

---

**Instructions for use**  
**Serotonin ELISA**

**REF**

**BA E-8900**



**IVD**

**CE**

## 1. Introduction

### 1.1 Intended use and principle of the test

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of Serotonin in serum, urine and platelets.

In the first step, Serotonin is quantitatively acylated.

The subsequent competitive ELISA kit uses the microtiter plate format. The antigen is bound to the solid phase of the microtiter plate. The acylated standards, controls and samples and the solid phase bound analyte compete for a fixed number of antiserum binding sites. After the system is in equilibrium, free antigen and free antigen-antiserum complexes are removed by washing. The antibody bound to the solid phase is detected by an anti-rabbit IgG-peroxidase conjugate using TMB as a substrate. The reaction is monitored at 450 nm.

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

### 1.2 Clinical application

Serotonin (5-hydroxytryptamine) is an intermediate product of tryptophan metabolism and is located primarily in the enterochromaffin cells of intestine (EC-cells), serotonergic neurons of the brain, platelets of the blood and is well established as a neurotransmitter in the central nervous system. EC-cell production accounts for 80% of the body's serotonin content. Serotonin is predominately metabolized to 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), which is excreted by the kidneys.

Nearly all of the serotonin in circulating blood is concentrated in platelets. Altered concentrations of circulating serotonin have been implicated in several pathological conditions including chronic tension, headache, schizophrenia, hypertension, Huntington's disease, Duchenne's muscular dystrophy and early acute appendicitis.

The determination of serum serotonin levels is of high clinical significance for diagnostic assessment of carcinoid syndrome. An increasing interest in the determination of serotonin in platelets including uptake and release kinetics is expected in the near future.

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as under point "Procedural cautions, guidelines and warnings". Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of the patient.

Only in cases where the laboratory results are in an acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient it can be used for therapeutic consequences.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

## 2. Procedural cautions, guidelines, warnings and limitations

### 2.1 Procedural cautions, guidelines and warnings

- (1) This kit is intended for professional use only. Users should have a thorough understanding of this protocol for the successful use of this kit. Only the test instruction provided with the kit is valid and has to be used to run the assay. Reliable performance will only be attained by strict and careful adherence to the instructions provided.
- (2) This assay was validated for a certain type of sample as indicated in *Intended Use* (please refer to Chapter 1). Any off-label use of this kit is in the responsibility of the user and the manufacturer cannot be held liable.
- (3) The principles of Good Laboratory Practice (GLP) have to be followed.
- (4) In order to reduce exposure to potentially harmful substances, wear lab coats, disposable protective gloves and protective glasses where necessary.
- (5) All kit reagents and specimens should be brought to room temperature and mixed gently but thoroughly before use. Avoid repeated freezing and thawing of reagents and specimens.
- (6) For dilution or reconstitution purposes, use deionized, distilled, or ultra-pure water.
- (7) The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch with desiccant and used in the frame provided.
- (8) Duplicate determination of sample is highly recommended to be able to identify potential pipetting errors.
- (9) Once the test has been started, all steps should be completed without interruption. Make sure that the required reagents, materials and devices are prepared ready at the appropriate time.
- (10) Incubation times do influence the results. All wells should be handled in the same order and time intervals.
- (11) To avoid cross-contamination of reagents, use new disposable pipette tips for dispensing each reagent, sample, standard and control.
- (12) A calibrator curve must be established for each run.
- (13) The controls should be included in each run and fall within established confidence limits. The confidence limits are listed in the QC-Report.

- (14) Do not mix kit components with different lot numbers within a test and do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- (15) Avoid contact with Stop Solution containing 0.25 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns. In case of contact with eyes or skin, rinse off immediately with water.
- (16) TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them.
- (17) For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets (SDS). The Safety Data Sheet for this product is made available directly on the website of the manufacturer or upon request.
- (18) The expected reference values reported in this test instruction are only indicative. It is recommended that each laboratory establishes its own reference intervals.
- (19) The results obtained with this test kit should not be taken as the sole reason for any therapeutic consequence but have to be correlated to other diagnostic tests and clinical observations.
- (20) Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed of according to national regulations.

## 2.2 Limitations

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

### 2.2.1 Interfering substances

#### Serum/Plasma

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

#### 24-hour urine

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

### 2.2.2 Drug interferences

Please refer to point "Sample collection and storage".

### 2.2.3 High-Dose-Hook effect

No hook effect was observed in this test.

## 3. Storage and stability

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

## 4. Materials

### 4.1 Contents of the kit

**BA D-0023**      **REAC-TUBES**      **Reaction Tubes \*)**- Ready to use

Contents:      Reaction Tubes in a resealable pouch

Volume:      2 x 50 tubes

\*) Instead of the Reaction Tubes, it is also possible to use 48 wells microtiter plates for the sample preparation and acylation (please refer to 6.2). These plates (BA D-0033) are available upon request.

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

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

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

**BA E-0045**      **CONJUGATE**      **Enzyme Conjugate** - Ready to use

Contents:      Goat anti-rabbit immunoglobulins conjugated with peroxidase

Volume:      1 x 12 ml/vial, red cap

**BA E-0055**      **SUBSTRATE**      **Substrate** - Ready to use

Contents:      Chromogenic substrate containing tetramethylbenzidine, substrate buffer and hydrogen peroxide

Volume:      1 x 12 ml/vial, black cap

**BA E-0080** **STOP-SOLN** **Stop Solution** - Ready to use

Contents: 0.25 M sulfuric acid  
 Volume: 1 x 12 ml/vial, light grey cap  
 Hazards identification: 

H290 May be corrosive to metals.  
 H314 Causes severe skin burns and eye damage.

**BA E-0931** **SER 5-HIAA** **Serotonin Microtiter Strips** - Ready to use

Contents: 1 x 96 well (12x8) antigen precoated microwell plate in a resealable pouch with desiccant

**BA E-8910** **SER-AS** **Serotonin Antiserum** - Ready to use

Contents: Rabbit anti-serotonin antibody, blue coloured  
 Volume: 1 x 12 ml/vial, blue cap

**Standards and Controls** - Ready to use

Cat. no.	Component	Colour/Cap	Concentration ng/ml	Concentration nmol/l	Volume/Vial
<b>BA R-8901</b>	<b>STANDARD A</b>	white	0	0	4 ml
<b>BA R-8902</b>	<b>STANDARD B</b>	light yellow	15	85.1	4 ml
<b>BA R-8903</b>	<b>STANDARD C</b>	orange	50	284	4 ml
<b>BA R-8904</b>	<b>STANDARD D</b>	dark blue	150	851	4 ml
<b>BA R-8905</b>	<b>STANDARD E</b>	light grey	500	2 840	4 ml
<b>BA R-8906</b>	<b>STANDARD F</b>	black	2 500	14 175	4 ml
<b>BA R-8951</b>	<b>CONTROL 1</b>	light green	Refer to vial labels for expected value and acceptable range!		4 ml
<b>BA R-8952</b>	<b>CONTROL 2</b>	dark red			4 ml

Conversion: Serotonin (ng/ml) x 5.67 = Serotonin (nmol/l)

Contents: TRIS buffer with non-mercury preservatives, spiked with defined quantity of serotonin

**BA E-8912** **ACYL-REAG** **Acylation Reagent** - Ready to use

Contents: Acylation reagent in dimethylsulfoxide  
 Volume: 1 x 3 ml/vial, green cap

**BA E-8911** **ACYL-BUFF** **Acylation Buffer** - Ready to use

Contents: TRIS buffer with non-mercury preservative  
 Volume: 1 x 55 ml/vial, light grey cap

**4.2 Additional materials and equipment required but not provided in the kit**

- Calibrated precision pipettes to dispense volumes between 25 – 500 µl
- Microtiter plate washing device (manual, semi-automated or automated)
- ELISA reader capable of reading absorbance at 450 nm and if possible 620 - 650 nm
- Absorbent material (paper towel)
- Water (deionized, distilled, or ultra-pure)
- Vortex mixer

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

**5. Sample collection and storage**

Foods or liquids containing serotonin such as pineapple, eggplant, avocados, bananas, currants, kiwis, melon, mirabelles, plums, peaches chocolate, gooseberries, tomatoes, or walnuts, should be avoided 2 days before and including the day of the sample collection (24-hour urine). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs) influence serotonin levels. People who are taking such medications should consult with their doctor before specimen collection.

**Repeated freezing and thawing of the samples should be avoided.**

## Serum

Collect blood by venipuncture (monovette or vacuette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation according to manufacturer's instructions at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time. Haemolytic and especially lipemic samples should not be used for the assay.

Storage: up to 6 hours at 2 - 8 °C, for longer period (up to 6 month) at -20 °C.

## Urine

Spontaneous or 24-hour urine, collected in a bottle containing 10 - 15 ml of 6 M HCl, should be used.

Determine the total volume of urine excreted during a period of 24 h for calculation of the results.

Storage: up to 24 hours at 2 - 8 °C, for longer periods (up to 6 months) at -20 °C.

Avoid exposure to direct sunlight.

## Platelets

More than 98 percent of the circulating serotonin is located in the platelets and is released during blood clotting. Blood must be collected by venipuncture according to manufacturer's instructions in plastic tubes (monovette or vacuette) containing EDTA or Citrate as anticoagulant.

To obtain platelet-rich plasma (PRP) the samples are centrifuged for 10 minutes at room temperature (200 x g). Transfer the supernatant to another tube and count the platelets.

The platelet pellet is obtained by adding 800 µl of physiological saline to 200 µl of PRP (containing between 350,000 - 500,000 platelets/µl) and centrifugation (4,500 x g, 10 minutes at 4 °C). The supernatant is then discarded.

200 µl of water (deionized, distilled, or ultra-pure) is added to the pellet and mixed thoroughly on a vortex mixer. This suspension can be stored frozen for several weeks at < -20 °C.

After thawing of the frozen samples, centrifuge at 10,000 x g for 2 minutes at room temperature.

**25 µl** of the supernatant is used for the acylation reaction.

▲ For the determination of Serotonin in **platelet-poor plasma** and **cerebrospinal fluid** the Serotonin Research™ ELISA (for details contact your local supplier) should be used.

## 6. Test procedure for serum, urine and platelets

Allow all reagents and samples to reach room temperature. The measurement in duplicates is recommended. It is recommended to number the strips of the microwell plate before usage to avoid any mix-up.

The binding of the antisera and the enzyme conjugates and the activity of the enzyme used are temperature dependent, and the extinction values may vary if a thermostat is not used. The higher the temperature, the higher the extinction values will be. Corresponding variations also apply to the incubation times. The optimal temperature during the Enzyme Immunoassay is between 20 - 25 °C.

### 6.1 Preparation of reagents

#### Wash Buffer

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

Storage: 1 month at 2 - 8 °C

#### Acylation Reagent

The Acylation Reagent (BA E-8912) has a freezing point of 18.5 °C. To ensure that the Acylation Reagent is liquid when being used, it must be ensured that the Acylation Reagent has reached room temperature and forms a homogeneous, crystal-free solution before being used.

#### Serotonin Microtiter Strips

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

### 6.2 Sample preparation and acylation of serum, urine and platelets

1.	Pipette <b>25 µl</b> of <b>standards, controls</b> and <b>serum, urine</b> or <b>platelets</b> into the respective <b>Reaction Tubes</b> .
2.	Add <b>500 µl</b> of <b>Acylation Buffer</b> to all tubes.
3.	Add <b>25 µl</b> of <b>Acylation Reagent</b> to all tubes.
4.	<b>Mix thoroughly</b> and <b>incubate</b> for <b>15 min</b> at <b>RT</b> (20 - 25 °C).
▲	Take <b>25 µl</b> of the <b>prepared standards, controls and samples</b> for the Serotonin ELISA

### 6.3 Serotonin ELISA

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

<b>1.</b>	Pipette <b>25 µl</b> of the <b>acylated standards, controls and samples</b> into the appropriate wells of the <b>Serotonin Microtiter Strips</b> .
<b>2.</b>	Pipette <b>100 µl</b> of the <b>Serotonin Antiserum</b> into all wells.
<b>3.</b>	Incubate <b>30 min at RT</b> (20 – 25 °C) on a <b>shaker</b> (approx. 600 rpm). <i>Without usage of a shaker: shake the <b>Serotonin Microtiter Strips</b> shortly by hand and incubate for <b>1 h at RT</b> (20 – 25 °C).</i>
<b>4.</b>	Discard or aspirate the contents of the wells. Wash the plate <b>3 x</b> by adding <b>300 µl</b> of <b>Wash Buffer</b> , <b>discarding</b> the content and <b>blotting dry each time</b> by tapping the inverted plate on absorbent material.
<b>5.</b>	Pipette <b>100 µl</b> of the <b>Conjugate</b> into all wells.
<b>6.</b>	Incubate for <b>15 min at RT</b> (20 – 25 °C) on a <b>shaker</b> (approx. 600 rpm). <i>Without usage of a shaker: incubate for <b>15 min at RT</b> (20 – 25 °C).</i>
<b>7.</b>	Discard or aspirate the contents of the wells. Wash the plate <b>3 x</b> by adding <b>300 µl</b> of <b>Wash Buffer</b> , <b>discarding</b> the content and <b>blotting dry each time</b> by tapping the inverted plate on absorbent material.
<b>8.</b>	Pipette <b>100 µl</b> of the <b>Substrate</b> into all wells.
<b>9.</b>	Incubate for <b>15 ± 2 min at RT</b> (20 – 25 °C) on a <b>shaker</b> (approx. 600 rpm). <i>Without usage of a shaker: incubate for <b>15 min ± 2 min at RT</b> (20 – 25 °C).</i> <b>Avoid exposure to direct sunlight!</b>
<b>10.</b>	Add <b>100 µl</b> of the <b>Stop Solution</b> to each well and shake the microtiter plate to ensure a homogeneous distribution of the solution.
<b>11.</b>	<b>Read</b> the absorbance of the solution in the wells within 10 minutes, using a microplate reader set to <b>450 nm</b> (if available a reference wavelength between 620 nm and 650 nm is recommended).

### 7. Calculation of results

Measuring range	Serotonin
	10.2 – 2 500 ng/ml

The calibration curve is obtained by plotting the absorbance readings (calculate the mean absorbance) of the standards (linear, y-axis) against the corresponding standard concentrations (logarithmic, x-axis). Use a non-linear regression for curve fitting (e.g. spline, 4- parameter, akima).

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

The concentrations for **urine** and **serum samples** can be read directly from the calibration curve.

#### Calculation of serotonin in platelets

The content of serotonin in platelets is referred to 10<sup>9</sup> platelets.

*Illustrative example:*

Measured Serotonin concentration: 100 ng/ml

Number of the platelets in the PRP: 300 000 / µl = 0.3 x 10<sup>9</sup> platelets/ml with serotonin content of 100 ng.

The resulting serotonin content in the platelets is:

333 ng/ 10<sup>9</sup> platelets (100 ng serotonin x 1.0 x 10<sup>9</sup> / 0.3 x 10<sup>9</sup>)

#### Conversion

Serotonin (ng/ml) x 5.67 = Serotonin (nmol/l)

#### Expected reference values

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

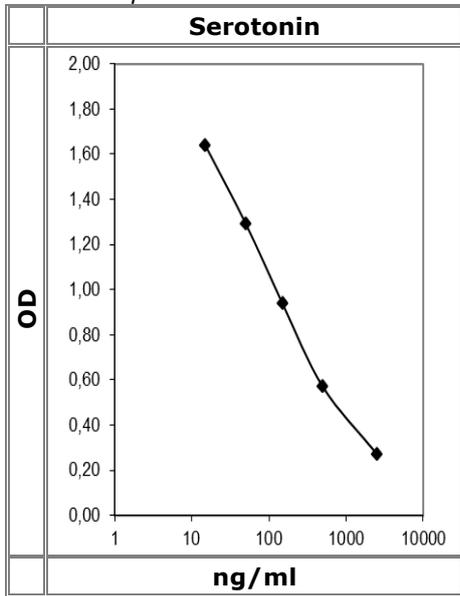
	Serotonin
Serum	70 – 270 ng/ml
24-hour urine	50 - 250 µg/24h
Serotonin in platelets	500 - 950 ng/10 <sup>9</sup> platelets

### 7.1 Quality control

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

### 7.2 Typical standard curve:

**▲** This example is a mean of 11 different runs; do not use for calculation!



### 8. Assay characteristics

<b>Sensitivity</b>	Limit of Detection (LOD) Limit of Quantitation (LOQ)	6.2 ng/ml 10.2 ng/ml
--------------------	---	-------------------------

<b>Analytical Specificity (Cross Reactivity)</b>	<b>Substance</b>	<b>Cross Reactivity (%)</b>
	Tryptamine	0.05
	Melatonin	0.08
	5-Hydroxyindole acetic acid	< 0.014
	Phenylalanine	< 0.014
	Histidine	< 0.019
	Tyramine	< 0.018
	5-Hydroxytryptophane	< 0.014

<b>Precision</b>							
<b>Intra-Assay</b>				<b>Inter-Assay</b>			
	Sample	Range (ng/ml) mean ± SD	CV (%)		Sample	Range (ng/ml) mean ± SD	CV (%)
Serotonin Urine (n = 40)	1	140.7 ± 16.3	11.6	Serotonin Urine (n = 15)	1	126.1 ± 14.2	11.3
	2	421.2 ± 38.6	9.2		2	414.5 ± 48.6	11.7
	3	1560 ± 215.3	13.8		3	1343 ± 200.2	14.9
Serotonin Serum (n = 20)	1	101.3 ± 9.6	9.7	Serotonin Serum (n = 7)	1	83.1 ± 10.3	12.4
	2	246.8 ± 31.2	12.6		2	244.3 ± 25.4	10.4
	3	667.5 ± 71.6	10.8				

<b>Linearity</b>			Range ng/ml	Serial dilution up to	Mean Linearity (%)	Range (%)
	Serotonin	Urine	30 - 3500	1:65	100	88 - 118
		Serum	40 - 3000	1:33	96	80 - 113

Recovery			Mean (%)	Range (%)	% Recovery after spiking
	Serotonin	Urine	96	74 - 105	
		Serum	108	89 - 126	

Method comparison versus RIA*	Urine Serum	$y = 0,94x + 19.58; R^2 = 0,98$ $y = 0,85x + 33.18; R^2 = 0,97$
-------------------------------	----------------	--

\*Commercial available RIA

## 9. References/Literature

- (1) Oliveira et al. Disturbances of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and energy metabolism in early CKD: effect of phosphate binders. *Nephrol Dial Transplant*, 28(10):2510-2517 (2013)
- (2) Shahin et al. Detection of Plasma and Urinary Monoamines and Their Metabolites in Nonsegmental Vitiligo. *Acta Dermatovenerol Croat*, 20(1):14-20 (2012)
- (3) Ciprandi et al. Serotonin in Allergic Rhinitis: a Possible Role for Behavioural Symptoms, 10(3):183-188 (2011)

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

### Symbols:

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

## 1. Einleitung

### 1.1 Verwendungszweck und Testprinzip

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Serotonin in Serum, Urin und Thrombozyten.

Im Verlauf der Probenvorbereitung wird das Serotonin zu einem N-Acyl-Derivat modifiziert.

Der sich anschließende kompetitive ELISA basiert auf dem Mikrotiterplattenformat. Das Antigen ist an die feste Phase gebunden. Die acylierten Standards, Kontrollen und Proben und die an die Festphase gebundenen Antigene konkurrieren um die vorhandenen Bindungsstellen der Antikörper. Nachdem das System im Gleichgewicht ist, werden die freien Antigene und die freien Antigen-Antikörper-Komplexe durch Waschen entfernt. Der an die Festphase gebundene Antigen-Antikörper-Komplex wird mit einem enzymmarkierten Antikörper komplexiert und mit einem Substrat durch eine Farbreaktion nachgewiesen. Die Reaktion wird bei 450 nm gemessen.

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

### 1.2 Klinische Anwendung

Serotonin (5-Hydroxytryptamin) ist ein Intermediärprodukt des Tryptophanstoffwechsels und ein gut untersuchter Neurotransmitter und kann in hohen Konzentrationen in den enterochromaffinen Zellen des Darms (EC-Zellen), den serotonergen Neuronen des Gehirns und den Thrombozyten nachgewiesen werden. Ungefähr 80% des gesamten Serotonins wird dabei in den EC-Zellen gebildet. Serotonin wird hauptsächlich zu 5-Hydroxyindol-Essigsäure (5-HIAA) abgebaut, das danach über die Nieren ausgeschieden wird.

Im Blutkreislauf befindet sich der weitaus größte Teil des Serotonins in den Blutplättchen. Veränderte Serotoninspiegel des peripheren Blutes wurden sowohl bei Serotonin als auch psychischen Erkrankungen berichtet. Erhöhte Konzentrationen waren bei Migräne, Schizophrenie, der essentiellen Hypertonie, Huntington's Chorea, Duchenne's Muskeldystrophie und akuter Blinddarmentzündung nachweisbar.

Große klinische Bedeutung hat die Serotoninbestimmung im Serum für die diagnostische Abklärung des Karzinoidsyndroms. Eine zunehmende Bedeutung ist für die Bestimmung von Serotonin in Thrombozyten - einschließlich entsprechender Aufnahme- und Freisetzungskinetiken - zu erwarten.

Therapeutische Konsequenzen dürfen niemals allein auf Grund von Laborwerten herangezogen werden, auch wenn diese Werte in Übereinstimmung mit den Qualitätskriterien der Methode beurteilt werden. Jedes Laborergebnis trägt immer nur zu einem Teil des klinischen Bildes bei.

Nur wenn die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem klinischen Gesamtbild stehen, dürfen daraus therapeutische Konsequenzen abgeleitet werden.

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

## 2. Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen

### 2.1 Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen

- (1) Dieses Kit ist nur für den gewerblichen Gebrauch. Für eine erfolgreiche Anwendung dieses Kits benötigen die Anwender ein umfassendes Verständnis dieses Protokolls. Einzig die im Kit enthaltene Testanleitung ist gültig und bei der Durchführung des Assays zu verwenden. Für eine zuverlässige Leistung müssen die mitgelieferten Anweisungen genau und sorgfältig befolgt werden.
- (2) Dieser Assay wurde für die unter *Verwendungszweck* (siehe Kapitel 1) angegebene Probenart validiert. Jede nicht zugelassene Anwendung dieses Kits obliegt der Verantwortung des Anwenders und entbindet den Hersteller von jeglicher Haftung.
- (3) Die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) sind zu befolgen.
- (4) Bei Bedarf Laborkittel, geeignete Einweghandschuhe und Schutzbrille tragen, um die Exposition gegenüber potenziell gesundheitsgefährdenden Stoffen zu reduzieren.
- (5) Alle Reagenzien des Kits sowie die Proben sollten vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig aber gründlich gemischt werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Reagenzien und Proben vermeiden.
- (6) Wenn die Verdünnung oder Rekonstitution mit Wasser erfolgen soll, hierfür deionisiertes, destilliertes oder hochreines Wasser verwenden.
- (7) Die Mikrotiterplatte verfügt über abbrechbare Streifen. Ungenutzte Vertiefungen müssen bei 2 °C bis 8 °C mit Trockenmittelbeutel im verschlossenen Folienbeutel gelagert und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden.
- (8) Es ist sehr empfehlenswert, eine Doppelbestimmung der Proben durchzuführen, um mögliche Pipettierfehler erkennen zu können.
- (9) Sobald der Test begonnen wurde, sollten alle Schritte ohne Unterbrechung ausgeführt werden. Es muss dafür gesorgt werden, dass die erforderlichen Reagenzien, Materialien und Geräte zur vorgesehenen Zeit einsatzbereit sind.

- (10) Die Inkubationszeiten haben Einfluss auf die Ergebnisse. Alle Vertiefungen sollten in der gleichen Reihenfolge und zeitlichen Abfolge behandelt werden.
- (11) Zur Vermeidung einer Kontamination der Reagenzien ist bei jeder Abgabe eines Reagenzes, einer Probe, eines Standards und einer Kontrolle eine neue Einwegpipettenspitze zu verwenden.
- (12) Bei jeder Testanwendung muss eine Kalibrierkurve erstellt werden.
- (13) Bei jeder Testanwendung sollten Kontrollen mitgetestet werden, deren Werte innerhalb der bekannten Vertrauensgrenzen liegen müssen. Die gültigen Vertrauensgrenzen können dem QC-Bericht entnommen werden, der dem Kit beiliegt.
- (14) Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Chargenbezeichnungen nicht im selben Test verwenden. Reagenzien nach dem auf dem Kitetikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr benutzen.
- (15) Kontakt mit der Stopplösung vermeiden, da sie 0,25 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthält. Die Lösung kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen. Bei Berührung mit den Augen oder der Haut sofort mit Wasser aus- bzw. abspülen.
- (16) Das TMB-Substrat reizt die Haut und Schleimhäute. Bei möglichem Kontakt Augen mit reichlich Wasser und Haut mit Seife und reichlich Wasser aus- bzw. abspülen. Kontaminierte Gegenstände vor der erneuten Verwendung abspülen.
- (17) Für Informationen zu den im Kit enthaltenen gesundheitsgefährdenden Stoffen siehe die Sicherheitsdatenblätter (SDS). Das Sicherheitsdatenblatt dieses Produkts ist direkt auf der Webseite des Herstellers abrufbar oder auf Anfrage erhältlich.
- (18) Die in dieser Testanleitung angegebenen erwarteten Referenzwerte dienen nur als Hinweis. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwertintervalle erstellt.
- (19) Therapeutische Maßnahmen dürfen sich nicht allein auf die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse stützen, sondern müssen mit anderen diagnostischen Tests und klinischen Beobachtungen abgewogen werden.
- (20) Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.

## 2.2 Grenzen des Tests

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

### 2.2.1 Interferenzen

#### Serum/Plasma

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

#### Sammelurin

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

### 2.2.2 Beeinflussung durch Medikamente

Bitte beziehen Sie sich auf den Punkt „Probenmaterial und Lagerung“.

### 2.2.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test nicht auf.

## 3. Lagerung und Haltbarkeit

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

## 4. Materialien

### 4.1 Reagenzien im Kit

**BA D-0023** REAC-TUBES **Reaction Tubes** - Gebrauchsfertig

Inhalt: Reaktionsröhrchen in einem wiederverschließbaren Beutel

Volumen: 2 x 50 Röhrchen

\*) An Stelle der REAC-TUBES können auch 10 48 - **Macrotiter Plates** (BA D-0033) für die Probenvorbereitung und Azylierung (siehe 6.2) verwendet werden. Diese sind auf Anfrage erhältlich.

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

Inhalt: Puffer mit einem nicht-ionischen Detergenz und physiologischem pH

Volumen: 1 x 20 ml/Fläschchen, Deckel helllila

**BA E-0045** **CONJUGATE** **Enzyme Conjugate** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Ziege Anti-Kaninchen Immunglobuline konjugiert mit Peroxidase  
 Volumen: 1 x 12 ml/ Fläschchen, Deckel rot

**BA E-0055** **SUBSTRATE** **Substrate** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Chromogenes Substrat mit Tetramethylbenzidin, Substratpuffer und Wasserstoffperoxid  
 Volumen: 1 x 12 ml/ Fläschchen, Deckel schwarz

**BA E-0080** **STOP-SOLN** **Stop Solution** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 0,25 M Schwefelsäure  
 Volumen: 1 x 12 ml/ Fläschchen, Deckel hellgrau  
 Mögliche Gefahren: 

H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.  
 H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

**BA E-0931** **SER-5-HIAA** **Serotonin Microtiter Strips** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: 1 x 96 Well (12x8) Antigen beschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem widerverschließbaren Beutel

**BA E-8910** **SER-AS** **Serotonin Antiserum** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Kaninchen Anti-Serotonin Antikörper, blau gefärbt  
 Volumen: 1 x 12 ml/Fläschchen, Deckel blau

**Standards und Controls** - Gebrauchsfertig

Artikelnr.	Komponente	Deckelfarbe	Konzentration ng/ml	Konzentration nmol/l	Volumen/ Fläschchen
<b>BA R-8901</b>	<b>STANDARD A</b>	weiß	0	0	4 ml
<b>BA R-8902</b>	<b>STANDARD B</b>	hellgelb	15	85,1	4 ml
<b>BA R-8903</b>	<b>STANDARD C</b>	orange	50	284	4 ml
<b>BA R-8904</b>	<b>STANDARD D</b>	dunkelblau	150	851	4 ml
<b>BA R-8905</b>	<b>STANDARD E</b>	hellgrau	500	2840	4 ml
<b>BA R-8906</b>	<b>STANDARD F</b>	schwarz	2500	14175	4 ml
<b>BA R-8951</b>	<b>CONTROL 1</b>	hellgrün	Die zu erwartenden Konzentrationen und Akzeptanzbereiche sind auf dem Flaschenetikett angegeben!		4 ml
<b>BA R-8952</b>	<b>CONTROL 2</b>	dunkelrot			4 ml

Umrechnung: Serotonin (ng/ml) x 5,67 = Serotonin (nmol/l)

Inhalt: TRIS Puffer mit quecksilberfreiem Konservierungsmittel, aufgestockt mit einer definierten Menge Serotonin

**BA E-8912** **ACYL-REAG** **Acylation Reagent** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: Azylierungsreagenz in Dimethylsulfoxid  
 Volumen: 1 x 3 ml/ Fläschchen, Deckel grün

**BA E-8911** **ACYL-BUFF** **Acylation Buffer** - Gebrauchsfertig  
 Inhalt: TRIS Puffer mit quecksilberfreiem Konservierungsmittel  
 Volumen: 1 x 55 ml/ Fläschchen, Deckel hellgrau

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

- Kalibrierte Präzisionspipetten zum pipettieren von 25 – 500 µl
- Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten (manuell, halbautomatisch oder automatisch)
- Photometer zur Auswertung von Mikrotiterplatten mit 450 nm- und, wenn möglich, 620 - 650 nm Filter
- saugfähige Unterlage
- Vortex-Mischer
- Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur)

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

## **5. Probenmaterial und Lagerung**

Bis zu 2 Tage vor und während der Probennahme (Sammelurin) dürfen keine serotoninhaltigen Nahrungsmittel oder deren Säfte verzehrt werden. Hierzu gehören Ananas, Auberginen, Avocados, Bananen, Johannisbeeren, Kiwis, Melonen, Mirabellen, Pfirsiche, Schokolade, Stachelbeeren, Tomaten, Walnüsse und Zwetschgen. Serotoninwiederaufnahmehemmer beeinflussen den Serotoninspiegel. Personen, die solche Medikamente einnehmen, sollen vor einer Probennahme Rücksprache mit ihrem behandelnden Arzt halten.

**Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben sollte generell vermieden werden.**

### **Serum**

Blut durch Venenpunktion entnehmen (mit Monovette oder Vacuette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation (nach Angaben des Herstellers) abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Hämolytische und insbesondere lipämische Proben sollten nicht eingesetzt werden.

Lagerung: bis zu 6 Stunden bei 2 - 8 °C; für längere Zeit (bis zu 6 Monate) bei -20 °C

### **Urin**

Es kann Spontan- oder 24 Stunden- Sammelurin verwendet werden (im Sammelbehälter werden zur Stabilisierung des Sammelurins 10 - 15 ml 6 M HCl vorgelegt).

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

Lagerung: bis zu 24 Stunden bei 2-8°C, für längere Zeit (bis zu 6 Monate) bei -20 °C. Direktes Sonnenlicht sollte vermieden werden.

### **Thrombozyten**

Mehr als 98 Prozent des zirkulierenden Serotonins ist in Thrombozyten zu finden und wird während der Blutgerinnung ausgeschüttet. Das durch Venenpunktion entnommene Vollblut in einem für EDTA- oder Citrat-Plasma vorgesehenen Blutentnahmeröhrchen (Monovette oder Vacuette) nach Angaben des Herstellers sammeln.

Um thrombozytenreiches Plasma (PRP) zu erhalten, müssen die Proben für 10 Minuten bei 200 x g zentrifugiert werden. Den Überstand in ein weiteres Röhrchen überführen und die Thrombozyten auszählen.

Ein Thrombozyten - Pellet erhält man, wenn 800 µl physiologische Kochsalzlösung zu 200 µl PRP (enthält zwischen 350.000 - 500.000 Thrombozyten/µl) hinzu gegeben und anschließend zentrifugiert wird (4.500 x g, 10 Minuten bei 4 °C). Der Überstand wird anschließend dekantiert.

200 µl Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur) werden zum Pellet hinzugefügt und sorgfältig auf einem Vortex- Mischer gemischt. Die Suspension kann gefroren mehrere Wochen bei < - 20 °C gelagert werden.

Die Proben nach dem Auftauen kurz bei 10000 x g für 2 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugieren.

**25 µl** des Überstandes werden für die Probenvorbereitung (Azylierung) benötigt.

Für die Bestimmung des Serotonins in Thrombozyten-freien Plasma (PFP) und in Liquor muss der Serotonin Research™ ELISA verwendet werden (für weitere Informationen kontaktieren Sie Ihren Anbieter).

## **6. Testdurchführung für Serum, Urin und Thrombozyten**

Alle Reagenzien und Proben müssen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden. Es empfiehlt sich, Doppelbestimmungen anzusetzen. Um eventuelle Verwechslungen der Mikrotiterstreifen zu vermeiden, wird empfohlen, diese vor Verwendung zu nummerieren.

Die Reaktion des Antiserums, Enzymkonjugats und die Aktivität des Enzyms sind temperaturabhängig. Die optimale Temperatur während des Enzymimmunoassay ist zwischen 20 - 25°C. Es wird empfohlen, dies mit einem Thermometer zu überprüfen.

### **6.1 Vorbereitung der Reagenzien**

#### **Waschpuffer**

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

Lagerung: 1 Monat bei 2 - 8 °C

#### **Azylierungsreagenz **ACYL-REAG****

Das **ACYL-REAG** (BA E-8912) hat einen Gefrierpunkt von 18.5°C. Um sicher zu stellen, dass es bei Gebrauch flüssig ist, muss es vor Verwendung auf Raumtemperatur gebracht werden und danach eine homogene, kristallfreie Lösung bilden.

### Serotonin Microtiter Strips

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

### 6.2 Vorbereitung und Azylierung für Serum, Urin und Thrombozyten

1.	Je <b>25 µl</b> der <b>Standards, Kontrollen</b> und <b>Serum-, Urin- und Thrombozyten-Proben</b> in die entsprechenden <b>REAC-TUBES</b> pipettieren.
2.	<b>500 µl</b> <b>ACYL-BUFF</b> in alle <b>REAC-TUBES</b> pipettieren.
3.	<b>25 µl</b> <b>ACYL-REAG</b> in alle <b>REAC-TUBES</b> pipettieren.
4.	Sorgfältig mischen und <b>15 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) inkubieren.
	Jeweils <b>25 µl</b> der <b>vorbereiteten Standards, Kontrollen und Proben</b> werden für den nachfolgenden Serotonin ELISA benötigt.

### 6.3 Serotonin ELISA

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

1.	<b>25 µl</b> der <b>azylierten Standards, Kontrollen und Proben</b> in die entsprechenden Kavitäten der <b>W SER 5-HIAA</b> pipettieren.
2.	<b>100 µl</b> <b>SER-AS</b> in alle Kavitäten pipettieren.
3.	Platte <b>30 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) auf einem <b>Schüttler</b> (ca. 600 rpm) inkubieren. <i>(oder kurz per Hand schütteln und 1 Stunde bei RT (20 – 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).</i>
4.	Den Inhalt der Kavitäten ausleeren oder absaugen. Die Kavitäten <b>3 mal</b> gründlich mit <b>300 µl Waschpuffer</b> waschen, <b>ausleeren</b> und die Restflüssigkeit <b>jedes Mal</b> durch <b>Ausklopfen</b> auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
5.	<b>100 µl</b> <b>CONJUGATE</b> in alle Kavitäten pipettieren.
6.	Für <b>15 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) auf einem <b>Schüttler</b> (ca. 600 rpm) inkubieren. <i>(oder kurz per Hand schütteln und 15 Minuten bei RT (20 – 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).</i>
7.	Den Inhalt der Kavitäten ausleeren oder absaugen. Die Kavitäten <b>3 mal</b> gründlich mit <b>300 µl Waschpuffer</b> waschen, <b>ausleeren</b> und die Restflüssigkeit <b>jedes Mal</b> durch <b>Ausklopfen</b> auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
8.	<b>100 µl</b> <b>SUBSTRATE</b> in alle Kavitäten pipettieren und für <b>15 ± 2 Min</b> bei <b>RT</b> (20 – 25 °C) auf einem <b>Schüttler</b> (ca. 600 rpm) inkubieren. <i>(oder kurz per Hand schütteln und 15 ± 2 Minuten bei RT (20 – 25 °C) ohne Schüttler inkubieren).</i>  <b>Direktes Sonnenlicht vermeiden!</b>
9.	<b>100 µl</b> <b>STOP-SOLN</b> in alle Kavitäten pipettieren und die Mikrotiterplatte kurz schütteln.
10.	<b>Absorption</b> mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei <b>450 nm</b> (falls vorhanden, gegen eine Referenzwellenlänge von 620-650 nm) innerhalb von 10 Minuten <b>messen</b> .

### 7. Berechnung der Ergebnisse

<b>Messbereich</b>	<b>Serotonin</b>
	10,2 – 2 500 ng/ml

Eine Standardkurve, mit deren Hilfe die Konzentration der unbekanntenen Proben ermittelt werden kann, wird durch Auftragen der gemessenen Standard-Extinktionen (linearer Maßstab auf der y-Achse) gegen die entsprechenden Standardkonzentrationen (logarithmischer Maßstab auf der x-Achse) erstellt.

Für die Auswertung wird eine nicht-lineare Regression (z.B.: spline, 4- parameter, akima) empfohlen.

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

Die Konzentrationen der **Serum- und Urinproben** können direkt von der Standardkurve abgelesen werden.

**Berechnung des Serotoningehalts in Thrombozyten**

Am nachfolgenden Beispiel soll die Berechnung veranschaulicht werden:  
 Der Serotoningehalt in Blutplättchen wird generell auf  $10^9$  Blutplättchen bezogen. Aus der Standardkurve wird z.B. ein Wert von 100 ng/ml abgelesen. Die Auszählung der Blutplättchen ergibt einen Wert von 300.000 Zellen/ $\mu$ l. Dies würde  $0,3 \times 10^9$  Blutplättchen/ml entsprechen mit einem Serotoningehalt von 100 ng. Damit würde sich ein Serotoningehalt in den Blutplättchen von 333 ng/ $10^9$  Zellen ergeben ( $100 \text{ ng} \times 1,0 \times 10^9 / 0,3 \times 10^9$ ).

**Umrechnung**

Serotonin (ng/ml)  $\times$  5,67 = Serotonin (nmol/l)

**Erwartete Referenzwerte**

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

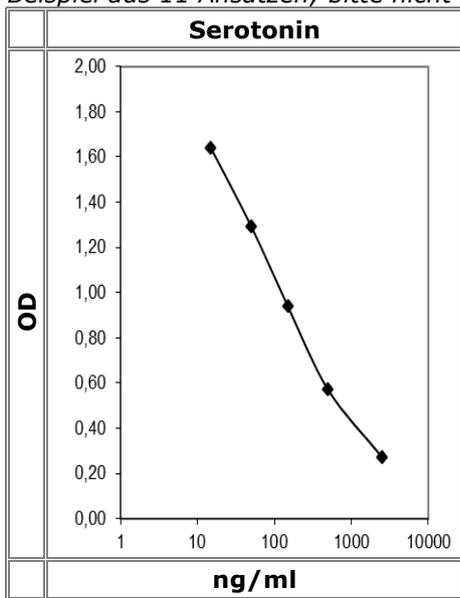
	<b>Serotonin</b>
Serum	70 - 270 ng/ml
Sammelurin	50 - 250 $\mu$ g/24h
Serotonin in Thrombozyten	500 - 950 ng/ $10^9$ Blutplättchen

**7.1 Qualitätskontrolle**

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

**7.2 Typische Standardkurve**

 *Beispiel aus 11 Ansätzen; bitte nicht für die Auswertung verwenden!*



**8. Testcharakteristika**

<b>Analytische Sensitivität</b>	Limit of Detection (LOD) Limit of Quantitation (LOQ)	6.2 ng/ml 10.2 ng/ml
---------------------------------	---	-------------------------

<b>Analytische Spezifität (Kreuzreaktivität)</b>	<b>Substanz</b>	<b>Kreuzreaktivität (%)</b>
	Tryptamin	0,05
	Melatonin	0,08
	5-Hydroxyindol-Essigsäure	< 0,014
	Phenylalanin	< 0,014
	Histidin	< 0,019
	Tyramin	< 0,018
5-Hydroxytryptophan	< 0,014	

<b>Präzision</b>							
<b>Intra-Assay</b>				<b>Inter-Assay</b>			
	Probe	Bereich (ng/ml) Mittelwert ± SD	CV (%)		Probe	Bereich (ng/ml) Mittelwert ± SD	CV (%)
Serotonin Urin (n = 40)	1	140,7 ± 16,3	11,6	Serotonin Urin (n = 15)	1	126,1 ± 14,2	11,3
	2	421,2 ± 38,6	9,2		2	414,5 ± 48,6	11,7
	3	1560 ± 215,3	13,8		3	1343 ± 200,2	14,9
Serotonin Serum (n = 20)	1	101,3 ± 9,6	9,7	Serotonin Serum (n = 7)	1	83,1 ± 10,3	12,4
	2	246,8 ± 31,2	12,6		2	244,3 ± 25,4	10,4
	3	667,5 ± 71,6	10,8				

<b>Linearität</b>			Bereich (ng/ml)	Serielle Verdünnung bis	Mittelwert (%)	Bereich (%)
	Serotonin	Urin	30 - 3500	1:65	100	88 - 118
		Serum	40 - 3000	1:33	96	80 - 113

<b>Wiederfindung</b>			Mittelwert (%)	Bereich (%)	% Wiederfindung nach Aufstockung
	Serotonin	Urin	96	74 - 105	
		Serum	108	89 - 126	

<b>Methodenvergleich mit RIA*</b>	Urin Serum	$y = 0,94x + 19.58; R^2 = 0,98$ $y = 0,85x + 33.18; R^2 = 0,97$
-----------------------------------	---------------	--

\*Kommerziell erhältlicher RIA

## 9. Referenzen/Literatur

- (1) Oliveira et al. Disturbances of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and energy metabolism in early CKD: effect of phosphate binders. Nephrol Dial Transplant, 28(10):2510-2517 (2013)
- (2) Shahin et al. Detection of Plasma and Urinary Monoamines and Their Metabolites in Nonsegmental Vitiligo. Acta Dermatovenerol Croat, 20(1):14-20 (2012)
- (3) Ciprandi et al. Serotonin in Allergic Rhinitis: a Possible Role for Behavioural Symptoms, 10(3):183-188 (2011)

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

### Symbole:

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