorticóides (MR) das células principais dos ductos colectores dos rins, aumenta a permeabilidade da membrana celular apical (luminal) ao potássio e ao sódio e ativa as suas bombas basolaterais de Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup>, estimulando a hidrólise de ATP, reabsorvendo iões de sódio (Na<sup>+</sup>) e água para o sangue, e excretando iões de potássio (K<sup>+</sup>), para a urina. A aldosterona regula os níveis de bicarbonato do plasma (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e o seu equilíbrio ácido/base.

A aldosterona é responsável pela reabsorção de cerca de 2% do sódio filtrado nos rins.

Os níveis de aldosterona no plasma variam normalmente de acordo com a posição do corpo (em pé > deitado) e com a ingestão de sal. Os níveis globais de aldosterona no plasma apresentam um ritmo circadiano, que é semelhante mas menos acentuado que o do cortisol, com níveis de pico no início da manhã; cerca de 75% da produção diária é secretada entre as 04h00 e as 10:00h de cada dia. Os níveis relacionados com a idade tendem a diminuir desde o feto através da vida adulta.

Concentrações anormalmente elevadas de aldosterona no plasma podem ocorrer em adenomas, hiperaldosteronismo idiopático sensível aos glucocorticóides.

Uma secreção anormalmente baixa de aldosterona ocorre em várias situações como sejam formas de hiperplasia adrenal congénita com perdas de sal, nefropatia e acidose tubular renal.

## 2. UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

---

Método imunoenzimático competitivo colorimétrico para a determinação quantitativa de aldosterona no soro ou plasma humano.

## 3. PRINCÍPIO DO ENSAIO

---

Os poços de tiras de microtitulação são pré-revestidos com anticorpos anti-aldosterona (fase sólida). A aldosterona na amostra reage com o conjugado de HRP-aldosterona para a ligação dos anticorpos. Após a incubação, é realizada uma separação do conjugado não ligado através da lavagem da fase sólida. O complexo imune formado é visualizado por adição do substrato de tetrametilbenzidina (TMB), que origina um produto de cor azul. A intensidade da cor deste produto é **inversamente** proporcional à quantidade de aldosterona na amostra. O ácido sulfúrico é adicionado para parar a reacção. Isto produz uma cor amarela final. A absorção é lida a 450 nm usando um leitor de microplacas ELISA.

## 4. MATERIAIS

---

### 4.1 Reagentes fornecidos

- **Poços revestidos com Anti-Aldosterona:** 12 tiras de 8 poços separáveis revestidas com anti-Aldosterona, em bolsas de alumínio seláveis.
- **Solução de Paragem:** 1 frasco contendo 15 mL de ácido sulfúrico, 0.15 mol/L (evitar qualquer contacto com a pele).
- **Conjugado de Aldosterona:** 1 frasco contendo 15 mL de aldosterona marcada com peroxidase de rábano.
- **Solução de substrato TMB:** 1 frasco contendo 15 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0.26g/l, (evitar qualquer contacto com a pele).
- **Solução de lavagem conc.10x:** 1 frasco contendo 50 mL tampão Fosfato 0.2M pH 7.4
- **Controlo de Aldosterona A:** 1 frasco contendo 1 mL de solução de controlo específica por lote. A concentração está indicada no rótulo do frasco. Contém < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Controlo de Aldosterona B:** 1 frasco contendo 1 mL de solução de controlo específica por lote. A concentração está indicada no rótulo do frasco. Contém < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Calibradores de Aldosterona:** 6 frascos de 1 mL cada; contém < 0,01 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Calibrador 0: 0 pg/mL

Calibrador 1: 20 pg/mL

Calibrador 2: 80 pg/mL

Calibrador 3: 300 pg/mL

Calibrador 4: 800 pg/mL

Calibrador 5: 2000 pg/mL

### 4.2 Materiais fornecidos

- 1 Película de cobertura
- 1 Instruções de utilização

### 4.3 Materiais e Equipamento necessário

- Leitor de microplacas ELISA, equipado para medir absorvâncias a 450 nm, 620-630 nm
- Incubadora a 37 °C.
- Equipamento de lavagem de poços manual ou automático.
- Pipetas para medir volumes entre 10 e 1000 µL
- Misturador rotativo
- Água destilada.
- Tubos descartáveis
- Cronómetro

## 5. ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO

---

Os reagentes são estáveis até à data de validade indicada no rótulo se forem armazenados entre 2 e 8 °C em local escuro.

## 6. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

---

*É muito importante que todos os reagentes, amostras e controlos atinjam a temperatura ambiente (20...28 °C) durante pelo menos 30 minutos antes de iniciar o teste! No final do ensaio, imediatamente armazenar os reagentes a uma temperatura de 2-8 °C ; evitar a exposição prolongada à temperatura ambiente.*

### 6.1 Tiras revestidas separáveis

As tiras separáveis são revestidas com o anticorpo anti-Aldosterona e estão prontas a utilizar. Armazenar a 2...8 °C. Abrir a bolsa apenas quando esta estiver à temperatura ambiente. Após a retirada das tiras necessárias, fechar imediatamente as restantes no saco de alumínio com o desumidificante fornecido e armazenar a 2...8 °C; são estáveis até à data de validade.

### 6.2 Conjugado de Aldosterona

O Conjugado está pronto para uso.

### 6.3 Calibradores de Aldosterona

Colocar os calibradores num misturador rotativo durante pelo menos 5 minutos antes de usar.

Após a primeira utilização, os calibradores continuam a ser estáveis durante 6 meses se armazenados a 2...8 °C.

### 6.4 Controlos de Aldosterona

Os frascos contêm 1 mL de solução de controlo específica por lote. A concentração está indicada no rótulo.

### 6.5 Solução de Substrato TMB

O frasco contém 15 mL de uma mistura de tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogénio. O reagente está pronto a ser utilizado e deve ser armazenado a 2...8 °C resguardado da luz. A solução deve ser incolor ou ter uma leve coloração azulada. Se o substrato ficar azul, pode ter sido contaminado e deve ser eliminado.

### 6.6 Solução de Paragem

O frasco contém 15 mL de solução de ácido sulfúrico 0.15 mol/L. Esta solução está pronta a usar e deve ser armazenada a 2...8 °C.

### 6.7 Solução de Lavagem

Antes de usar, dilua o conteúdo do tampão de lavagem concentrado 10X "com água destilada até um volume de 500 mL. Para preparar volumes menores, respeite a razão de diluição de 1:10.

A solução de lavagem diluída é estável durante 30 dias a 2...8 °C.

Na solução de lavagem concentrada é possível observar a presença de cristais. Nesse caso, mexa à temperatura ambiente até que os cristais se dissolvam completamente. Para maior precisão, dilua o frasco inteiro da solução de lavagem concentrada em 500 mL, tomando cuidado para também transferir os cristais e, em seguida, agitar até que estejam completamente dissolvidos.

## 7. COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

---

A determinação de aldosterona pode ser realizada tanto em plasma como em soro humano.

- soro

Os tubos de SST (Serum Separation Tube) não interferem nos resultados e, portanto, podem ser usados sem cuidado.

- plasma

As amostras de plasma podem ser obtidas com EDTA, heparina de lítio e heparina sódica, sem qualquer interferência com o teste.

Se o ensaio for realizado no dia da recolha da amostra, esta deverá ser mantida a 2...8 °C; caso contrário, deve ser aliquoteada e armazenada congelada (-20 °C). Se as amostras forem armazenadas congeladas, ao descongelar as mesmas deve misturar bem antes de testar. Evitar congelação e descongelação repetidas.

Amostras com concentração acima de 2000 pg / mL não devem ser diluídas, mas devem ser relatadas como "> 2000 pg / mL".

## 8. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

---

### 8.1 Preparação do teste

Por favor, ler atentamente as instruções de utilização antes de realizar o teste. A fiabilidade dos resultados depende da adesão estrita ao as instruções de utilização, conforme descritas. Antes de começar o teste, o plano de distribuição e identificação das amostras e controlos deve ser cuidadosamente estabelecido. Selecionar o número necessário de tiras de microtitulação ou poços e colocá-los no suporte. A pipetagem das amostras não deverá demorar mais do que dez minutos de modo a evitar desvios no ensaio. Se for utilizada mais do que uma placa recomenda-se a repetição da curva de resposta à dose.

Reservar pelo menos:

1 poço (e.g. A1)	para o branco do substrato
2 poços (e.g. B1+C1)	para o calibrador 0
2 poços (e.g. D1+E1)	para o calibrador 1
2 poços (e.g. F1+G1)	para o calibrador 2
2 poços (e.g. H1+A2)	para o calibrador 3
2 poços (e.g. B2+C2)	para o calibrador 4
2 poços (e.g. D2+E2)	para o calibrador 5
2 poços (e.g. F2+G2)	para o controle A
2 poços (e.g. H2+A3)	para o controle B

*Recomenda-se a determinação dos calibradores, controles e amostras dos doentes em duplicado.*

Realizar todas as etapas do ensaio na ordem determinada e sem grandes atrasos entre as etapas.

Deve ser utilizada uma ponta descartável nova para cada calibrador e para cada amostra de doente.

Ajustar a incubadora para 37 °C.

1. Dispensar 50 µL dos calibradores, controles e amostras nos poços respectivos. Adicionar 100 µL do conjugado a cada poço. Deixar o poço A1 vazio para o branco do substrato.
2. Cobrir os poços com a película fornecida com o kit.
3. **Incubar durante 1 hora a 37 °C.**
4. Quando terminar a incubação, remover a película, aspirar o conteúdo dos poços e lavar cada poço três vezes com 300 µL de solução de lavagem. Evitar que os poços de reação transbordem.

**Nota importante:** durante cada ciclo de lavagem, agitar suavemente a placa por 5 segundos e remover o excesso batendo com a placa invertida em um papel absorvente .

**Máquina de lavar automática:** No caso de você usar um equipamento automático , lavar os poços de pelo menos 5 vezes .

*Nota: A lavagem é crítica! Lavagem insuficiente resulta em baixa precisão e valores de absorvância falsamente elevados.*

5. Dispensar 100 µL de Solução de Substrato TMB em todos os poços.
6. **Incubar durante exactamente 20 minutos à temperatura ambiente (+22 - +28 °C) e no escuro.**
7. Dispensar 100 µL de Solução de Paragem em todos os poços, pela mesma ordem e à mesma velocidade a que foi dispensada a Solução de Substrato TMB. *Agitar suavemente a microplaca. A cor azul desenvolvida durante o período de incubação passa a amarelo.*
8. Medir a absorvância (E) da amostra contra o branco a 450 nm contra um comprimento de onda de referência de 620-630 nm ou contra branco dentro de 5 minutos.

## 8.2 Medição

Ajustar o Leitor de Microplacas ELISA a **zero** usando o **branco substrato no poço A1**.

*Se - devido a razões técnicas – o leitor ELISA não puder ser ajustado a zero usando o branco substrato no poço A1, subtrair o valor da absorvância do poço A1 a todos os outros valores de absorvância medidos de forma a obter resultados fiáveis!*

**Medir a absorvância** de todos os poços a **450 nm** e registar os valores da absorvância para cada calibrador e amostra de doente.

Quando aplicável, calcular os **valores médios da absorvância** de todos os duplicados.

## 9. RESULTADOS

### 9.1 Cálculo dos Resultados

Calcular a média da absorvância para cada ponto da curva de calibração e para cada amostra.

Traçar o valor médio da absorvância dos calibradores contra a concentração. Desenhar a melhor curva possível entre os pontos. (ex: Logística de quatro parâmetros).

Interpoliar os valores das amostras na curva de calibração para obter os valores correspondentes das concentrações expressos em pg/mL.

### 9.2 Valores de referência

Para determinar os valores de referência para as amostras de soro / plasma, analisaram-se amostras de plasma-EDTA de 150 homens e mulheres adultos aparentemente saudáveis. A posição do paciente (posição vertical ou supina antes da coleta da amostra) é desconhecida.

Resultado:

Valores de referência soro / plasma
< 14,6 - 174 pg/mL

É importante notar que a determinação de uma faixa de valores esperados em um determinado método para uma população "normal" depende de muitos fatores, como a especificidade e a sensibilidade do método em uso, e a população em estudo. Portanto, cada laboratório deve considerar o intervalo especificado pelo fabricante como um guia geral e produzir seu próprio intervalo de valores calculado com base na estatística obtida pelo laboratório, onde a população local reside.

## 10. CONTROLO DE QUALIDADE

Cada laboratório deve testar os controlos de aldosterona de nível normal, alto e baixo para monitorizar o desempenho do ensaio. Esses controlos devem ser tratados como incógnitas, sendo os valores determinados em cada teste realizado. Os gráficos de controlo de qualidade devem ser guardados para acompanhar o desempenho dos reagentes. Devem ser utilizados outros métodos estatísticos pertinentes para determinar as tendências. Cada laboratório deve definir os limites aceitáveis para o desempenho do ensaio. Outros parâmetros que devem ser monitorados, incluem as intercepções dos calibradores em 80,50 e 20% relativamente à curva padrão para avaliar a reprodutibilidade entre ensaios. Além disso, a absorvância máxima deve ser consistente com a experiência adquirida. Desvios significativos da performance normal podem indicar mudança nas condições experimentais ou degradação dos reagentes do kit. Devem ser utilizados novos reagentes para determinar a causa destes desvios.

## 11. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

### 11.1 Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica foi estudada investigando o LOB (limite de branco), LOD (limite de detecção), LOQ (limite de quantificação) e a sensibilidade analítica (A.S.).

A tabela a seguir mostra os critérios do estudo e os resultados obtidos.

	<b>Critérios</b>	<b>Resultados</b>
LOB	60 réplicas de Cal 0, usadas como "brancas", foram feitas em 5 sessões diferentes	15,3
LOD	Seis amostras de baixo soro foram analisadas em 10 sessões diferentes.	41,5
LOQ	Seis amostras de baixo soro foram analisadas em 10 sessões diferentes.	79,1
A.S.	Testamos 20 réplicas de Cal 0 e 5 réplicas de Cal 1. A.S. foi calculado por regressão linear.	14,6

### 11.2 Precisão e reprodutibilidade

A precisão e a reprodutibilidade foram avaliadas pela verificação de 5 soros.

A tabela indica o "Within Run" e o "Total CV%".

Amostra	n°	médio (pg/mL)	Within Run CV%	Total CV%
PS1	20	1410,102	5,1%	7,2%
PS2	20	824,239	5,2%	8,4%
PS3	20	483,272	5,7%	8,4%
PS4	20	257,171	6,8%	12,3%
PS5	20	127,102	10,4%	13,9%

### 11.3 Estudo do tipo de amostra

O uso de plasma com este kit foi avaliado através da dosagem paralela entre soro e plasma pertencentes ao mesmo indivíduo. Vinte sujeitos diferentes foram utilizados.

O plasma obtido com EDTA, heparina de lítio, heparina sódica e tubos SST foi investigado.

A interferência foi avaliada como "significativa" se causar uma diferença na quantificação (viés) da amostra entre soro e plasma > 10%.

A tabela a seguir mostra os resultados obtidos:

<b>Plasma</b>	<b>Bias</b>	<b>interferência</b>
EDTA plasma	referencia	/
Soro	9,1%	não
Soro - Tubos SST	6,4%	não
Plasma - Heparina de lítio	5,1%	não
Plasma - Heparina sódica	7,6%	não

Conclusão: após o estudo, as amostras de soro e plasma podem ser usadas de forma intercambiável com o kit de ELISA para Aldosterona.

## 11.4 Especificidade analítica

### 11.4.1 Interferências

As interferências do kit com bilirrubina conjugada, hemoglobina e triglicérides foram testadas adicionando a substância interferente à amostra de soro e comparando a concentração obtida com a mesma amostra original.

Amostras com diferentes concentrações iniciais de aldosterona foram analisadas.

A interferência foi avaliada como "significativa" se causar uma diferença na concentração > 10% entre a amostra carregada e descarregada.

A tabela a seguir mostra os resultados obtidos:

Substância	Concentração	Interferência
Triglicéridos	600 mg/dL	não
Bilirrubina conj.	33,1 mg/dL	não
Hemoglobina	6,6 mg/dL	não

Conclusão: após o estudo, não houve interferência significativa da bilirrubina conjugada, hemoglobina e triglicérides nas concentrações testadas para o kit ELISA de Aldosterona.

### 11.4.2 Reatividade cruzada

Os seguintes reagentes cruzados foram adicionados a amostras de soro com uma concentração baixa e alta de aldosterona. As respectivas amostras baixadas foram usadas como referência.

A interferência foi avaliada como "significativa" se causar uma diferença na quantificação > 10% entre a amostra carregada e descarregada.

A tabela a seguir mostra os resultados obtidos:

Substância	Concentração	Interferência
Corticosterona	0,1 µg/mL	No
Androsterona	5 µg/mL	No
Cortisona	0,1 µg/mL	No
Diidrotestosterona (DHT)	0,5 µg/mL	No
Estradiol	10 µg/mL	No
Estrona	10 µg/mL	No
Estriol	10 µg/mL	No
Testosterona	0,2 µg/mL	No
DHEA-S	10 µg/mL	No

## 11.5 Precisão

### 11.5.1 Diluição

Três pares de amostras de soro (com baixa e alta concentração de Aldosterona) e 11 diluições abrangendo a faixa baixa a alta foram analisados.

O ensaio é linear no intervalo analisado de 85,8 -1520,9 pg / mL.

### 11.5.2 Recuperação

Três testes foram realizados usando 3 amostras de soro com baixa concentração de Aldosterona, cada uma enriquecida com o Calibrador 5 em diferentes porcentagens.

A recuperação média nas três amostras foi de 109%, 102% e 111%.

## 11.6 Correlação

Foram analisadas 126 amostras de plasma-EDTA com o kit Aldosterona ELISA e com o kit iSYS Aldosterona IDS (método de referência).

A curva de regressão linear é:

$$Y = 1,106 * X - 36,06$$

$$r^2 = 0,94$$

## 12. PRECAUÇÕES E AVISOS

- O procedimento do teste, as informações, as precauções e avisos nas instruções para utilização têm de ser rigorosamente seguidas. O uso destes kits de teste em analisadores e equipamentos similares tem que ser validada. Qualquer mudança na concepção, composição e procedimento de teste, assim como a sua utilização em combinação com outros produtos não aprovados pelo fabricante, não é autorizada; o utilizador final é o responsável por essas alterações. O fabricante não é responsável por resultados falsos e incidentes relacionados com estas razões. O fabricante não é responsável por quaisquer resultados obtidos através de análise visual das amostras dos pacientes.
- Apenas para uso em diagnóstico in-vitro.
- Todos os componentes de origem humana usados na produção destes reagentes foram testados para anticorpos anti-HIV1/2, anti-HCV e HBsAg e foram considerados não reactivos. No entanto, todos os materiais devem ainda assim, ser considerados como potencialmente infecciosos e manuseados como tal.

- Materiais de origem animal usados para a preparação deste kit foram obtidos de animais saudáveis e de proteínas bovinas foram obtidos de países não afetados pela BSE, mas esses materiais devem ser usados como potencialmente infecciosos.
- Não troque reagentes e tiras de diferentes lotes de produtos.
- Não deve utilizar reagentes de outros fabricantes junto com os reagentes deste kit de teste.
- Não use os reagentes após a data de validade indicada no rótulo.
- Use apenas pontas de pipetas, dispensadores e material de laboratório limpos.
- Não troque as tampas dos frascos de reagentes para evitar contaminação cruzada.
- Feche os frascos de reagente muito bem depois de usar para evitar evaporação e contaminação microbiana
- Após a primeira abertura e subsequente armazenamento, verifique se os frascos dos conjugados e controlos não foram contaminados antes de voltar a usá-los.
- Para evitar contaminação cruzada e resultados elevados falsos, pipete as amostras dos pacientes e dispense o conjugado de forma precisa e sem salpicar no fundo dos poços.
- Não utilizar amostras fortemente hemolisadas ou altamente lipémicas
- É necessária a máxima precisão na dispensação dos reagentes.
- Evitar a exposição do substrato TMB à luz solar directa, a metais ou oxidantes.
- Este método permite a determinação de Aldosterona de 41,5 pg/mL (LOD) a 2000 pg/mL.
- O substrato TMB contém uma substância irritante, que pode ser nociva se inalada, ingerida ou absorvida pela pele. Para prevenir lesões, evitar a inalação, ingestão ou contacto com os olhos e a pele.
- A Solução de Paragem consiste numa solução de ácido sulfúrico diluído. O ácido sulfúrico é venenoso e corrosivo e pode ser tóxico se ingerido. Para prevenir queimaduras químicas, evitar o contato com a pele e os olhos.
- A adição da solução de Substrato TMB inicia uma reacção cinética, que é interrompida pela adição da Solução de Paragem. Portanto, o substrato TMB e Solução de Paragem devem ser adicionados na mesma sequência para eliminar desvios de tempo durante a reacção.
- Devem cumprir-se as diretrizes para a realização de controlo de qualidade em laboratórios médicos testando controlos e/ou mistura de soros.
- Não devem ser utilizadas no ensaio amostras microbiologicamente contaminadas. Amostras altamente lipémicas ou hemolisadas também não devem ser usadas.
- Os leitores de placas fazem a medição verticalmente. Não tocar no fundo dos poços.
- A remoção de líquido incompleta ou imprecisa dos poços poderia influenciar a precisão do ensaio e / ou aumentar o fundo. Para melhorar o desempenho do conjunto em sistemas automáticos é recomendado para aumentar o número de lavagens.
- É importante que o tempo de reacção em cada poço seja constante para obter resultados reproduzíveis.
- O ELISA foi concebido apenas para pessoal qualificado, familiarizado com as boas práticas laboratoriais.
- O tratamento com esteróides naturais ou sintéticos pode alterar os níveis de aldosterona no sangue.

### 12.1 Nota de segurança para reagentes que contenham substâncias perigosas

Os reagentes podem conter CMIT/MIT (3:1) (ver capítulo 4.1)

Portanto, as seguintes advertências de perigo e recomendações de prudência aplicam-se.

#### Atenção



H317	Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.
P261	Evitar respirar os aerossóis.
P280	Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção.
P302+P352	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com sabão água.
P333+P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.
P362+P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Mais informações podem ser encontradas na ficha de dados de segurança.

### 12.2 Considerações de eliminação

Os resíduos de produtos químicos e preparações são geralmente considerados como resíduos perigosos. A eliminação deste tipo de resíduos é regulamentada através de leis e regulamentos nacionais e regionais. Contacte as suas autoridades locais ou empresas de gestão de resíduos que darão conselhos sobre como eliminar os resíduos perigosos.

Para informações sobre os materiais de embalagem, consulte MATERIAIS DE EMBALAGEM.

## 13. INFORMAÇÃO DE PEDIDO

---

<b>REF</b>	DNOV012	Aldosterone	(96 Determinações)
------------	---------	-------------	--------------------


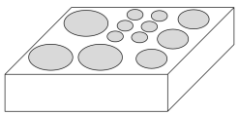












## BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA

- Himathongkam, T. et al., Potassium-Aldosterone-Renin Interrelationships. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41/1 :153-159, 1975.
- Lun, S. et al., A Direct Radioimmunoassay for Aldosterone in Plasma. *Clin. Chem.* 29/2:268-271, 1983.
- Carledge, S. and Lowson, N., Aldosterone and Renin Measurements. *Ann. Clin. Biochem.* 37:262-278, 2000.
- Sequeira, S. J. et al., Evaluation of an Aldosterone Radioimmunoassay: The Renin-Angiotensin-Aldosterone Axis as a function of Sex and Age. *Ann. Clin. Chem.* 37/11:1987-1989, 1991.
- Miller, M.A. et al., Extraction Method and Nonextracted Kit Comparison for measuring Plasma Aldosterone. *Clin. Chem.* 43/10: 1995-1997, 1997.
- Stabler and Siegel, A.L., Chemoluminescence Immunoassay of Aldosterone in serum. *Clin. Chem.* 37/11: 1987-1989, 1991.
- Vallotton M. B., Primary Aldosteronism. Part 1. Diagnosis of Primary Hyperaldosteronism. *Clin. Endocrinol.* 45: 47-52, 1996.
- Oelkers, W. et al., Diagnosis, Therapy Surveillance in Addison's Disease: Rapid Adrenocorticotropin (ACTH) Test and Measurement of Plasma ACTH, Renin Activity, and Aldosterone . *J. Clin. Endocrinol Metab.* 75: 259-264, 1992.
- Ad Dujaili, E.A.S. and Edwards, C. R. W., Optimization of a direct Radioimmunoassay for Plasma Aldosterone. *J. Steroid Biochem.* 14: 481-487, 1981.
- Corry, D. B. and Tuck, M. L., Secondary Aldosteronism. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 24: 511-528, 1995.
- Raizman E. et al, *Clinical Chemistry* 61:8, 1022-1027 (2015)
- Funder JW et al, *J. Clin. Endocrinol Metab.*, 93(9):3266-3281 (2008)

## PACKAGING MATERIALS / VERPACKUNGSMATERIALIEN / MATERIELS D'EMBALLAGE / MATERIALES DE EMBALAJE / MATERIAIS DE EMBALAGEM

 <p>PAP 21</p>	 <p>PAP 21</p>	 <p>PAP 22</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center; width: fit-content; margin: 0 auto;">MTP</div>  <p>ALU / LDPE 90</p>
---	---	--	--

**SYMBOLS KEY / SYMBOLSCHLÜSSEL / EXPLICATION DES SYMBOLES / SÍMBOLOS / TABELA DE SÍMBOLOS**

	Manufactured by / Hergestellt von/ Fabriqué par/ Fabricado por / Fabricado por
<b>IVD</b>	In Vitro Diagnostic Medical Device / In Vitro Diagnosticum/ Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Producto para diagnóstico In vitro / Dispositivo Médico para Diagnóstico In-Vitro
<b>LOT</b>	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de lot / Número de lote / Número de lote
	Expiration Date / Verfallsdatum / Date de péremption / Fecha de caducidad / Data de Validade
	Storage Temperature/ Lagertemperatur / Température de conservation / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de Armazenamento
	Keep away from sunlight / Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen / Protéger de rayonnement solaire / Mantener alejado de la luz solar / Manter protegido da luz solar
<b>CE</b>	CE Mark / CE-Kennzeichnung / Marquage CE / Marca CE / Marca CE
<b>UDI</b>	Unique Device Identifier / Eindeutige Produktidentifizierung / identification unique des dispositifs / identificación única del producto / identificação única dos dispositivos
<b>REF</b>	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence du catalogue / Número de Catálogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter la notice d'utilisation / Consulte las Instrucciones de Uso / Consultar as Instruções de Utilização
<b>MTP</b>	Microtiterplate / Mikrotiterplatte / Plaque de Microtitrage / Placa de Microtitulaci3n / Placa de Microtitula33o
<b>CONJ</b>	Conjugate/ Konjugat/ Conjugué/ Conjugado / Conjugado
<b>CONTROL A</b>	Control A / Kontrolle A / Contrôle A / Control A / Controle A
<b>CONTROL B</b>	Control B / Kontrolle B / Contrôle B / Control B / Controle B
<b>CAL</b>	Standard or Calibrator / Standard oder Kalibrator / Standard o Etalon / Estándar o Calibrador / Standard ou Calibrador
<b>SOLN STOP</b>	Stop solution/ Stopplösung/ Solution d'arrêt/ Soluci3n de parada / Solu33o de Bloqueio
<b>SUB TMB</b>	TMB Substrate solution/ TMB-Substratlösung/ Substrat TMB/ Soluci3n substrato TMB / Solu33o substrato TMB
<b>WASH BUF 10x</b>	Washing solution 10x concentrated / Waschlösung 10x konzentriert / Tamponde lavage concentré 10 x / Tampone di Lavaggioconcentrado x10 / Tamp3o3de lavagem concentrada 10x
	Contains sufficient for "n" tests/ Ausreichend für "n" Tests/ Contenu suffisant pour "n" tests/ Contenido suficiente para "n" tests / Conteúdo suficiente para "n" testes

## SCHEME OF THE ASSAY

Aldosterone

### Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.  
 Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls.  
 Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

### Assay Procedure

	Substrate blank	Standard 0 - 5	Control A + B	Sample
Standard 0 - 5	-	50 µL	-	-
Control A + B	-	-	50 µL	-
Sample	-	-	-	50 µL
Conjugate	-	100 µL	100 µL	100 µL
Cover wells with foil supplied in the kit <b>Incubate for 1 hour at 37 °C</b> Wash each well three times with <b>300 µL</b> diluted Wash Solution <b>In case you use automatic equipment, wash the wells at least 5 times.</b>				
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
<b>Incubate for exactly 20 min at room temperature in the dark</b>				
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Shake the microplate gently Photometric measurement at 450 nm, 620-630 nm				



**Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH**

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-Mail: [info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com](mailto:info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com)

Website: [clinical.goldstandarddiagnostics.com](http://clinical.goldstandarddiagnostics.com)

Date of issue: 2024-04-24  
 DNOV012\_ALD\_IFU\_rev01\_fromLot\_6086AN