

BNP FRAGMENT EIA

(EN) ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF BNP FRAGMENT
IN HUMAN SERUM, CITRATE PLASMA, EDTA PLASMA OR HEPARIN PLASMA
CAT. NO. BI-20852W 12 X 8 TESTS

(DE) ENZYMMIMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON BNP FRAGMENT
IN HUMANEM SERUM, CITRAT PLASMA, EDTA PLASMA ODER HEPARIN PLASMA
KAT. NR. BI-20852W 12 X 8 TESTE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES

rev.no. 190111 (replacing 180605)

This kit was developed and manufactured by:

Biomedica Medizinprodukte GmbH, A-1210 Wien, Divischgasse 4

Tel. +43/1/291 07 45, Fax +43/1/291 07 6389, E-mail info@bmgrp.com



CONTENT / INHALT

ENGLISH	Page 3
DEUTSCH	Seite 7

Detailed information on the assay characteristics including the validation data can be found on our website.

Detaillierte Informationen zu den Testmerkmalen einschließlich der Validierungsdaten finden Sie auf unserer Website.

www.bmgrp.com

1) INTRODUCTION

The natriuretic peptides are members of a family of structurally similar but genetically distinct peptide hormones, consisting of atrial-, brain-, and C-type (ANP, BNP, and CNP, respectively). ANP and BNP preferentially bind to a membrane-bound guanylyl cyclase (GC) receptor called GC-A or NPR1, whereas CNP is the physiological ligand for GC-B (NPR2). The natriuretic peptides play an important role in the regulation of cardiovascular and renal homeostasis and in the regulation of fatty acid metabolism and body weight.

BNP is mainly expressed by ventricular myocardium in response to volume overload and increased filling pressure. BNP has a cleavable signal sequence. Mature BNP consists of 108 amino acids (proBNP or BNP-108), and undergoes cleavage resulting in physiologically active BNP-32 and additional C-terminal fragments (cf.

http://www.uniprot.org/uniprot/P16860#PRO_0000001532), along with a physiologically inactive N-terminal peptide comprising amino acids 1-76, which is further degraded proteolytically. BNP fragments in the circulation are therefore very heterogeneous.

BNP has a key role in cardiovascular homeostasis with biological actions including natriuresis, diuresis, vasorelaxation, and inhibition of renin and aldosterone secretion. A high concentration of BNP in the bloodstream is indicative of heart failure.

The discovery of natriuretic peptides identified an endocrine system that contributes to diuresis and vascular tone. The biology, biochemistry and the pathophysiological role of natriuretic peptides are described in several reviews.

Areas of Interest

- Cardiac impairment, acute myocardial infarction, (left ventricular dysfunction)
- Renal failure
- Obesity and diabetes
- Various forms of secondary hypertension

2) CONTENTS OF THE KIT

CONT	KIT COMPONENTS	QUANTITY
PLATE	polyclonal anti BNP fragment (8-29) antibody coated microtiter strips in strip holder packed in aluminium bag with desiccant	12 x 8 tests
WASHBUF	Wash buffer, 20x concentrated, natural cap	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay buffer, red cap, ready to use	1 x 20 ml
STD	Standard 1-7, synthetic human BNP fragment (0; 200; 400; 800; 1,600; 3,200; 6,400 pmol/l), white cap, lyophilised	7 vials lyophilised
CTRL	Control, yellow cap, synthetic human BNP fragment, lyophilised exact concentration after reconstitution see label	1 vial lyophilised
CONJ	Conjugate, (synthetic BNP fragment -HRPO), red dye, amber cap, ready to use	1 x 6 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 IN THE KIT

- 2 self-adhesive aluminium films
- Quality control protocol
- Protocol sheet
- Instruction for use

4) MATERIAL AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Precision pipettes calibrated to deliver 30 µl, 50 µl, 150 µl, 200 µl, 300 µl and disposable tips
- Distilled or deionised water
- Plate washer is recommended for washing, alternative multichannel pipette or manifold dispenser
- Refrigerator with 4°C (2-8°C)
- ELISA reader capable of measuring absorbance at 450 nm (with correction wavelength at 630 nm)
- Graph paper or software for calculation of result

5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

All reagents of the kit are stable at 4°C (2-8°C) until the expiry date stated on the label of each reagent.

Sample preparation:

Collect venous blood samples by using standardized blood collection tubes for serum or plasma. BNP fragments are stable in whole blood, serum or plasma for several hours at room temperature or 4°C (2-8°C). Nevertheless perform serum and plasma separation by centrifugation according to supplier's instructions of the blood collection devices as soon as possible.

Lipemic or hemolyzed samples may give erroneous results. Samples should be mixed well before assaying. We recommend duplicates for all values. Samples with values above highest STD could be diluted with STD1 (0 pmol/l) or BNP fragment negative human serum.

For further information on sample stability please visit our website www.bmgrp.com validation data or contact our customer service by e-mail info@bmgrp.com or by phone +43/ 1/ 29107-45.

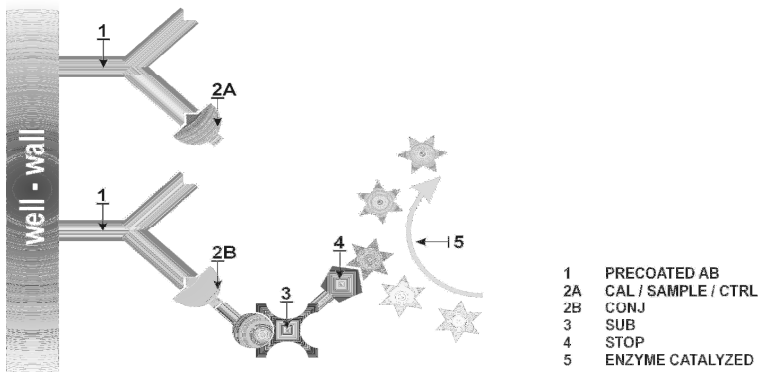
Reconstitution/Handling:

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. The undiluted WASHBUF is stable at 4°C (2-8°C) until expiry date stated on label. The diluted WASHBUF is stable up to one month at 4°C (2-8°C). Only use diluted WASHBUF when performing the assay.

STD (Standard): Pipette 200 µl of distilled or deionised water into each vial. Leave at room temperature (18-26°C) for 20 min. Swirl gently. The standard concentration is printed on the label. Reconstituted standard is stable at -25°C or lower until expiry date. Avoid freeze-thaw cycles.

CTRL (Control): Pipette 200 µl of distilled or deionised water to the vial. Leave at room temperature (18-26°C) for 20 min. Swirl gently. The final concentration is stated on the label. Reconstituted control is stable at -25°C or lower until expiry date stated 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 STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Sample/Control) on the protocol sheet.

Take microtiter strips out of the aluminium bag. Unused strips can be stored with desiccant in the aluminium bag at +4°C (2-8°C) until the expiry date.

1. Add 150 µl ASYBUF (Assay buffer) into all wells.

2. Add 30 µl STD/ SAMPLE/ CTRL (Standards/Sample/Control) in duplicate into respective well, swirl gently.

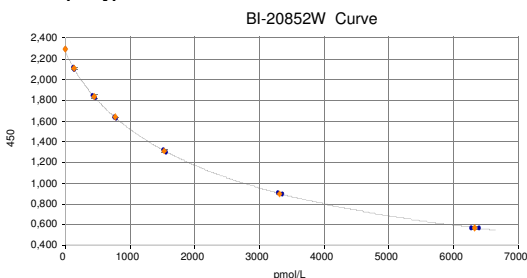
3. Add 50 µl CONJ (Conjugate) into each well, swirl gently.

4. Cover tightly and incubate overnight (16-25 hours) at 4°C (2-8°C) in the dark.
5. Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer), remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the last wash.
6. Add 200 µl SUB (Substrate) into each well.
7. Incubate for 20 min at room temperature (18-26°C) in the dark.
8. Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well, swirl gently.
9. Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 630 nm, if available.

8) CALCULATION OF RESULTS

Read the optical density (OD) of all wells on a plate reader using 450 nm wavelength (correction wavelength 630 nm). Construct the standard curve from the OD values of the STD. Use commercially available software or graph paper. Obtain sample concentration from this standard curve. The assay was evaluated with 4PL algorithm. Different curve fitting methods need to be evaluated by the user. Respective dilution factors have to be considered.

Example typical STD-curve:



The quality control (QC) protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each lot at production date. Data for OD 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 OD of 1.5 or more is obtained for STD 0 and the value of the CTRL is in range (target range see label).

9) ASSAY CHARACTERISTICS

Values from apparently healthy individuals (n=76):	In a panel of blood donors the median was 392 pmol/l. Each laboratory has to establish its own reference range for the samples under investigation.
Standard range:	0 to 6,400 pmol/l
Sample volume:	30 µl human serum or plasma (Citrate, EDTA or Heparin)
Detection Limit:	171 pmol/l at 95% B/Bo
Incubation time:	16-25 hrs / 20 min

For further information on assay characteristics please visit our website www.bmgrp.com validation data or contact our customer service by e-mail info@bmgrp.com or by phone +43/ 1/ 29107-45.

10) PRECISION

Intra-Assay: 2 samples of known concentrations were tested 3 times in 1 assay.

Inter-Assay: 2 samples of known concentrations were tested in 8 times in 2 assays by different operators.

Intra-Assay (n=3)	Sample 1	Sample 2	Inter-Assay (n=8)	Sample 1	Sample 2
Mean (pmol/l)	763	3,236	Mean (pmol/l)	781	3,199
SD (pmol/l)	43	251	SD (pmol/l)	45	236
CV (%)	6	8	CV (%)	6	7

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 3rd generation tests against HIV-Ab, HCV-Ab and HBsAg; and were found negative. Nevertheless, they should be handled and disposed as if they were infectious. Liquid reagents contain $\leq 0.1\%$ Proclin 950 as preservative. Avoid contact with skin and mucous membrane. Proclin 950 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.
- Wear gloves, glasses and lab jacket while performing this assay.
- Sulfuric acid is irritating to eyes and skin. Avoid contact with skin and mucous. Irritations are possible. – Flush with water if contact occurs!!

13) LITERATURE

1. Thirty years of the heart as an endocrine organ: physiological role and clinical utility of cardiac natriuretic hormones. Clerico A et al., *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: H12-H20
2. Comparison of Pleural Fluid N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide and Brain Natriuretic-32 Peptide Levels. Long AC et al., *Chest* 2010; 137: 1369-1374
3. N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide as an Indicator of Possible Cardiovascular Disease in Severely Obese Individuals: Comparison with Patients in Different Stages of Heart Failure. Hermann-Arnhof K et al., *Clinical Chemistry* 2005; 51:138-143
4. Natriuretic Peptides: New Players in Energy Homeostasis. Moro C and Smith RH, *Diabetes* 2009; 58: 27-26
5. 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., *Eur Heart J* 2004; 26: 250-256
6. Natriuretic peptides: Markers or modulators of cardiac hypertrophy? Gardner DG, *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14: 411-416
7. Neurohormonal risk stratification for sudden death and death owing to progressive heart failure in chronic heart failure. Berger R et al, *Eur J Clin Invest* 2005, 35, 24-31
8. Natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase cascades promote muscle mitochondrial biogenesis and prevent obesity. Miyashita K et al., *Diabetes* 2009; 58: 2880-2892
9. Processing of Pro-B-Type Natriuretic Peptide: Furin and Corin as Candidate Convertases. Semenov AG et al., *Clin Chem.* 2010; 56:1166-1176

1) EINLEITUNG

Die natriuretischen Peptide sind Mitglieder einer Familie strukturell ähnlicher, aber genetisch verschiedener Peptidhormone: atrial-, brain- und C-type (ANP, BNP, CNP). ANP und BNP binden bevorzugt an den Membran-gebundenen Guanylylcyclase (GC)-Rezeptor GC-A (NPR1), CNP ist der physiologische Ligand für GC-B (NPR2). Die natriuretischen Peptide spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation von kardiovaskulärer und renaler Homöostase und bei der Steuerung des Fettsäure-Stoffwechsels und des Körpergewichts.

BNP wird hauptsächlich durch Myokard als Reaktion auf Volumenüberladung und erhöhtem Fülldruck synthetisiert. Reifes BNP besteht nach Verlust der Signalsequenz aus 108 Aminosäuren (proBNP oder BNP-108). Es wird in das physiologisch aktive BNP-32, weitere C-terminale Fragmente (vgl. http://www.uniprot.org/uniprot/P16860#PRO_000001532) sowie ein physiologisch inaktives N-terminales Peptid aus Aminosäuren 1-76 gespalten, das weiter proteolytisch abgebaut wird. Die BNP-Fragmente in der Zirkulation sind daher sehr heterogen.

BNP spielt eine Schlüsselrolle in der kardiovaskulären Homöostase mit biologischen Wirkungen einschließlich Natriurese, Diurese, Vasorelaxation, und der Hemmung von Renin und Aldosteron-Sekretion. Eine hohe Konzentration von BNP im Blut ist ein Hinweis auf Herzinsuffizienz.

Die Entdeckung der natriuretischen Peptide identifizierte ein kardiales endokrines System das zur Steuerung von Diurese und vaskulären Tonus beiträgt. Die Biologie, Biochemie und die pathophysiologische Bedeutung der natriuretischen Peptide sind in zahlreichen Übersichtsarbeiten beschrieben.

Interessensgebiete:

- Herzinsuffizienz, akuter Myokardinfarkt (linksventrikuläre Dysfunktion)
- Niereninsuffizienz
- Adipositas und Diabetes
- Verschiedene Formen der sekundären Hypertonie

2) INHALT DES KITS

CONT	KIT KOMPONENTEN	MENGE
PLATE	Polyklonaler anti BNP Fragment (8-29) Antikörper, beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter. Verpackt im Aluminium Säckchen mit Trockenmittel	12 x 8 Teste
WASHBUF	Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtige Kappe	1 x 50 ml
ASYBUF	Verdünnungspuffer, rote Kappe, gebrauchsfertig	1 x 20 ml
STD	Standard 1-7, Synthetisches humanes BNP Fragment (0; 200; 400; 800; 1.600; 3.200; 6.400 pmol/l), weiße Kappe, lyophilisiert	7 Fläschchen lyophilisiert
CTRL	Kontrolle, synthetisches humanes BNP Fragment, gelbe Kappe, lyophilisiert, genaue Konzentration nach Rekonstitution siehe Etikett	1 Fläschchen lyophilisiert
CONJ	Konjugat, (Synthetisches BNP Fragment -HRPO), rot gefärbt, braune Kappe, gebrauchsfertig	1 x 6 ml
SUB	Substrat (TMB Lösung), blaue Kappe, gebrauchsfertig	1 x 22 ml
STOP	Stopp Lösung, H ₂ SO ₄ , weiße Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

- 2 selbstklebende Aluminium-Abdeckfolien
- QC Protokoll
- Protokoll Blatt
- Arbeitsanleitung (Beipacktext)

4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Kalibrierte Präzisionspipetten für 30 µl, 50 µl, 150 µl, 200 µl, 300 µl inkl. Pipettenspitzen
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Mikrotiterplatten Wascher wird empfohlen, Alternativen: Mehrkanalpipetten oder Dispenser

- Kühlschrank mit 4°C (2-8°C).
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (630 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software

5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

Alle Reagenzien des Kits sind bei 4°C (2-8°C) bis zum Ablaufdatum (siehe Etikett des Reagenz) stabil.

Probenvorbereitung:

BNP Fragmente sind bei Raumtemperatur oder 4°C (2-8°C) im Vollblut, Plasma oder Serum für mehrere Stunden stabil. Dennoch empfehlen wir die Plasma- oder Serumseparation durch Zentrifugation sobald wie möglich durchzuführen, z.B. 20 min bei 2000 x g, vorzugsweise bei 4°C (2-8°C). Die gewonnenen Plasma- oder Serumproben sollten aliquotiert und bei -25°C oder niedriger aufbewahrt werden. Fünf 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. Proben mit Werten über dem höchsten STD können mit STD 1 oder BNP Fragment negativem human Serum verdünnt werden.

Nähere Informationen zur Probenstabilität finden Sie auf unserer Website www.bmgrp.com validation data oder Sie kontaktieren unser Kundenservice, Email unter info@bmgrp.com, Tel. unter +43/ 1/ 29107-45.

Rekonstitution/Handhabung:

WASHBUF (Waschpuffer): Das mitgelieferte Konzentrat wird 1:20 (1+19) verdünnt (z.B. 50 ml WASHBUF + 950 ml destilliertes Wasser). Kristalle im Pufferkonzentrat lösen sich bei Raumtemperatur auf. Das Konzentrat ist bei 4°C (2-8°C) bis zum Ablaufdatum haltbar. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C (2-8°C) bis zu einem Monat haltbar. Im Testsystem darf nur verdünnter WASHBUF (Waschpuffer) verwendet werden.

STD (Standard): Pipettieren Sie 200 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser in jeden Standard. Lassen Sie das Lyophilisat bei Raumtemperatur (18-26°C) 20 Minuten lösen. Gut mischen. Genaue Konzentration nach Rekonstitution siehe Etikett. Der rekonstituierte Standard ist bei -25°C oder niedriger bis zum Ablaufdatum haltbar. Vermeiden Sie Frier/Tau Zyklen.

CTRL (Kontrolle): Pipettieren Sie 200 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser in das Fläschchen. Lassen Sie das Lyophilisat bei Raumtemperatur (18-26°C) 20 Minuten lösen. Gut mischen. Genaue Konzentration nach Rekonstitution siehe Etikett. Die Lösung ist bei -25°C oder niedriger bis zum Ablaufdatum haltbar. Vermeiden Sie Frier/Tau Zyklen.

6) TESTPRINZIP

Siehe Kapitel 6) PRINCIPLE OF THE ASSAY im englischen Teil des Beipacktextes

7) TESTPROTOKOLL

Im Test dürfen nur Reagenzien und Proben verwendet werden, welche Raumtemperatur (18-26°C) aufweisen.	
Markieren Sie die Positionen für STD/PROBE/CTRL (Standard/Probe/Kontrolle) am Protokollblatt.	
Nehmen Sie die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Aluminiumbeutel. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können mit Trockenmittel im Aluminiumbeutel bis zum angegebenen Ablaufdatum gelagert werden.	
1. Pipettieren Sie 150 µl ASYBUF (Verdünnungspuffer) in alle Wells.	
2. Pipettieren Sie 30 µl STD/PROBE/CTRL (Standard/Probe/Kontrolle) in Doppelbestimmung in alle Wells, gut mischen.	
3. Pipettieren Sie 50 µl CONJ (Konjugat) in alle Wells, gut mischen.	
4. Streifen abdecken und über Nacht (16-25 Stunden) bei 4°C (2-8°C) im Dunkeln inkubieren.	
5. Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünnten WASHBUF (Waschpuffer) waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.	
6. Pipettieren Sie 200 µl SUB (Substrat) in alle Wells.	
7. 20 Minuten bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.	
8. Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stoppösung) in alle Wells, gut mischen.	

9. Extinktion unmittelbar bei 450 nm messen, mit 630 nm als Referenz, falls möglich.

8) BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Messen Sie die optische Dichte (OD) von allen Wells mit einem Mikrotiterplattenphotometer mit einem 450 nm Filter (Referenz 630 nm). Konstruieren Sie eine Standardkurve aus den OD Werten der STD unter Verwendung von kommerziell erhältlichem Millimeterpapier oder einer geeigneten Software. Das Testsystem wurde mit einem 4 Parameter Algorithmus evaluiert. Andere Auswerte Algorithmen müssen vom Verwender evaluiert werden. Die Konzentration der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen. Eventuelle weitere Verdünnungen müssen berücksichtigt werden.

Typische STD-Kurve:

Siehe Kapitel 8) CALCULATION OF RESULTS im englischen Teil des Beipacktextes

Auf dem beige packten QC Protokoll sind die Resultate bei der QC Freigabe des Kits vermerkt. Vom Verwender erhaltene Daten der 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 STD 0 den Wert 1,50 oder höher erreicht und der Wert der CTRL im gültigen Bereich ist (Bereich siehe Etikett).

9) TESTMERKMALE

Werte von anscheinend gesunden Spendern (n=76):	In einem Blutspenderkollektiv wurde ein Median von 392 pmol/l gefunden. Jeder Verwender sollte den Normalbereich für seine Proben evaluieren.
Standardbereich	0 bis 6.400 pmol/l
Probenvolumen:	30 µl humanes Serum oder Plasma (Citrat, EDTA oder Heparin)
Detektionsgrenze:	171 pmol/l bei 95% B/Bo
Inkubationszeiten:	16-25 h / 20 Min

Nähere Informationen zu den Testmerkmalen finden Sie auf unserer Website unter www.bmgrp.com validation data oder Sie kontaktieren unser Kundenservice, Email unter info@bmgrp.com, Tel. unter +43/ 1/ 29107-45

10) PRÄZISION

Intra-Assay: 2 Proben wurden 3fach in einem Test getestet.

Inter-Assay: 2 Proben wurden 8fach in 2 Testen von verschiedenen Operatoren getestet.

Intra-Assay (n=3)	Sample 1	Sample 2	Inter-Assay (n=8)	Sample 1	Sample 2
Durchschnitt (pmol/l)	763	3.236	Durchschnitt (pmol/l)	781	3.199
SD (pmol/l)	43	251	SD (pmol/l)	45	236
VK (%)	6	8	VK (%)	6	7

11) TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien von verschiedenen Lots oder Tests dürfen nicht gemischt werden.
- Stöpsel und 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 Mischen der Reagenzien.

12) VORSICHTSMASSNAHMEN

Alle Bestandteile humanen Ursprunges wurden mit Tests der 3.Generation auf HIV-Ak, HCV-AK und HBsAg getestet und negativ gefunden. Trotzdem sollten die Reagenzien als potentiell infektiös behandelt werden. Die flüssigen Reagenzien enthalten $\leq 0,1\%$ Proclin 950 als Konservierungsmittel. Vermeiden Sie Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhaut. Proclin 950 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, Schutzbrillen und Laborkleidung während der Testdurchführung.
- Schwefelsäure reizt Augen und Haut. Bei Berührung gründlich mit Wasser spülen.

13) LITERATUR

Siehe Kapitel 13) LITERATURE im englischen Teil des Beipacktextes.

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 / Vegyűk figyelembe a használati utasításban foglaltakat / Postupujte podľa pokynov na použitie / Postupujte dle návodu k použití



Lot-Batch Number / Charge-Chargennummer / Lot-Code du lot / Lotto-Numero di lotto / Lote-Código de lote / Lote-Código do lote / Lot-Partijnummer / Lot-Batchkode / 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 pr / 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 / Skladujte v rozsahu / Skladujte v rozmezí



Contains sufficient for x tests / Inhalt ausreichend für x Tests / Contient suffisant pour x tests / Contenuto sufficiente per x test / Contiene suficiente para x pruebas / Contém suficiente para x testes / Bevat voldoende voor x bepalingen / Indeholder 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-20852W BNP FRAGMENT EIA ASSAY PROTOCOL AND CHECKLIST

PREPARATION OF REAGENTS:

- 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 aluminium bag and mark positions on the protocol sheet.

TEST PROCEDURE:

- Add 150 µl ASYBUF (Assay buffer) into all wells.
- Add 30 µl STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Sample/Control) into respective wells, swirl gently.
- Add 50 µl CONJ (Conjugate) into each well, swirl gently.
- Cover tightly and incubate overnight (16-25 hours) at 4°C (2-8°C), in the dark.**
- Aspirate and wash wells with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Add 200 µl SUB (Substrate) into each well.
- Incubate for 20 minutes at room temperature (18-26°C), in the dark.**
- Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well, swirl gently.
- Read Optical Density at 450 nm with reference 630 nm, if available.