

Arbeitsanleitung/Manual

Urodilatin RIA Kit

Zur in vitro Bestimmung von Urodilatin in Plasma und Urin

For the in vitro determination of urodilatin in plasma and urine

Gültig ab/valid from 05.09.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 8021

Packungsgröße/Package size: 100 Tests/100 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim
Tel.: ++49 6251 70190-0
Fax: ++ 49 6251 849430
e.mail: Immundiagnostik@t-online.de
www.Immundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Table of content	2
1. VERWENDUNGSZWECK	3
2. EINLEITUNG	3
3. TESTPRINZIP	4
4. INHALT DER TESTPACKUNG	4
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	5
7. HINWEISE UND VORSICHTSMABNAHMEN	5
8. PROBENVORBEREITUNG	6
9. TESTDURCHFÜHRUNG	7
HINWEISE	7
PIPETTIERSCHEMA	7
10. ERGEBNISSE	8
MUSTEREICHKURVE	8
11. EINSCHRÄNKUNGEN	9
12. QUALITÄTSKONTROLLE	9
13. LITERATUR	9
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	10

1. INTENDED USE	12
2. INTRODUCTION	12
3. PRINCIPLE OF THE TEST	13
4. MATERIAL SUPPLIED	13
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	13
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	14
7. PRECAUTIONS	14
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	15
9. ASSAY PROCEDURE	16
PROCEDURAL NOTES	16
TEST PROCEDURE	16
10. RESULTS	17
TYPICAL CALIBRATION CURVE	17
11. LIMITATIONS	18
12. QUALITY CONTROL	18
13. REFERENCES	18
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	19

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von **Urodilatin** in Urin geeignet. Nur zur *in vitro* Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Urodilatin ist ein natriuretisches Peptidhormon, das in der Niere gebildet wird und eine wichtige Funktion in der Regulation des Wasser- und Salzhaushaltes ausübt.

Es weist mit Ausnahme von 4 zusätzlichen N-terminalen Aminosäuren völlige Homologie mit ANP auf.

In tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen konnte die physiologische Bedeutung für die Regulation der Salz- und Wasserausscheidung durch die Korrelation der Höhe der Urodilatinsekretion und der Natriumausscheidung nachgewiesen werden. In folgenden pharmakologischen Studien wurde **Urodilatin** i.v. appliziert und hatte eine starke Diurese und Natriurese zur Folge. **Urodilatin** induzierte dabei im Vergleich zu ähnlichen ANP-Dosen die stärkere Wirkung. In Pilotstudien konnte gezeigt werden, daß die Prophylaxe und Therapie mit Urodilatin im postoperativen Verlauf von Herz- und Lebertransplantationen das Risiko eines akuten Nierenversagens reduziert. Weitere Prüfungen zur Bestätigung dieser Aussagen folgen.

In neuesten Studien zur Behandlung von Herzinsuffizienz (koronare Herzkrankheit, Herzklappenerkrankung) hatten **Urodilatin**-gaben eine Abnahme der Vorlast und eine gesteigerte Diurese und Natriurese zur Folge.

Weiterhin wird **Urodilatin** aufgrund seiner relaxierenden Wirkung auf die Bronchialmuskulatur bei der therapeutischen Behandlung von Asthmatikern bereits in der klinischen Phase 3 geprüft.

Die Bestimmung des **Urodilatin**s erlaubt nicht nur Aussagen über das Funktionieren des renalen Systems, sondern ist ein interessanter Parameter für die Bereiche Herzerkrankungen, Transplantation und Asthma bronchiale.

3. TESTPRINZIP

Dieser Radioimmuno-Assay (RIA) dient zur quantitativen Bestimmung des **humanen (h) Urodilatins**. In diesem RIA konkurriert das Urodilatin aus den Patientenproben bzw. Standards mit dem ^{125}I -markierten **h Urodilatin** (Tracer) um die Bindungsstellen des anti-Urodilatin Antikörpers (1. AK). Die Antikörper-gebundenen Antigene werden mit Hilfe einer spezifischen Doppelantikörperfällung getrennt. Nach einem Waschvorgang erfolgt die Quantifizierung vom gebundenen h Urodilatin. Die Proben bzw. Standards werden im Gamma-Counter gemessen. Die Menge des gebundenen Tracers ist umgekehrt proportional dem **h Urodilatin** Gehalt.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Kit Komponenten	Menge
K 8021T	^{125}I Urodilatin < 110 kBq (rot gefärbt)	1 x 11 ml
K 8021WP	RIA Waschpuffer (gebrauchsfertig)	1 x 50 ml
K 8021A1	1. Antikörper (Schaf anti-Urodilatin)	1 x 11 ml
K 8021A2	2. Antikörper (Esel anti-Ziege)	1 x 55 ml
K 8021ST	Standardkonzentrat, Genauere Konzentration auf dem Etikett	1 x 25 μl
K 8021VP	Verdünnungspuffer	1 x 50 ml

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Deionisiertes Wasser
- 12 x 75 mm Teströhrchen aus Polypropylen mit Spitzboden
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10 - 1000 μl
- Multikanal- bzw. Multipipette
 - Kühlschrank (2-8 °C) und Eisschrank
 - Laborzentrifuge, 1500-1800 x g)
 - Vortexer
 - Gamma-Counter

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Das **Standardkonzentrat** wird **1:10.000** mit Verdünnungspuffer wie folgt vorverdünnt:

5 µl Standardkonzentrat + 495 µl Verdünnungspuffer

Verdünnung 1 (1:100)

10 µl der Verdünnung 1 + 990 µl Verdünnungspuffer

Verdünnung 2 (S1 = 1000 ng/ml)

Für die Standardkurve wird S1 in **1:3** Verdünnungsschritten wie folgt weiterverdünnt:

S1	1000 pg/ml
S2 = 200 µl S1 + 400 µl Verdünnungspuffer =	333 pg/ml
S3 = 200 µl S2 + 400 µl Verdünnungspuffer =	111 pg/ml
S4 = 200 µl S3 + 400 µl Verdünnungspuffer =	37.0 pg/ml
S5 = 200 µl S4 + 400 µl Verdünnungspuffer =	12.3 pg/ml
S6 = 200 µl S5 + 400 µl Verdünnungspuffer =	4.1 pg/ml
S7	Verdünnungspuffer = 0 pg/ml

- Das **Standardkonzentrat** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum gelagert werden.
- **Die verdünnten Standardlösungen können nicht gelagert werden.**
- Alle anderen Reagenzien sind gebrauchsfertig und bei **2-8°C** bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befundet. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Der Tracer enthält ¹²⁵I ist als radioaktiv einzustufen. Es ist darauf zu achten, daß nur in den dafür genehmigten Räumen unter den entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen gearbeitet werden darf. Es sollte mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Leichte Kontaminierungen mit dem Tracer können mit Seifenlauge abgewaschen werden, starke Kontaminierungen sollten von einem Arzt behandelt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

8. PROBENVORBEREITUNG

Urin

Benötigt werden Eppendorfröhrchen (1,5ml) und Probengefäße mit einem Fassungsvermögen von mind. 2 ml (z.B. PP-Röhrchen 12x75mm)

- Eine der Probenzahl entsprechende Menge Eppendorfröhrchen (**1,5 ml**) vorkühlen (Trockeneis oder Gefrierschrank).
- **99,6% Ethanol** und eine **70%ige wäßrige Ethanollösung** (z.B. 30 ml Aqua. dest + 70 ml Ethanol) ebenfalls vorkühlen (Trockeneis oder Gefrierschrank).
Pro Probe werden jeweils **1 ml 99,6% Ethanol** und **1 ml 70%ige Ethanollösung** benötigt.
- **500 µl Probe** in ein eiskaltes Eppendorfröhrchen pipettieren. Der Eppendorfständer sollte während des Pipettierens auf einem Kühlakku stehen.
- Zu jeder Probe **1 ml eiskaltes 99,6% Ethanol** geben, für **3-5 sek.** vortexen und die Proben für **5 min** bei Raumtemperatur stehen lassen.
- Proben für **10 min.** bei 1500-1800 g zentrifugieren. In der hochoptimierten Eppendorfszentrifuge genügen 2 min.
- Den Überstand in ein neues Gefäß dekantieren. Das Pellet bleibt im Eppendorfröhrchen. **1 ml eiskalte 70% Ethanollösung** auf das Pellet pipettieren, kurz vortexen, **5 min** bei Raumtemperatur stehen lassen und anschließend zentrifugieren.
- Den **Überstand** abdekantieren, mit dem Überstand aus dem vorherigen Schritt vereinigen und das Pellet verwerfen. Die vereinigten Überstände bis zur Trockene eindampfen. Die Eindampfzeit ist vom verwendeten Gerät abhängig.
- Die eingedampften Proben in **500 µl** Verdünnungspuffer resuspendieren.

Plasma

Plasma wird direkt eingesetzt.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumena sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

Pipettierschema

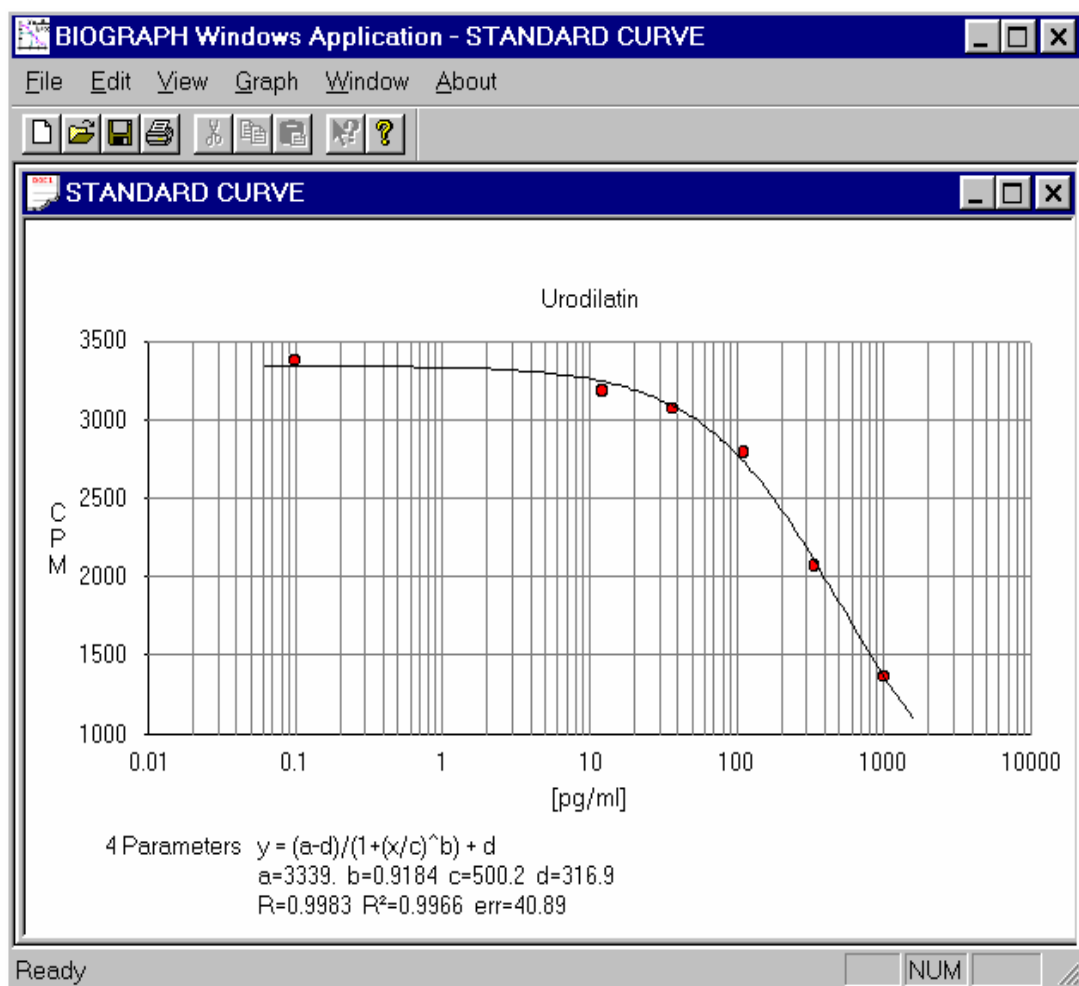
Die Bestimmungen sind in Polypropylen RIA Röhrchen in Doppelwerten durchzuführen.

1. **100 µl** NSB, Standards und extrahierte Patientenproben in RIA Röhrchen vorlegen
2. **100 µl** 1. Antikörper (nicht in NSB!) zugeben
3. **Über Nacht** (16-20 h) bei 4°C inkubieren
4. **100 µl** Tracer zugeben
5. **3 Std** bei 4°C inkubieren
6. **500 µl** 2. Antikörper zupipettieren
7. **1 Std** bei Raumtemperatur inkubieren
8. **10 min.** bei 1800 x g zentrifugieren, Überstände absaugen
9. **1 ml** Waschlösung zum Sediment pipettieren
10. **10 min.** zentrifugieren, Überstände absaugen
11. Sediment **1 min.** im Gamma-Counter messen

10. ERGEBNISSE

Zur Auswertung des Testes empfehlen wir die 4-Parameter-Funktion. Alternativ kann auch eine Punkt-zu-Punkt-Auswertung oder eine gewichtete Spline-Funktion gewählt werden. Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte diese der Operator durchführen.

Mustereichkurve



Probenmaterial

Die ermittelten Konzentrationen werden mit dem **Verdünnungsfaktor** multipliziert um die tatsächlichen Konzentrationen zu ermitteln.

11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit hohen Urodilatin Konzentrationen, die außerhalb der Standardkurve liegen, werden mit Verdünnungspuffer verdünnt und nochmals bestimmt.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen oder Plasma Pools, bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Proben nicht gewährleisten.

13. LITERATUR

1. Effects of posture and positive airway pressure on plasma atrial natriuretic peptide and renal urodilatin excretion
Heringlake et al (2001) in Press *Clinic Neph*
2. Effects of angiotensin II and the AT₁ receptor antagonist losartan on the renal excretion of urodilatin
Heringlake et al (2001) in Press *Kidney and Blood pressure*
3. Diuretic effect of hypoxia, hypocapnia, and hyperpnea in humans: relation to hormones and O₂ chemosensitivity
Hildebrandt et al (2000) *J Appl Physiol* 88:599-610
4. Effect of oral contraceptives on the urinary excretion of biochemical markers indicating vasoactive action
Seeger et al (2000) 25:221-226
5. Urinary and plasma urodilatin measured by a direct RIA using a highly specific antiserum
Meyer et al (1998) *Clin Chem* 44:2524-2529
6. The effect of estradiol on urodilatin production in postmenopausal women
Seeger et al (1998) *Arch Gynecol Obstet* 262:65-68
7. The influence of norethisterone acetate on urinary urodilatin excretion in postmenopausal women
Mueck et al (1998) *Clin Exp Obst & Gyn* 25:76-78

Poster

1. Urodilatin: does this natriuretic peptide hold the key to nocturnal polyuria?
Day et al (2001) Proc ACB National Meeting
2. Effect of sexual steroids on urinary Urodilatin excretion in postmenopausal women
Seeger et al (1997) 8th Annual Meeting of the North American Menopause Society Bosten, September 4-6
3. Effect of Estradiol on Urodilatin synthesis
Seeger et al (1997) 8th Annual Meeting of the North American Menopause Society Bosten, September 4-6

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken oder, wenn vermerkt, zur *in vitro* Diagnostik eingesetzt werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befundet. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid bzw. Thimerosal sind giftig. ¹²⁵J-Tracer ist giftig und karzinogen. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettierolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller - der Immundiagnostik zurück zu senden.

Urodilatin RIA Kit

For the in vitro determination of urodilatin in plasma and urine

Valid from 05.09.2005

Catalogue No.: K 8021

Package size: 100 determinations

Storage: 2 - 8 °C



1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of **Urodilatin** in plasma and urine. For research use only.

2. INTRODUCTION

Urodilatin is a natriuretic peptide hormone, which is formed in the kidney and has an important function in the regulation of the body's water and salt reserves.

It shows, with the exception of 4 additional N-terminal amino acids, a complete homology with ANP.

In animal experiments and clinical investigations its physiological relevance for the regulation of the water and salt reserves could be demonstrated by the correlation between the amount of urodilatin and sodium secretion. In the following pharmacological studies, **urodilatin** was applied intravenously and showed a strong diuretic and natriuretic effect. In addition, **urodilatin** induced a much stronger effect compared to the effect of similar ANP doses. Pilot studies demonstrated prophylactic and therapeutic effect of **urodilatin** in reducing the risk of acute kidney failure after heart and liver transplantations.

The latest studies on treatment of heart insufficiency (coronary heart disease, valvular disease of the heart) show that administration of **urodilatin** leads to reduction of the load and increase in diuresis and natriuresis.

Furthermore, **urodilatin** is already being tested in clinical trials stage III as a therapeutic drug for asthma patients due to its relaxing effects on the bronchial muscles.

The determination of **urodilatin** not only allows predictions concerning the functioning of the renal system, but it is also an interesting parameter in the field of heart diseases, transplantations and bronchial asthma.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This radioimmunoassay is suitable for quantification of **human urodilatin**. Urodilatin in both, standards and samples, competes with ^{125}I -labeled **human urodilatin** (tracer) for binding to the anti-urodilatin antibody (1st antibody). Bound antibody-antigen is separated from the free antigen by double antibody precipitation. The quantity of the bound tracer is indirectly proportional to the **urodilatin** content.

4. MATERIAL SUPPLIED

Catalogue No	Kit Component	Quantity
K 8021T	^{125}I Urodilatin < 110 kBq (red)	1 x 11 ml
K 8021WP	RIA wash buffer, ready-to-use	1 x 50 ml
K 8021A1	1 st Antibody (Sheep anti-Urodilatin)	1 x 11 ml
K 8021A2	2 nd Antibody (donkey anti-sheep)	1 x 55 ml
K 8021ST	Calibrator concentrate	1 x 25 μl
K 8021VP	Dilution buffer	1 x 50 ml

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Deionized water
- Polypropylene test tubes 12 x 75 mm
- Precision pipettes calibrated to deliver 10-1000 μl
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Refrigerator (2-8°C) and freezer
- Centrifuge capable of 1500-1800 x g
- Vortex-Mixer
- Gamma-Counter

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- The **calibrator concentrate** must be diluted **1:10.000** with dilution buffer as follows:

5 µl calibrator concentrate + 495 µl dilution buffer

Dilution 1 (1:100)

10 µl of dilution 1 + 990 µl dilution buffer

Dilution 2 (S1 = 1000 ng/ml).

Standard curve solutions must be prepared from **S1** in **1:3** dilution steps by adding dilution buffer as follows:

S1	1000 pg/ml
S2 = 200 µl S1 + 400 µl dilution buffer =	333 pg/ml
S3 = 200 µl S2 + 400 µl dilution buffer =	111 pg/ml
S4 = 200 µl S3 + 400 µl dilution buffer =	37.0 pg/ml
S5 = 200 µl S4 + 400 µl dilution buffer =	12.3 pg/ml
S6 = 200 µl S5 + 400 µl dilution buffer =	4.1 pg/ml
S7	dilution buffer = 0 pg/ml

- Standard concentrate** is stable at **2-8°C** until the expiry date stated on the label.
- Diluted standards can not be stored.**
- All other test reagents are ready for use. Test reagents are stable until the date of expiry (see label of test package) when stored at 2-8°C.

7. PRECAUTIONS

- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- The tracer contains ¹²⁵I and is a radioactive solution. Even diluted, it still must be handled with care. It should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spills should be wiped out immediately with copious quantities of water. Do not breath vapor and avoid inhalation.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Urine samples

Use Eppendorf cups (1,5 ml) and Polypropylene test tubes with a volume capacity of 2 ml (12 x 75 mm)

- Pre-cool the necessary number of Eppendorf cups (1,5 ml) in a refrigerator or freezer
- Pre-cool **ethanol** (99.6%) and a **70% ethanol** water solution (e.g. 30 ml aqua dest. and 70 ml ethanol 99.6%) on dry ice or in a freezer, too.
1 ml ethanol 99.6% and **1 ml** 70% ethanol solution are needed per each sample
- Add **500 µl sample** in a pre-cooled Eppendorf cups (1.5 ml with lid). Put the rack with sample tubes on a cool-brick for better precipitation
- Add **1 ml** ice-cold 99.6% ethanol to each sample, vortex for 3-5 seconds and store the samples at room temperature for 5 minutes.
- Centrifuge samples for **10 minutes** at 1500 – 1800 x g. In a high-speed -centrifuge 2 minutes are sufficient.
- Decant the supernatant into the polypropylen-tube 12x75mm. Leave the pellet in the bottom of the 1.5 ml sample tube. Add **1 ml 70% ethanol** solution into the pellet in the 1.5 ml sample tube, vortex for 3-5 seconds, store for **5 minutes** at room temperature. Afterwards centrifuge under the same conditions.
- Decant the **supernatant** into the tube with the corresponding 1. supernatant and evaporate till dryness. The time needed for evaporation depends on the used evaporator.
- Resuspend the evaporated sample with **500 µl** dilution buffer.

Plasma samples

Use plasma samples directly.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.

Test procedure

The tests should be carried out in polypropylene RIA tubes in duplicates.

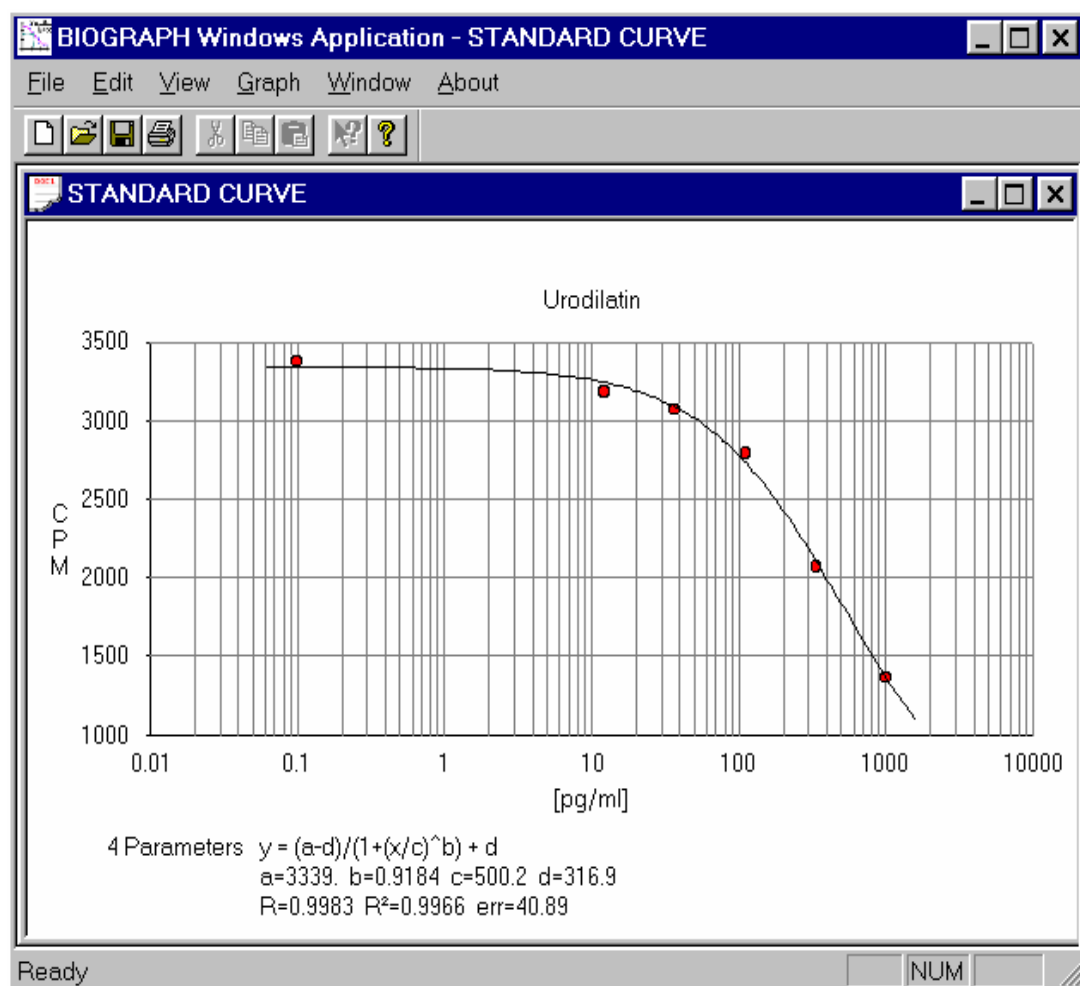
1. Pipette **100 µl** of NSB, standards and extracted samples in RIA tubes
2. Add **100 µl** 1. antibody to each tube (not to NSB)
3. Incubate **over night** (16 – 20 hrs) at 4°C
4. Add **100 µl** tracer (125-I-h urodilatin, red coloured)
5. Incubate for **3 hrs** at 4°C
6. Add **500 µl** 2. antibody (mix vigorously prior to use)
7. Incubate for **1 hr** at room temperature
8. Centrifuge for **10 min.** at **1800 x g**, decant the supernatants
9. Add **1 ml** washing solution to each sediment and mix vigorously
10. Centrifuge for **10 min.** at **1800 x g**, decant the supernatants
11. Count the sediment in the gamma-counter for **1 min.**

10. RESULTS

A calibration curve is constructed from the standards. Commercially available software can be used as well as graph paper. Results of the samples are read from this calibration curve.

THE CALIBRATION CURVE IS NOT LINEAR, therefore a spline-algorithm is recommended.

Typical calibration curve



For the actual concentration of the samples, the measured values must be multiplied by the **dilution factor**.

11. LIMITATIONS

Samples with Urodilatin levels greater than the highest calibrator value, should be further diluted and re-assayed.

12. QUALITY CONTROL

Control samples or plasma pools should be analyzed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid, if within the same assays one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

13. REFERENCES

1. Effects of posture and positive airway pressure on plasma atrial natriuretic peptide and renal urodilatin excretion
Heringlake et al (2001) in Press *Clinic Neph*
2. Effects of angiotensin II and the AT₁ receptor antagonist losartan on the renal excretion of urodilatin
Heringlake et al (2001) in Press *Kidney and Blood pressure*
3. Diuretic effect of hypoxia, hypocapnia, and hyperpnea in humans: relation to hormones and O₂ chemosensitivity
Hildebrandt et al (2000) *J Appl Physiol* 88:599-610
4. Effect of oral contraceptives on the urinary excretion of biochemical markers indicating vasoactive action
Seeger et al (2000) 25:221-226
5. Urinary and plasma urodilatin measured by a direct RIA using a highly specific antiserum
Meyer et al (1998) *Clin Chem* 44:2524-2529
6. The effect of estradiol on urodilatin production in postmenopausal women
Seeger et al (1998) *Arch Gynecol Obstet* 262:65-68
7. The influence of norethisterone acetate on urinary urodilatin excretion in postmenopausal women
Mueck et al (1998) *Clin Exp Obst & Gyn* 25:76-78

Posters

1. Urodilatin: does this natriuretic peptide hold the key to nocturnal polyuria?
Day et al (2001) Proc ACB National Meeting
2. Effect of sexual steroids on urinary Urodilatin excretion in postmenopausal women
Seeger et al (1997)) 8th Annual Meeting of the North American Menopause Society Bosten, September 4-6
3. Effect of Estradiol on Urodilatin synthesis
Seeger et al (1997) 8th Annual Meeting of the North American Menopause Society Bosten, September 4-6

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Guidelines for medical laboratories should be observed.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or thimerosal as bactericides and ^{125}J -urodilatin as a tracer. Sodium azide and thimerosal are toxic and ^{125}J radioactive. Contact with skin or mucous membranes must be avoided.
- The reagents should not be used after the date of expiry (see label on the test package).
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.