

NT-proCNP

2nd generation

(EN) ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF NT-proCNP IN SERUM, EDTA PLASMA, CITRATE PLASMA OR HEPARIN PLASMA
CAT. NO. BI-20812 . 12 X 8 TESTS

(DE) ENZYM IMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON NT-proCNP
IN HUMAN SERUM, EDTA PLASMA, CITRAT PLASMA ODER HEPARIN PLASMA
KAT. NR. BI-20812 . 12 X 8 TESTS

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES

For the measurement of NT-proCNP in human urine, cell culture supernatants, and non-human samples please visit our homepage www.bmgrp.com (see Validation Data).

rev.no. 171213

This kit was developed and manufactured by:
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.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

C-type natriuretic peptide (CNP) is a paracrine growth factor widely expressed in tissues, including the vascular endothelium, where it is considered to provide vasoprotective functions. In endothelial cells and macrophages it is secreted in response to several stimuli, including inflammatory mediators. CNP is rapidly degraded in tissues and negligible quantities enter the circulation. However, the N-terminal portion of the pro-hormone is not degraded at source and circulates in significantly higher concentrations than CNP. Therefore NT-proCNP is a valuable biomarker to determine CNP synthesis in tissues. CNP plays a critical role in linear growth. It is produced in the growth plate and signals through a paracrine mechanism. Recent studies have shown that the plasma concentrations of NT-proCNP correlate with linear growth velocity in all phases of skeletal growth and increase during rhGH therapy (1). Furthermore, serum NT-proCNP levels increased after initiation of GH treatment in patients with achondroplasia/hypochondroplasia (2). Women with pregnancy complications, such as diminished fetal growth and pre-eclampsia show significantly increased NT-proCNP levels early in gestation (3, 4). NT-proCNP concentration at hospital admission has sufficient sensitivity and specificity to differentiate naturally occurring sepsis from non-septic systemic inflammatory response syndrome (SIRS) (5, 6). Recently, *Prickett and colleagues* demonstrated in a cohort of over 2000 individuals, that in contrast to the close association of NT-proBNP with cardiac function, and predictive value for outcome after myocardial infarction, plasma NT-proCNP is highly correlated with renal function and is an independent predictor of mortality and cardiac readmission in individuals with unstable angina (7).

Areas of Interest

- Vascular disease
- Growth
- Skeletal development
- Angiogenesis
- Sepsis

2) CONTENT OF THE KIT

CONT	KIT COMPONENTS	QUANTITY
PLATE	Polyclonal sheep anti NT-proCNP antibody precoated microtiter strips in strip holder packed in aluminium bag 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	1 x 8 ml
STD	Standards, (0; 4; 8; 16; 32; 64; 128 pmol/l), white caps, lyophilised	7 vials
CTRL	Controls A + B, yellow caps, lyophilised, exact concentrations see labels	2 vials
CONJ	Conjugate (sheep anti NT-proCNP-HRPO), amber cap, ready to use	1 x 7 ml
SUB	Substrate (TMB solution), blue cap, ready to use	1 x 13 ml
STOP	STOP solution, 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

4) EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Precision pipettes calibrated to deliver 20 µl, 50 µl, 100 µl, and 300 µl and disposable tips
- ELISA reader for absorbance at 450 nm (reference 630 nm)
- Graph paper or software for calculation of results
- Distilled or deionised water

5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

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

Sample preparation:

Collect venous blood samples by using standardized blood collection tubes. Perform serum/plasma separation by centrifugation according to supplier's instructions of the blood collection devices as soon as possible. The acquired plasma or serum samples should be measured as soon as possible. For longer storage aliquot samples and store at -25°C or lower. All samples should undergo only 4 freeze-thaw cycles. Lipemic or haemolysed samples may give erroneous results. Samples should be mixed well before assaying. We recommend duplicates for all values. Samples with values above highest STD can be diluted 1+1 or 1+3 with ASYBUF (Assay buffer).

For further information on sample stability please visit our website www.bmgrp.com (see Validation Data) or contact our customer service by e-mail export@bmgrp.com or by phone +43/ 1/ 29107-45.

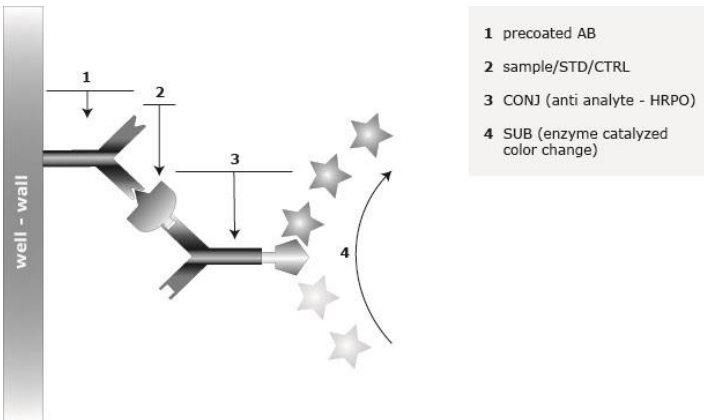
Reconstitute as follows:

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. Undiluted WASHBUF is stable at +4°C (2-8°C) until expiry date stated on label. Diluted WASHBUF is stable at +4°C (2-8°C) for one month. Use only diluted WASHBUF to perform the assay.

STD (Standards) + CTRL (Controls): Pipette 300 µl of distilled or deionised water into each vial. Leave at room temperature (18-26°C) for 15 min. Vortex gently. The exact concentration is printed on the label. Reconstituted STDs and CTRLs are stable at -25°C or lower until expiry date stated on the label. STDs and CTRLs are stable for 3 freeze-thaw cycles.

6) PRINCIPLE OF THE ASSAY

This kit is a sandwich enzyme immunoassay for the determination of NT-proCNP in human samples. In a first step, assay buffer and sample are pipetted into the wells of the microtiter strips, which are pre-coated with polyclonal sheep anti NT-proCNP antibody, for a short incubation. Without the need of a washing step, conjugate (sheep anti human NT-proCNP-HRPO) is added into the wells. NT-proCNP present in the sample binds to the pre-coated antibody in the well and forms a sandwich with the detection antibody. In the washing step all non-specific unbound material is removed. After washing the substrate (TMB Tetramethylbenzidine) is pipetted into the wells. The enzyme catalysed colour change of the substrate is directly proportional to the amount of NT-proCNP present in the sample. This colour change is detectable with a standard microtiter plate ELISA reader.



7) ASSAY PROTOCOL

All reagents and samples have to be brought to room temperature (18-26°C) before they can be used 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.

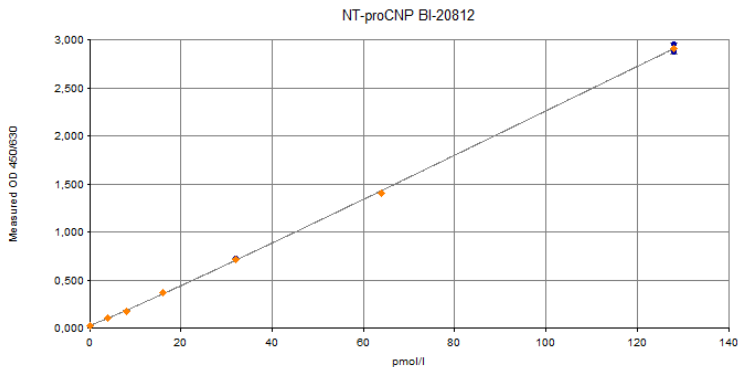
1. Pipette 50 µl ASYBUF (Assay buffer, red cap) into each well.
2. Add 20 µl STD/CTRL/SAMPLE (Standard/Control/Sample) in duplicate into respective wells, swirl gently.
3. **Cover tightly and incubate for 20 minutes at room temperature (18-26°C).**
4. Add 50 µl CONJ (Conjugate, amber cap) into each well, swirl gently.
5. **Cover tightly and incubate for 3 hours at room temperature (18-26°C) in the dark.**
6. Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer), remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the final washing step.
7. Add 100 µl SUB (Substrate, blue cap) into each well, swirl gently.
8. **Incubate for 30 min at room temperature (18-26°C) in the dark.**
9. Add 50 µl STOP (Stop solution, white cap) into each well, swirl gently.
10. Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 630 nm, if available.

For the measurement of NT-proCNP in human urine, cell culture supernatants and non-human samples please visit our website www.bmgrp.com (see Validation Data).

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.

Typical STD-curve:



The quality control (QC) protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each kit 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 1.50 or more is obtained for the STD with the highest concentration and the value of the CTRL is in range (target range see label).

9) ASSAY CHARACTERISTICS

Method:	Sandwich ELISA, HRP/TMB, 12x8-well strips		
Sample type:	Serum, EDTA plasma, heparin plasma, and citrate plasma Protocols available for urine, cell culture supernatant and non-human species		
Standard range:	0 to 128 pmol/l (7 standards and 2 controls in a human serum matrix) Standard points: 0 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128 pmol/l		
Conversion factor:	1 pg/ml = 0.201 pmol/l (MW: 4.985 kD) 1 pmol/l = 4.985 pg/ml		
Sample volume:	20 µl / well		
Incubation time, temperature:	20 min / 3 h / 30 min, room temperature		
Sensitivity:	LOD: (0 pmol/l + 3 SD): 0.7 pmol/l; LLOQ: 0.5 pmol/l		
Specificity:	This assay recognizes endogenous and synthetic human NT-proCNP.		
Precision:	Intra-assay (n=5) ≤ 6%, Inter-assay (n=8) ≤ 7%		
Spike/Recovery (average recovery spiked with 64 pmol/l synthetic NT-proCNP):	Serum (n=6): 101%	Heparin plasma (n=2): 93%	
	EDTA plasma (n=6): 99%	Citrate plasma (n=2): 100%	
Dilution linearity of endogenous NT-proCNP:	<u>Average % expected of dilution:</u>	<u>1+1</u>	<u>1+3</u>
	Serum (n=6)	99	98
	EDTA plasma (n=6)	103	98
	Heparin plasma (n=2)	100	100
	Citrate plasma (n=2)	96	92
Values from apparently healthy individuals:	Median serum (n=32) = 14.5 pmol/l Median EDTA plasma (n=33) = 15 pmol/l Median heparin plasma (n=18) = 13.5 pmol/l Median citrate plasma (n=18) = 12 pmol/l Each laboratory should establish its own reference range for the samples under investigation. Do not change sample type during the study.		

For further information on assay characteristics and antibody specificity please visit our website www.bmgrp.com (see Validation Data) or contact our customer service by e-mail export@bmgrp.com or by phone +43/ 1/ 29107-45.

10) PRECISION

Intra-assay: 2 samples were tested 5 times within 1 assay lot by 1 operator.

Inter-assay: 2 samples were tested 8 times in 2 different kit lots by 2 different operators.

Intra-assay (n=5)	Sample 1	Sample 2	Inter-assay (n=8)	Sample 1	Sample 2
Mean (pmol/l)	7.9	65.3	Mean (pmol/l)	8.2	64.1
SD (pmol/l)	0.47	1.25	SD (pmol/l)	0.54	1.42
CV (%)	6	2	CV (%)	7	2

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 colorless 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 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 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. The stop solution contains sulfuric acid, contact can lead to irritations of eyes and skin. Flush with water after contact!

13) LITERATURE

1. Dynamic response of C-type natriuretic peptide and its aminoterminal propeptide (NTproCNP) to growth hormone treatment in children with short stature. *Olney RC et al., Clin Endocrinol, 2016; 85(4):561-568.*
2. Serum NT-proCNP levels increased after initiation of GH treatment in patients with achondroplasia/hypochondroplasia. *Kubota T et al., Clin Endocrinol (Oxf), 2016; 84(6):845-850.*
3. C-type natriuretic peptide in complicated pregnancy: increased secretion precedes adverse events. *Reid RA et al., J Clin Endocrinol Metab, 2014; 99(4):1470-1478.*
4. Effects of pre-eclampsia and fetal growth restriction on C-type natriuretic peptide. *Espiner, E A et al., BJOG, 2015; 122:1236-1243.*
5. Prognostic value of circulating amino-terminal pro-C-type natriuretic peptide in critically ill patients. *Koch et al., Critical Care, 2011; 15:R45.*
6. The prognostic value of concomitant assessment of NT-proCNP, C-reactive protein, procalcitonin and inflammatory cytokines in septic patients. *Tomasiuk R et al., Crit Care, 2014; 25;18(3):440.*
7. C-Type Natriuretic Peptides in Coronary Disease. *Prickett TCR et al., Clin Chem, 2017; 63(1):316-324.*
8. The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: from molecular basis to treatment. *Volpe M et al., Clinical Science, 2016; 130:57-77.*

1) EINLEITUNG

C-Typ-natriuretisches Peptid (CNP) ist ein parakriner Wachstumsfaktor, der in zahlreichen Geweben exprimiert wird, einschließlich des vaskulären Endothels, wo es vasoprotektiv wirken soll. In endothelialen Zellen und Makrophagen wird es als Reaktion auf verschiedene Stimuli, einschließlich entzündlicher Mediatoren, sezerniert. CNP wird in Geweben schnell abgebaut und nur geringe Mengen gelangen in die Zirkulation. Dagegen wird der N-terminale Teil des Pro-Hormons nicht so rasch abgebaut und zirkuliert in deutlich höheren Konzentrationen als CNP. Deshalb ist NT-proCNP ein wertvoller Biomarker, um die CNP-Synthese im Gewebe zu bestimmen. CNP spielt eine maßgebliche Rolle beim Längenwachstum. Es wird in der Wachstumsplatte produziert und die Signale erfolgen durch einen parakrinen Mechanismus. Jüngste Studien haben gezeigt, dass die Plasmakonzentrationen von NT-proCNP mit der linearen Wachstumsgeschwindigkeit in allen Phasen des Skelettwachstums korrelieren und während der rhGH-Therapie zunehmen (1). Weiters sind Serum NT-proCNP Werte nach beginnender Behandlung mit Wachstumshormonen in Patienten mit Achondroplasie/ Hypochondroplasie erhöht (2). Frauen mit Schwangerschaftskomplikationen, wie vermindertem fötalen Wachstum und Präeklampsie, zeigen schon früh in der Schwangerschaft signifikant erhöhte NT-proCNP-Werte (3,4). Die NT-proCNP-Konzentration zum Zeitpunkt der Aufnahme hat eine ausreichende Sensitivität und Spezifität, um die natürlich vorkommende Sepsis vom nicht-septischen systemischen Entzündungsreaktionssyndrom (SIRS) (5, 6) zu unterscheiden. Vor kurzem demonstrierten *Prickett und Kollegen* in einer Kohorte von über 2000 Personen, dass im Gegensatz zu der engen Assoziation von NT-proBNP mit der Herzfunktion sowie als Prädiktor nach einem Myokardinfarkt, Plasma NT-ProCNP stark mit der Nierenfunktion korreliert. NT-proCNP ist daher ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität und einer kardialen Wiederaufnahme bei Personen mit instabiler Angina. (7).

Interessensgebiete:

- Vaskuläre Erkrankungen
- Wachstum
- Knochenentwicklung
- Angiogenese
- Sepsis

2) INHALT DES KITS

CONT	KIT KOMPONENTEN	MENGE
PLATE	Polyklonaler Schaf anti NT-proCNP Antikörper, beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter, verpackt in einem Aluminiumbeutel mit Trockenmittel	12 x 8 Teste
WASHBUF	Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtige Kappe	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay Puffer, rote Kappe, gebrauchsfertig	1 x 8 ml
STD	Standards (0; 4; 8; 16; 32; 64; 128 pmol/l), weiße Kappen, lyophilisiert	7 Fläschchen
CTRL	Kontrollen A+B, gelbe Kappen, lyophilisiert, exakte Konzentration siehe Etiketten	2 Fläschchen
CONJ	Konjugat (Schaf anti NT-proCNP-HRPO), braune Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml
SUB	Substrat (TMB Lösung), blaue Kappe, gebrauchsfertig	1 x 13 ml
STOP	Stopplösung, weiße Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

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

4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Kalibrierte Präzisionspipetten für 20 µl, 50 µl und 100 µl und, 300 µl, inkl. Pipettenspitzen
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (630 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

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

Probenvorbereitung:

Abnahme von venösem Blut mittels standardisierter Blutabnahmeröhrchen zur Gewinnung von Serum oder Plasma. Durchführung der Zentrifugation des Blutes laut Herstellerangaben der Probenentnahmebehälter, so schnell wie möglich. Das gewonnene Serum oder Plasma soll so schnell wie möglich gemessen werden. Für Langzeit Lagerung sollen die Proben aliquotiert und bei -25°C oder tiefer gelagert werden. Bis zu 4 Frier/Tau-Zyklen verändern die Messwerte nicht. Auftaute Proben so bald wie möglich abarbeiten. Lipämische und hämolytische Proben können falsche Ergebnisse liefern. Proben vor Verwendung gut mischen. Wir empfehlen Doppelbestimmung für alle Werte. Proben mit Ergebnissen über STD7 können mit ASYBUF (Assay Puffer) verdünnt und erneut getestet werden.

Weitere Informationen zur Probenstabilität finden Sie auf unserer Webseite www.bmgrp.com (s. Validation Data) oder kontaktieren Sie unseren Kundenservice, Email unter export@bmgrp.com, Tel. unter +43/ 1/ 29107- 45.

Reagenzienvorbereitung:

WASHBUF (Waschpuffer): Das mitgelieferte Konzentrat wird 1:20 verdünnt (zB. 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 (Standards) und CTRL (Kontrollen): Lösen Sie das Lyophilisat in jeweils 300 µl destilliertem oder deionisiertem Wasser bei Raumtemperatur (18-26°C) für 15 min. Gut mischen. Die genaue Konzentrationen sind auf den Etiketten vermerkt. Rekonstituierte STD und CTRL sind bei -25°C oder tiefer bis zum Ablaufdatum haltbar. STD und CTRL sind für 3 Frier/Tau-Zyklen stabil.

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 50 µl ASYBUF (Assay Puffer, rote Kappe) in alle Wells.
2. Pipettieren Sie 20 µl STD/PROBE/CTRL (Standard/Probe/Kontrolle) in Doppelbestimmung in die Mikrotiterstreifen, gut mischen.
3. Streifen abdecken und für 20 min bei Raumtemperatur (18-26°C) inkubieren.
4. Pipettieren Sie 50 µl CONJ (Konjugat, braune Kappe) in alle Wells, gut mischen.
5. Streifen abdecken und 3 Stunden bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.
6. Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen. Nach dem letzten Waschschrift Resten von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
7. Pipettieren Sie 100 µl SUB (Substrat, blaue Kappe) in alle Wells, gut mischen.
8. 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.
9. Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stopplösung, weiße Kappe) in alle Wells, gut mischen.
10. Sofort die Extinktion bei 450 nm messen, falls möglich 630 nm als Referenz verwenden.

Protokolle für Urinproben, ZK Überstände und non-human Spezies finden Sie auf unserer Webseite www.bmgrp.com (s. Validation Data) oder kontaktieren Sie unseren Kundenservice per e-mail export@bmgrp.com oder Telefon +43-1-29107-45

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 höchsten Standards den Wert 1,50 oder höher erreicht und die Werte der CTRL im gültigen Bereich sind (Bereiche siehe Etiketten).

9) TESTMERKMALE

Methode:	Sandwich ELISA, HRP/TMB, 12x8-well strips		
Probentyp:	Serum, EDTA Plasma, Heparin Plasma und Citrat Plasma Protokolle für Urin, ZK Überstände und nicht humane Proben verfügbar		
Standardbereich:	0 to 128 pmol/l (7 Standards und 2 Kontrollen in humaner Serum Matrix) Standards: 0/4/8/16/32/64/128 pmol/l		
Umrechnungsfaktor pg/ml zu pmol/l:	1 pg/ml = 0,201 pmol/l (MW: 4,985 kDa) 1 pmol/l = 4,985 pg/ml		
Probenvolumen:	20 µl / Vertiefung		
Inkubationszeiten:	20 min / 3 h / 30 min		
Sensitivität:	LOD: (0 pmol/l + 3 SD): 0,7 pmol/l; LLOQ: 0,5 pmol/l		
Spezifität:	Dieser Assay erkennt endogenes und synthetisches, humanes NT-proCNP.		
Präzision:	Intra-assay (n=5) ≤ 6%, Inter-assay (n=8) ≤ 7%		
Wiederfindung (durchschnittliche Wiederfindung nach spike mit 64 pmol/l synth. NT-proCNP):	Serum (n=6) = 101%	Heparin plasma (n=2) = 93%	
	EDTA plasma (n=6) = 99%	Citrat plasma (n=2) = 100%	
Verdünnungslinearität (endogene NT-proCNP Werte nach VD mit ASYBUF):	<u>Durchschnittliche Wiederfindung (%) nach Verdünnung</u>	<u>1+1</u>	<u>1+3</u>
	Serum (n=6)	99	98
	EDTA plasma (n=6)	103	98
	Heparin plasma (n=2)	100	100
	Citrat plasma (n=2)	96	92
Werte von anscheinend gesunden Spendern:	Median Serum (n=32) = 14,5 pmol/l Median EDTA plasma (n=33) = 15 pmol/l Median heparin plasma (n=18) = 13,5 pmol/l Median citrate plasma (n=18) = 12 pmol/l Jedes Labor sollte den Normalbereich für seine Proben evaluieren. Wechseln Sie nicht die Probenmatrix innerhalb einer Studie.		

Nähere Informationen zu den Testmerkmalen und der Antikörperspezifität finden Sie auf unserer Website unter www.bmgrp.com (s. Validation Data) oder kontaktieren Sie unseren Kundenservice per Email an export@bmgrp.com oder telefonisch unter +43/ 1/ 29107-45.

10) PRÄZISION

Intra-assay: 2 Proben wurden 5 mal in einem Test von 1 Operator getestet.

Inter-assay: 2 Proben wurden 8 mal in 2 verschiedenen Lots von 2 verschiedenen Operatoren getestet

Intra-assay (n=5)	Sample 1	Sample 2	Inter-assay (n=8)	Sample 1	Sample 2
Durchschnitt (pmol/l)	7.9	65.3	Durchschnitt (pmol/l)	8,2	64,1
SD (pmol/l)	0.47	1.25	SD (pmol/l)	0,54	1,42
VK (%)	6	2	VK (%)	7	2

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 Mischen der Reagenzien.

12) VORSICHTSMASSNAHMEN

Alle Bestandteile humanen Ursprunges wurden 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 300 als Konservierungsmittel.

Proclin 300 ist in der verwendeten Konzentration nicht toxisch. Vermeiden Sie Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhaut. 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.
- Die Stopplösung enthält Schwefelsäure, welche bei Kontakt die Augen und Haut reizen kann. Bei Berührung gründlich mit Wasser spülen.

13) LITERATUR

Siehe Kapitel 13) LITERATURE im englischen Teil des Beipacktextes.

Notes:

Notes:

Notes:

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 användningarna 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 medico per diagnostica in vitro (per uso diagnostico 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-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 rozmezi



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 / 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-20812 NT-proCNP

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:

- 1) Pipette 50 µl ASYBUF (Assay Buffer) into each well.
- 2) Add 20 µl STD/ SAMPLE/ CTRL (standard/ sample/ control) in duplicates into respective wells, swirl gently.
- 3) Cover tightly and incubate for 20 min at room temperature (18-26°C).**
- 4) Add 50 µl CONJ (Conjugate, amber cap) into each well, swirl gently.
- 5) Cover tightly and incubate for 3 hours at room temperature (18-26°C) in the dark.**
- 6) Aspirate and wash wells five times with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer). Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- 7) Add 100 µl SUB (Substrate) into each well, swirl gently.
- 8) Incubate for 30 minutes at room temperature (18-26°C), in the dark.**
- 9) Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well, swirl gently.
- 10) Read optical density at 450 nm with reference 630 nm, if available.

For the measurement of NT-proCNP in human urine, cell culture supernatants and non-human samples please visit our website www.bmgrp.com (see *Validation Data*).