

## ***proANP (1-98)***

ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN proANP(1-98) IN EDTA PLASMA, HEPARIN PLASMA, SERUM, URINE OR CELL CULTURE SUPERNATANTS.

KAT. NO. BI-20892. 12 X 8 TESTS

ENZYMIMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON HUMAN proANP (1-98) IN EDTA PLASMA, HEPARIN PLASMA, SERUM, HARN ODER ZELLKULTURÜBERSTÄNDEN.

KAT. NR. BI-20892. 12 X 8 TESTE

For Research Use Only  
For Research Use Only  
For Research Use Only

rev.no. 080401 (replacing 071231)

Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Divischgasse 4  
Tel. +43/1/291 07 45, Fax +43/1/291 07 85, E-mail export@bmgrp.at



**BIOMEDICA**  
**BIOMEDICA**  
**GRUPPE**   
www.bmgrp.com  
1/12

## **CONTENT / INHALT**

- 1. ENGLISH .... 3**
- 2. DEUTSCH ... 7**

*Additional information on our products is available on our website.  
Zusätzliche Information zu unseren Produkten ist auf unserer Homepage erhältlich.*

**[www.bmgrp.com](http://www.bmgrp.com)**

## 1) INTRODUCTION

Atrial natriuretic peptide is synthesized in atrial myocytes and is stored in secretory granules as a 126 amino acid prohormone. The most important stimulus for the release of the hormone into circulation is stretch of the myocyte fibres. On release the prohormone is split into equimolar amounts of the highly biologically active proANP (99-126), also known as  $\alpha$ -ANP, and the N-terminal part proANP (1-98).  $\alpha$ -ANP is rapidly cleared from the circulation with a half-life of 3-4 minutes. proANP (1-98) has a much longer half-life (60-120 min) which leads to significantly higher concentrations in blood compared to  $\alpha$ -ANP. Thus, circulating levels of proANP (1-98) are less sensitive to the pulsatile secretion of ANP and may better reflect chronic levels of ANP secretion than the rapidly fluctuating levels of  $\alpha$ -ANP. proANP is discussed as valuable marker for e.g. sepsis (Increased plasma levels of NT-proANP and NT-proBNP as markers of cardiac dysfunction in septic patients. Hoffmann U et al. Clin Lab. 2005;51 (7-8):373-9), or risk stratification in heart failure (Neurohormonal risk stratification for sudden death and death owing to progressive heart failure in chronic heart failure. Berger R et al European Journal of Clinical Investigation, 2005, 35 (1), 24-31)

### POSSIBLE INDICATIONS

- Research studies on heart failure (LVD, CHF etc.)
- Research studies on heart transplanted patients
- Drug therapy monitoring in cardiovascular disease
- Risk assessment in heart failure
- Risk assessment in MI patients with normal NT-proBNP levels
- Monitoring of cardiac resynchronisation therapy

## 2) CONTENTS OF THE KIT

CONT	KIT COMPONENTS	QUANTITY
PLATE	polyclonal sheep anti proANP microtiter strips in stripholder packed in alubag with desiccant	12 x 8 tests
WASHBUF	Wash buffer concentrate 20x, natural cap	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay Buffer, red cap, ready to use (only for samples above 10 nmol/l !)	1 x 25 ml
STD	Standards, synthetic human proANP (1-98) (0;0.68;1.25;2.5;5.0;10.0 nmol/l), white caps, lyophilised	6 vials lyophilised
CTRL	Control, synthetic human proANP (1-98), lyophilised, yellow cap exact concentration after reconstitution see label	1 vial lyophilised
CONJ	Conjugate (polyclonal anti proANP antibody -HRPO), amber cap, ready to use	1 x 22 ml
SUB	Substrate (TMB solution), blue cap; ready to use	1 x 22 ml
STOP	Stop solution, sulphuric acid, white cap, ready to use	1 x 7 ml

## 3) ADDITIONAL MATERIAL ADDED TO THE KIT

- 1 self-adhesive plastic film
- QC protocol
- Protocol sheet
- Instruction manual for use

## 4) MATERIAL AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Precision pipettes calibrated to deliver 10-1000  $\mu$ l and disposable tips
- ELISA reader for absorbance at 450 nm (or from 450 nm to 620 nm)
- Graph paper or software for calculation of results
- Distilled or deionised water

## 5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

This assay is suitable for the use of EDTA- or Heparinised plasma, urine or cell culture supernatants.

ProANP in freshly collected blood samples is stable for at least 2.5 hrs at RT (18-26°C). Nevertheless we recommend to perform plasma separation by centrifugation as soon as possible (e.g. 20 min at 2,000 x g, preferably at 4°C). Aliquot the acquired plasma samples and store them at -20°C or -70°C. Samples can be subjected to 4 freeze/thaw cycles without any loss of immune reactivity. Lipemic or hemolyzed samples may give erroneous results. Urine or cell culture supernatants are used neat, without any further treatment. Samples should be mixed well before assaying. We recommend duplicates for all values. If samples read higher than the top standard, we recommend to dilute with ASYBUF (dilution buffer) (e.g.: 1+4 and 1+9) and re-measure the samples.

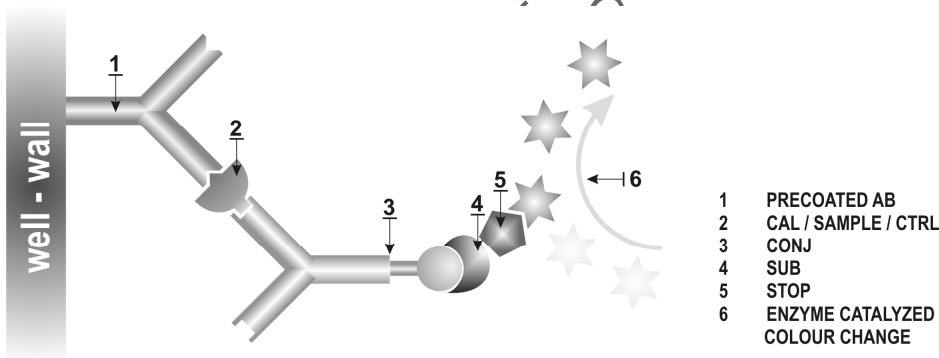
The assay can also be used with serum samples under the following conditions:

Serum separation is performed within 1hr after blood collection. The samples must be tested immediately after separation or must be stored at -20°C/-70°C, not subjected to more than 2 freeze/thaw cycles. This is due to the lower stability of proANP 1-98 in serum compared to EDTA plasma.

Reconstitution / Handling:

- WASHBUF (Wash buffer): Dilute the concentrate 1:20 (1+19) e.g. 50 ml WASHBUF + 950 ml distilled water. Crystals in the buffer concentrate will dissolve at room temperature. Buffer is stable at 2-8°C until expiry date stated on label. Use only diluted WASHBUF (Wash buffer) to perform the assay.
- STD (Standard) and CTRL (Control): Pipette 250 µl of distilled or deionised water into the vial. Leave at room temperature (18-26°C) for 10 min. Reconstituted standard and control are stable at -20°C/-70°C until expiry date on label. Avoid freeze/thaw cycles.

## 6) PRINCIPLE OF THE ASSAY



## 7) ASSAY PROTOCOL

All reagents and samples must be at room temperature (18-26°C) before use in the assay.
Mark position for BLANK/STD/SAMPLE/CTRL (Blank/Standard/Sample/Control) on the protocol sheet.
Take microtiter strips out of the alu bag, take a minimum of one well as Blank. Store unused strips with desiccant at 2-8°C in the alu bag. Strips are stable until expiry date stated on the label.
Add 10 µl STD/SAMPLE/CTRL (Standards/Sample/Control) in duplicate into respective well, except blank.
Add 200 µl CONJ (Conjugate) into each well except blank, swirl gently.
<b>Cover tightly and incubate for 3 hrs at room temperature (18-26°C) in the dark.</b>
Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer), remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the latest wash.
Add 200 µl SUB (Substrate) into each well.
<b>Incubate for 30 min at room temperature (18-26°C) in the dark.</b>
Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.
Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 620 nm, if available.

## 8) CALCULATION OF RESULTS

Subtract the blank extinction from all other values. Construct the standard curve from the standard values. Use commercially available software or graph paper. Obtain sample concentration from this standard curve. The assay has been evaluated using a 4PL algorithm. Different curve fitting methods need to be evaluated by the user. Respective dilution factors have to be considered.

The quality control protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each kit. Data for optical density obtained by customers may differ due to various influences and/or due to the normal decrease of signal intensity during shelf life. However, this does not affect validity of results as long as an optical density of 1.00 is obtained for the standard with the highest concentration.

## 9) ASSAY CHARACTERISTICS

Reference data:	Plasma: median = 1.45 nmol/l (n=53). Each laboratory should establish own reference values.
Standard range:	0-10 nmol/l
Sample volume:	10 µl plasma, urine, serum or cell culture supernatant.
Detection Limit:	(0 nmol/l + 3 SD): 0.050 nmol/l
Incubation time:	3 h / 30 min
Cross reactivity:	proANP (1-30) <1 %, proANP (31-67) <1%, proANP ( 79-98) <1% , alpha ANP ( 99-126)<1%, proBNP (8-29) <1%, proBNP (32-57) <1%, proCNP (1-19) <1%, proCNP (30-50) <1%, proCNP (51-97) <1% The assay also detects mouse and rat proANP (1-98).

No Hook-effect was observed up to a concentration of 80 nmol/l.

## 10) PRECISION

Intra-Assay (n=10)		Inter-Assay (n=5)	
Mean (nmol/l)	0.66	Mean (nmol/l)	0.88
SD	0.013	SD	0.035
CV%	2%	CV%	4%

### 11) TECHNICAL HINTS

- Do not mix or substitute reagents with those from other lots or sources.
- Do not mix stoppers and caps from different reagents or use reagents between lots.
- Do not use reagents beyond expiration date.
- Protect reagents from direct sunlight.
- Substrate solution should remain colourless until added to the plate.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.

### 12) PRECAUTIONS

- All test components of human source were tested with 3<sup>rd</sup> generation tests against HIV-Ab and HBsAg and were found negative. Nevertheless, they should be handled and disposed as if they were infectious.
- All liquid reagents contain 0.01% Proclin 300 as preservative.
- Proclin 300 is not toxic in concentrations used in this kit. It may cause allergic skin reactions – avoid contact with skin or eyes.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke or apply cosmetics where reagents are used.
- Avoid all contact with the reagents by using gloves.
- Sulfuric acid is irritating to eyes and skin. Flush with water if contact occurs. Avoid contact with skin and mucous. Irritations are possible – Flush with water after contact.

### 13) LITERATURE

- Neurohormonal risk stratification for sudden death and death owing to progressive heart failure in chronic heart failure. Berger R. et al. European Journal of Clinical Investigation, 2005, 35 (1), 24-9
- Increased plasma levels of NT-proANP and NT-proBNP as markers of cardiac dysfunction in septic patients. Hoffmann U. et al. Clin. Lab. 2005, 51(7-8), 373-9
- Risk assessment in patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction and normal N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels by N-terminal pro-atrial natriuretic peptide. Jarai R. et al. European Heart Journal 2004, 26 (3), 250-256
- Atrial and brain natriuretic peptides as markers of response to resynchronisation therapy. Molhoek S. G. et al. Heart 2004, 90, 97-98
- N-terminal proatrial natriuretic peptide in primary care: relation to echocardiographic indices of cardiac function in mild to moderate cardiac disease. Hall C. et al. Int. J. Cardiol. 2003 Jun, 89(2-3), 197-205
- Prognostic value of two-dimensional echocardiography and N-terminal proatrial natriuretic peptide following an acute myocardial infarction. Assessment of baseline values (2-7 days) and changes at 3 months in patients with a preserved systolic function. Otterstad JE et al., Eur Heart J 2002 Jul;23(13):1011-20

## 1) EINLEITUNG

Das atriale natriuretische Peptid (ANP) wird in den Myozyten des Atriums als Prohormon mit einer Länge von 126 Aminosäuren synthetisiert und gespeichert. Der Hauptstimulus zur Freisetzung des Hormons in die Zirkulation ist die durch Belastung hervorgerufene Dehnung der Myozytenfibrillen. Bei der Freisetzung wird das Prohormon zu gleichen Teilen in das biologisch aktive proANP (99-126), genannt  $\alpha$ -ANP, und den N-terminalen Teil von 98 Aminosäuren, proANP (1-98), gespalten.  $\alpha$ -ANP hat eine sehr kurze Halbwertszeit von 3-4 Minuten. Die Halbwertszeit von proANP (1-98) ist deutlich länger (60-120min) und daher zirkuliert das Peptid länger und in signifikant höheren Konzentrationen als  $\alpha$ -ANP. Weil die zirkulierenden Konzentrationen von proANP (1-98) weniger stark fluktuieren, spiegeln sie eine chronisch erhöhte ANP-Sekretion besser wieder als das kurzlebige, pulsatil sezernierte  $\alpha$ -ANP. proANP wird unter anderem in der Literatur als Marker bei Sepsis (Increased plasma levels of NT-proANP and NT-proBNP as markers of cardiac dysfunction in septic patients. Hoffmann U et al. Clin Lab. 2005;51 (7-8):373-9) oder für die Risikoabschätzung bei Herzversagen (Neurohormonal risk stratification for sudden death and death owing to progressive heart failure in chronic heart failure. Berger R et al. European Journal of Clinical Investigation, 2005, 35 (1), 24-31) diskutiert.

## MÖGLICHE INDIKATIONEN

- Studie von Herzfehlern (LVD, CHF etc.)
- Forschung an Herz-transplantierten Patienten
- Wirkungsstudien von Medikamenten zur Behandlung von Herzfehlern
- Risikoabschätzung bei Herzfehler
- Risikoabschätzung bei Myocardinfarkt (im speziellen bei normalem NT-proBNP)
- Verlaufskontrolle einer Resynchronisationstherapie

## 2) INHALT DES KITS

CONT	KIT KOMPONENTEN	MENGE
PLATE	Polyklonaler Schaf anti proANP Antikörper, beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter. Verpackt im Alu Säckchen mit Trockenmittel.	12 x 8 Teste
WASHBUF	Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtige Kappe	1 x 50 ml
ASYBUF	Verdünnungspuffer, rote Kappe, gebrauchsfertig (nur für Proben über 10 nmol/l)	1 x 25 ml
STD	Standards, synthetisches humanes proANP (1-98), (0,0,63,1,25,2,5,5,10 nmol/l), weiße Kappen, lyophilisiert	6 Fläschchen
CTRL	Kontrolle, synthetisches humanes proANP (1-98), gelbe Kappe, lyophilisiert, genaue Konzentration nach Rekonstitution siehe Etikett.	1 Fläschchen
CONJ	Konjugat, (polyklonaler Schaf anti proANP-HRPO), braune Kappe, gebrauchsfertig	1 x 22 ml
SUB	Substrat (TMB Lösung), blaue Kappe, gebrauchsfertig	1 x 22 ml
STOP	Stopp Lösung, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , weiße Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

## 3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- QC Protokoll
- Protokoll Blatt
- Arbeitsanleitung (Beipacktext)

## 4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Kalibrierte Präzisionspipetten für 10-1000  $\mu$ l, inkl. Pipettenspitzen
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (620 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

## 5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

Dieser Testkit eignet sich für die Verwendung von EDTA- oder Heparinplasma, Urin oder Zellkulturüberständen.

ProANP ist im Vollblut für mindestens 2,5h stabil. Dennoch empfehlen wir die Plasmaseparation durch Zentrifugation sobald wie möglich durchzuführen (z.B. 20 min bei 2000 x g, vorzugsweise bei 4°C). Die gewonnenen Plasmaproben sollten aliquotiert und bei -20°C oder -70°C aufbewahrt werden. Vier Frier/Tau Zyklen verursachen keine Verluste der Immunreaktivität in den Proben.

Lipämische und hämolytische Proben können falsche Ergebnisse liefern. Proben vor Verwendung gut mischen. Wir empfehlen Doppelbestimmungen. Bei Proben, deren Messwert oberhalb des Messbereiches liegt, empfehlen wir, diese mit ASYBUF (Verdünnungspuffer) zu verdünnen (z.B.:1+4 und 1+9) und erneut zu testen.

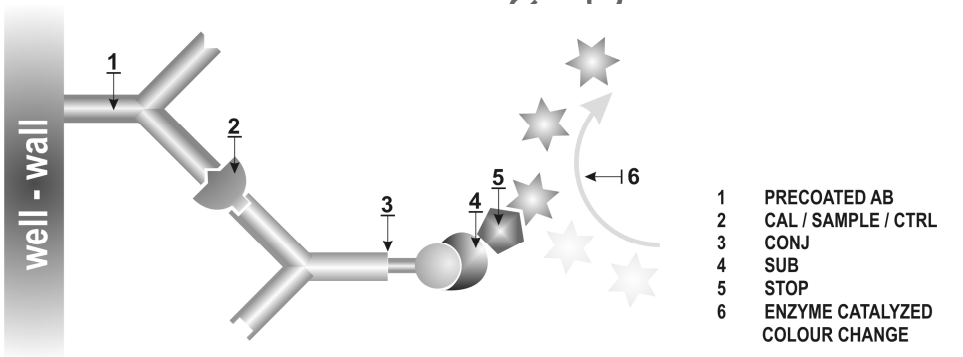
Unter folgenden Bedingungen kann der Testkit auch für Serum verwendet werden:

Das Serum muss innerhalb 1 Stunde nach der Blutabnahme gewonnen werden. Es muss unmittelbar getestet bzw. kann es bei -20°C/-70°C gelagert werden, darf aber nicht mehr als 2 Frier/Tau Zyklen unterzogen werden. Diese Vorsichtsmaßnahmen sind notwendig, da proANP (1-98) in Serum eine geringere Stabilität als in EDTA Plasma aufweist.

Rekonstitution / Handhabung:

- STD (Standards) und CTRL (Kontrolle): Lösen Sie das Lyophilisat in jeweils 250 µl destilliertem Wasser bei Raumtemperatur (18-26°C) für 10 min. Die Lösung ist bei -20°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Vermeiden Sie Frier/Tau Zyklen. Die Reagenzien sind nach Rekonstitution gebrauchsfertig und dürfen nicht weiter verdünnt werden.
- WASHBUF (Waschpuffer): Das mitgelieferte Konzentrat wird 1:20 (1+19) verdünnt (zB. 50 ml WASHBUF + 950 ml destilliertes Wasser). Kristalle im Pufferkonzentrat lösen sich bei Raumtemperatur auf. Der verdünnte Puffer ist bei 2-8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Für die Testdurchführung darf nur verdünnter WASHBUF (Waschpuffer) verwendet werden.

## 6) TESTPRINZIP



## 7) TESTPROTOKOLL

Im Test dürfen nur Reagenzien und Proben verwendet werden, welche Raumtemperatur (18-26°C) aufweisen.
Markieren Sie die Positionen für BLANK/STD/PROBE/CTRL (Leerwert/Standard/Probe/Kontrolle) am Protokoll Blatt.
Nehmen Sie die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Alu Säckchen. Mindestens 1 Well für den Leerwert reservieren. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können mit Trockenmittel im Alu Säckchen bis zum angegebenen Ablaufdatum gelagert werden.
Pipettieren Sie 10 µl STD/PROBE/CTRL (Standards/Probe/Kontrolle) in Doppelbestimmung in die Mikrotiterstreifen, mit Ausnahme des Leerwertes.
Pipettieren Sie 200 µl CONJ (Konjugat), mit Ausnahme des Leerwertes. Mischen.
<b>Streifen abdecken und 3 Stunden bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.</b>
Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen.
Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
Pipettieren Sie 200 µl SUB (Substrat) in alle Wells.
<b>30 Minuten bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.</b>
Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stopplösung) in alle Wells.
Extinktion unmittelbar bei 450 nm messen, mit 620 nm als Referenz, falls möglich.

## 8) BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die OD des Leerwertes ist von allen Wells abzuziehen. Konstruieren Sie eine Standardkurve aus den Werten der Standards unter Verwendung von kommerziell erhältlichem Millimeterpapier oder einer geeigneten Software. Das Testsystem wurde mit einem 4 Parameter Algorithmus evaluiert. Andere Auswertungsalgorithmen müssen vom Verwender evaluiert werden. Die Konzentrationen der Proben wird von der Eichkurve abgelesen. Eventuell verwendete Verdünnungen müssen berücksichtigt werden.

Auf dem beige packten QC Protokoll sind die Resultate bei der QC Freigabe des Kits vermerkt. Vom Verwender erhaltene Daten der optischen Dichte (OD) können abweichend sein, bedingt durch verschiedene Einflüsse und/oder dem normalen Signalverlust des Kits während der Laufzeit. Dieser mögliche Signalverlust hat keinen Einfluss auf die Gültigkeit der Resultate, so lange die OD des höchsten Standards den Wert 1,00 erreicht.

## 9) TESTMERKMALE

Referenz Daten :	Plasma: Median = 1,45 nmol/l (n=53). Jeder Verwender sollte die Referenzwerte seiner Proben evaluieren.
Standardbereich:	0-10 nmol/l
Probenvolumen:	10 µl Plasma, Urin, Serum oder Zellkulturüberstand
Detektionsgrenze:	(0 nmol/l + 3 SD): 0,05 nmol/l
Inkubationszeiten:	3 h / 30 min
Kreuzreaktivitäten	proANP (1-30) <1 %, proANP (31-67) <1%, proANP ( 79-98) <1% , alpha ANP ( 99-126)<1%, proBNP (8-29) <1%, proBNP (32-57) <1%, proCNP (1-19) <1%, proCNP (30-50) <1%, proCNP (51-97) <1 Der Test erfasst auch Maus und Ratten proANP (1-98).

Es wurde bis zu einer Konzentration von 80 nmol/l kein Hook-Effekt festgestellt.

## 10) PRÄZISION

Intra-Assay (n=16)		Inter-Assay (n=10)	
Mittelwert (nmol/l)	0,66	Mittelwert (nmol/l)	0,88
SD	0,013	SD	0,035
VK%	2%	VK%	4%

## 11) TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien von verschiedenen Lots oder Testen dürfen nicht gemischt werden.
- Stöpsel oder Verschlüsse von verschiedenen Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Abgelaufene Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.
- Reagenzien sind vor direktem Sonnenlicht zu schützen.
- Substratlösung muss vor Verwendung farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen bei den Inkubationen mit Abdeckfolie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Wischen der Reagenzien.

## 12) VORSICHTSMASSNAHME

Alle Bestandteile humanen Ursprunges wurden mit Testen der 3. Generation auf HIV-Ak und HBsAg getestet und negativ gefunden. Trotzdem sollten die Reagenzien als potentiell infektiös behandelt werden.

Alle flüssigen Reagenzien enthalten 0,01% Proclin 300 als Konservierungsmittel.

Proclin 300 ist in der verwendeten Konzentration nicht toxisch. Allergische Reaktionen sind möglich.

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika benutzen während der Verwendung der Testreagenzien.
- Verwenden Sie Handschuhe zur Vermeidung jedes Kontaktes mit Reagenzien.
- Schwefelsäure reizt die Augen und die Haut. Bei Berührung gründlich mit Wasser spülen!

## 13) LITERATUR

- Neurohormonal risk stratification for sudden death and death owing to progressive heart failure in chronic heart failure. Berger R et al. European Journal of Clinical Investigation, 2005, 35 (1), 24-3
- Increased plasma levels of NT-proANP and NT-proBNP as markers of cardiac dysfunction in septic patients. Hoffmann U et al. Clin Lab. 2005; 51 (7-8) :373-9
- Risk assessment in patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction and normal N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels by N-terminal pro-atrial natriuretic peptide. Jarai R et al. European Heart Journal 2004, 26 (3) 250-256
- Atrial and brain natriuretic peptides as markers of response to resynchronisation therapy. Molhoek S G wt al. Heart 2004; 90; 97-98
- N-terminal proatrial natriuretic peptide in primary care: relation to echocardiographic indices of cardiac function in mild to moderate cardiac disease. Hall C et al. Int. J. Cardiol. 2003 Jun; 89 (2-3) :197-205
- Prognostic value of two-dimensional echocardiography and N-terminal proatrial natriuretic peptide following an acute myocardial infarction. Assessment of baseline values (2-7 days) and changes at 3 months in patients with a preserved systolic function. Otterstad JE et al. Eur. Heart J 2002 Jul;23(13):1011-20

# SYMBOLS



Expiry date / Verfallsdatum / Date de péremption / Data di scadenza / Fecha de caducidad / Data de validade / Uiterste gebruiksdatum / Udløbsdato / Utgångsdatum / Termin Ważności / Lejárati idő / Doba expirácie / Doba expirace



Consider instructions for use / Bitte Gebrauchsanweisung beachten / Consultez la notice d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de utilización / Consulte as instruções de utilização / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se brugsanvisningen / Läs anvisningarna före användning / Proszę przeczytać instrukcję wykonania / Vegyük figyelembe a használati utasításban foglaltakat / Postupujte podľa pokynov na použitie / Postupujte dle návodu k použití



In vitro Diagnostic Medical Device (for in Vitro Diagnostic Use) / In vitro Diagnostikum (zur In-vitro-Diagnostik) / Dispositif médical de diagnostic in vitro (Pour usage diagnostique in vitro) / Dispositivo médico per diagnostica in vitro (per uso diagnóstico in vitro) / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro (para uso diagnóstico in vitro) / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro (Para utilização de diagnóstico "in vitro") / Medisch hulpmiddel voor diagnostiek in vitro (Voor diagnostisch gebruik in vitro) / Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik (Udelukkende til in vitro diagnostisk anvendelse) / Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik (För in vitro-diagnostiskt bruk) / Wyrób medyczny do Diagnostyki In Vitro / In vitro orvosdiagnosztikai termék / In vitro diagnostický zdravotnícký materiál (určené pre diagnostiku „in vitro“) / In vitro diagnostický zdravotnícký materiál (určeno pro diagnostiku „in vitro“)



Lot-Batch Number / Charge-Chargennummer / Lot-Code du lot / Lotto-Numero di lotto / Lote-Código de lote / Lote-Código do lote / Lot-Partijnummer / Lot-Batchcode / Lot-Satskod / Numer serii / Lot-Batch szám / Číslo šarže / Číslo šarže



Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por / Fabricado por / Vervaardigd door / Fabrikation af / Tillverkad av / Wyprodukowane przez / Gyártotta / Vyrobené / Vyrobeno



Catalogue Number / Bestellnummer / Numéro de référence / Numero di riferimento / Número de referencia / Número de referência / Referentienummer / Referencenummer / Katalognummer / Numer katalogowy / Katalógusszám / Katalógové číslo / Katalogové číslo



Store at between / Lagerung bei zwischen / Conserver à entre / Conservare a tra / Conservar a temp. entre / Armazene a entre / Bewaar bij tussen / Opbevares mellem / Förvaras vid / Przechowywać w / Tároljuk ..... között / Skladujcie w rozsahu / Skladujcie w rozmezí



Contains sufficient for x tests / Inhalt ausreichend für x Tests / Contient suffisant pour x tests / Contenido suficiente per x test / Contiene suficiente para x pruebas / Contém suficiente para x testes / Bevat voldoende voor x bepalingen / Ineholder tilstrækkeligt til x prøver / Innehållet räcker till x analyser / Zawartość na x testów / Tartalma X teszt elvégzésére elegendő / Obsahuje materiál pre x testov / Obsahuje materiál pro x testů

# **BI-20892 proANP (1-98)**

## **ASSAY PROTOCOL AND CHECKLIST**

Bring all reagents to room temperature (18-26°C).

Prepare reagents and samples as instructed.

Bring unused and prepared components to the storage temperature mentioned in the package insert.

Take microtiter strips out of the flu bag and mark positions on the protocol sheet.

Add 10 µl STD/ SAMPLE/CTRL (standard/sample/control) into each well, except blank.

Add 200 µl CONJ (Conjugate), except blank. Swirl gently.

**Cover tightly and incubate for 3 hrs at room temperature (18-26°C) in the dark.**

Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.

Add 200 µl SUB (Substrate) into each well.

**Incubate for 30 minutes at room temperature (18-26°C) in the dark.**

Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.

Read Optical Density at 450 nm with reference 620 nm, if available.