

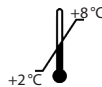
IDK[®] FABP2 ELISA

**Zur in-vitro-Bestimmung von Fatty Acid Binding Protein 2
(FABP2) in Serum und Plasma**

**For the in vitro determination of fatty acid binding protein 2
(FABP2) in serum and plasma**

Gültig ab / Valid from 2024-03-14

REF K 6809



IVD **CE**



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. INHALT DER TESTPACKUNG	2
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	3
5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN	4
6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG	4
<i>Probenlagerung</i>	4
7. TESTDURCHFÜHRUNG	5
<i>Testprinzip</i>	5
<i>Pipettierschema</i>	5
8. ERGEBNISSE	7
9. EINSCHRÄNKUNGEN	7
10. QUALITÄTSKONTROLLE	8
<i>Referenzwerte</i>	8
11. TESTCHARAKTERISTIKA	9
<i>Genauigkeit – Präzision</i>	9
<i>Linearität</i>	9
<i>Analytische Sensitivität</i>	10
12. VORSICHTSMASSNAHMEN	11
13. TECHNISCHE MERKMALE	11
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	12
15. LITERATUR	12
<i>Allgemeine Literatur</i>	12
16. SYMBOLE	13

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von Fatty Acid Binding Protein 2 (FABP2) aus Serum und Plasma geeignet.

Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Die Familie der intrazellulären Fettbindepoteine (*intracellular fatty acid-binding proteins*, FABPs) besteht aus fast 20 Mitgliedern. Sie wird in drei Gruppen unterteilt: hepatische, intestinale und kardiale FABPs. FABPs beteiligen sich an der Aufnahme, dem intrazellulären Metabolismus und/oder dem Transport von langkettigen Fettsäuren. Möglicherweise sind sie auch an der Modulation von Zellwachstum und -proliferation beteiligt.

FABP2 ist vermutlich an der Synthese triglyceridreicher Lipoproteine beteiligt. Es bindet mit hoher Affinität gesättigte langkettige Fettsäuren und mit niedriger Affinität ungesättigte langkettige Fettsäuren. Es unterstützt möglicherweise die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase in der Funktion eines Lipidsensors. Es liegt in großen Mengen im Zytosol der Epithelzellen des Dünndarms vor.

Indikationen

- Pankreatitis [1, 2]
- nekrotisierende Enterocolitis [3]
- refraktäre Zöliakie [4]
- Morbus Crohn [5]

3. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 6809	PLATE	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K 0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10x	2 x 100 ml
K 6809	2. AB	Detektionsantikörper, gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 6809	CONJ	Konjugat, gebrauchsfertig	1 x 15 ml

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 6809	STD	Standards, lyophilisiert (Konzentrationen dem Quality Control Protocol entnehmen)	2 x 5 vials
K 6809	CTRL 1	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich dem Quality Control Protocol entnehmen)	2 x 1 vial
K 6809	CTRL 2	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich dem Quality Control Protocol entnehmen)	2 x 1 vial
K 6809	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 50 ml
K 0002.15	SUB	Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser*
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie auf dem Etikett angegeben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz an zentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **WASHBUF** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Die lyophilisierten Standards (STD) und Kontrollen (CTRL)** sind bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. STD und CTRL werden mit **500 µl Reinstwasser** rekonstituiert und kurz geschwenkt, um eine vollständige Rekonstitution zu gewährleisten. Sie werden zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen und anschließend gründlich gemischt. **Standards und Kontrollen** (rekonstituierte STD und CTRL) **können 4 Wochen bei 2–8 °C gelagert werden**.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Probenlagerung

Frisch abgenommenes EDTA-Plasma bzw. Serum ist bei -20 °C zu lagern.

Serum-/Plasmaproben

EDTA-Plasma- oder Serumproben werden vor dem Einsatz im Test **1:5** verdünnt,

z. B. **50 µl** Probe + **200 µl** Probenverdünnungspuffer (SAMPLEBUF), gut mischen.

100 µl der Verdünnung werden pro Vertiefung im Test eingesetzt.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

Dieser ELISA dient zur quantitativen Bestimmung von FABP2 in Serum- und Plasma-proben.

Standards und vorbereitete Proben, die auf FABP2 zu untersuchen sind, werden in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte pipettiert, welche mit einem anti-FABP2-Antikörper beschichtet sind. In diesem ersten Inkubationsschritt wird FABP2 aus der Probe vom Primärantikörper an die Mikrotiterplatte gebunden. Dann wird ein mit Biotin markierter anti-FABP2-Antikörper zugegeben. Der nächste Schritt ist die Zugabe des Streptavidin-POX-Konjugats, es bildet sich folgender Komplex an der Wand der Mikrotiterplatte:

1. Antikörper – FABP2 – biotinylierter Antikörper – Streptavidin-POX-Konjugat

Als Peroxidasesubstrat wird Tetramethylbenzidin (TMB) eingesetzt. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von Säure abgestoppt. Dadurch erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die entstandene chromogene Verbindung wird photometrisch bei 450 nm gemessen. Die Intensität der Farbe ist dem FABP2-Gehalt direkt proportional. Anhand einer mitgeführten Standardkurve – optische Dichte (Absorption bei 450 nm) versus Standardkonzentration – lässt sich die Konzentration der Probe ermitteln.

Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** (15–30°C) bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Standards/Kontrollen/Proben im Protokollblatt.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen müssen zusammen mit dem Trockenmittelbeutel in der verschlossenen Aluminiumverpackung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

- | | |
|----|--|
| 1. | Die Vertiefungen vor Gebrauch 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen. |
|----|--|

2.	100 µl Standards/Kontrollen/verdünnte Proben in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
3.	Streifen abdecken und 1 Stunde bei Raumtemperatur (15–30°C) unter Schütteln* inkubieren.
4.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
5.	100 µl Detektionsantikörper (2. AB) in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
6.	Streifen abdecken und 1 Stunde bei Raumtemperatur (15–30°C) unter Schütteln* inkubieren.
7.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
8.	100 µl Konjugat (CONJ) in jede Vertiefung pipettieren.
9.	Streifen abdecken und 30 min bei Raumtemperatur (15–30°C) unter Schütteln* inkubieren.
10.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
11.	100 µl Substrat (SUB) in jede Vertiefung pipettieren.
12.	10–20 min** bei Raumtemperatur (15–30°C) im Dunkeln inkubieren.
13.	100 µl Stopplösung (STOP) in jede Vertiefung pipettieren, gut mischen.
14.	Extinktion sofort im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gemessen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

* Wir empfehlen die Streifen bei 550 rpm (Umdrehungen pro Minute) mit einem Orbit von 2 mm zu schütteln.

** Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen, den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

8. ERGEBNISSE

Die unten beschriebenen mathematischen Modelle können alternativ zur Auswertung benutzt werden. Wir empfehlen die 4-Parameter-Funktion:

1. 4-Parameter-Funktion

Für die optische Dichte empfehlen wir eine lineare Ordinate und für die Konzentration eine logarithmische Abszisse (bei einer logarithmischen Abszisse muss für den Standard mit der Konzentration 0 ein Wert kleiner 1 eingegeben werden z. B. 0,001).

2. Punkt-zu-Punkt-Auswertung

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

3. Gewichtete Spline-Funktion

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte die Kontrolle manuell durchgeführt werden.

Serum-/Plasmaproben

Die ermittelten Ergebnisse werden mit dem **Verdünnungsfaktor 5** multipliziert, um die tatsächlichen Konzentrationen zu erhalten.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit Konzentrationen oberhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können stärker verdünnt und erneut gemessen werden. Bitte beachten Sie diese stärkere Verdünnung bei der Ergebnisberechnung.

Proben mit Konzentrationen unterhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können nicht klar quantifiziert werden.

Die Obergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

höchste Konzentration der Standardkurve × *anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

Die Untergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

LoB × *anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

LoB siehe Kapitel „Testcharakteristika“.

10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

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

Referenzwerte

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

Anhand einer laborinternen Studie mit Blutproben von augenscheinlich Gesunden wurden folgende Normwerte ermittelt:

	m (Serum) [n=37]	w (Serum) [n=38]	m (Plasma) [n=37]	w (Plasma) [n=36]
Normwert [pg/ml]	118–1 936	127–1 835	114–1 031	78–1 577

11. TESTCHARAKTERISTIKA

Genauigkeit – Präzision

Wiederholbarkeit (Intra-Assay); n = 23

Die Wiederholbarkeit wurde mit 2 Serumproben unter **gleichbleibenden** Bedingungen (Bediener, Messgerät, Tag, Kitcharge identisch) bestimmt.

Probe	Mittelwert [pg/ml]	VK [%]
1	3 881,68	5,6
2	1 038,15	5,1

Reproduzierbarkeit (Inter-Assay); n=36

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 4 Serum-Proben unter **variablen** Bedingungen (Bediener, Messgeräte, Tage, Kitchargen unterschiedlich) bestimmt.

Probe	Mittelwert [pg/ml]	VK [%]
1	1 176,59	13,1
2	1 748,64	13,3
3	591,97	13,6
4	2 346,05	11,4

Linearität

Die Linearität zeigt die Fähigkeit einer Methode, ein Ergebnis proportional zur Analytkonzentration in einer Probe zu liefern. Sie wurde gemäß CLSI-Richtlinie EP6-A mittels serieller Verdünnung von 3 Serumproben nachgewiesen.

Für FABP2 in Serum und Plasma wurde ein lineares Verhalten im Bereich von 176,44 bis 2 778,30 pg/ml nachgewiesen. Die Nicht-Linearität lag bei weniger als $\pm 20\%$.

Probe	Verdünnung	Erwartet [pg/ml]	Gemessen [pg/ml]	Wiederfindung [%]
1	unverdünnt	-	2 778,30	-
	1:2	1 389,15	1 574,24	113,32
	1:3	926,10	992,56	107,18
	1:4	694,58	734,94	105,81
	1:5	555,66	555,41	99,95
2	1:3	-	529,32	-
	1:4	396,99	397,41	100,11
	1:5	317,59	359,86	113,31
	1:6	264,66	307,05	116,02
	1:7	226,85	270,53	119,26
	1:8	198,49	223,65	112,67
	1:9	176,44	220,49	124,96
3	1:3	-	643,86	-
	1:4	482,89	478,20	99,03
	1:5	386,32	425,49	110,14
	1:6	321,93	381,11	118,38
	1:7	275,94	305,25	110,62
	1:8	241,45	291,27	120,64
	1:9	214,62	257,91	120,17

Analytische Sensitivität

Leerwert (*limit of blank*, LoB)

28,45 pg/ml

Nachweisgrenze (*limit of detection*, LoD)

48,36 pg/ml

Bestimmungsgrenze (*limit of quantitation*, LoQ)

53,77 pg/ml

Die Auswertung wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP17-A2 durchgeführt. Das festgelegte Präzisionsziel für die Bestimmungsgrenze lag bei 20% VK.

12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind gesundheitsgefährdend und umweltschädlich. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen können zu Haut- und/oder Atemwegsreizungen führen. Jeder Kontakt mit den Substanzen ist zu vermeiden. Weiterführende Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen, welches Sie auf Anfrage bei der Immundiagnostik AG erhalten.
- Das 10x Waschpufferkonzentrat (WASHBUF) enthält Tenside, welche bei Augenkontakt zu schweren Augenreizungen führen können.
Achtung: Verursacht schwere Augenreizung. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H_2SO_4). H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden. Dämpfe nicht einatmen und Inhalation vermeiden.

13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.

- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigelegten Arbeitsanleitung durchzuführen.

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- *IDK®* ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG 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 AG, zurückzusenden.













15. LITERATUR

Allgemeine Literatur

1. Kupčinskas, Juozas, Rolandas Gedgaudas, Hannes Hartman, Tomi Sippola, Outi Lindström, Colin Johnson, and Sara Regnér. 2018. "Intestinal Fatty Acid Binding Protein as a Marker of Necrosis and Severity in Acute Pancreatitis." *Pancreas* **47** (6): 1.
2. Goswami, Pooja, Ujjwal Sonika, Praneeth Moka, Vishnubhatla Sreenivas, and Anoop Saraya. 2017. "Intestinal Fatty Acid Binding Protein and Citrulline as Markers

- of Gut Injury and Prognosis in Patients With Acute Pancreatitis." *Pancreas* **46** (10): 1275–80.
3. Cheng, Shupeng, Jialin Yu, Min Zhou, Yan Tu, and Qi Lu. 2015. "Serologic Intestinal-Fatty Acid Binding Protein in Necrotizing Enterocolitis Diagnosis: A Meta-Analysis." *BioMed Research International* **2015**: 1–8.
 4. Gross, Sascha, Marlou P M Adriaanse, Petula Nijeboer, Greetje J Tack, Ingrid M W van Hoogstraten, Gerd Bouma, Chris J Mulder, B Mary E von Blomberg, Anita C E Vreugdenhil, and Hetty J Bontkes. 2015. "Serum Intestinal-Fatty Acid Binding Protein as a Biomarker for Refractory Celiac Disease." *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases : JGLD* **24** (2): 258–59.
 5. Sarikaya, Murat, Bilal Ergül, Zeynal Doğan, Levent Filik, Murat Can, and Latife Arslan. 2015. "Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) as a Promising Test for Crohn's Disease: A Preliminary Study." *Clinical Laboratory* **61** (1–2): 87–91.

16. SYMBOLE

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Reizend

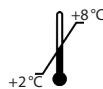
IDK[®] FABP2 ELISA

*For the in vitro determination of fatty acid binding protein 2
(FABP2) in serum and plasma*

Valid from 2024-03-14



K 6809



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE	16
2. INTRODUCTION	16
3. MATERIAL SUPPLIED	16
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	17
5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS	17
6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES	18
<i>Sample storage</i>	18
7. ASSAY PROCEDURE	19
<i>Principle of the test</i>	19
<i>Test procedure</i>	19
8. RESULTS	21
9. LIMITATIONS	21
10. QUALITY CONTROL	22
<i>Reference range</i>	22
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	22
<i>Accuracy – Precision</i>	22
<i>Linearity</i>	23
<i>Analytical Sensitivity</i>	24
12. PRECAUTIONS	24
13. TECHNICAL HINTS	25
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	25
15. REFERENCES	26
<i>General literature</i>	26
16. SYMBOL EXPLANATION	27

1. INTENDED USE

This enzyme immunoassay is intended for the quantitative determination of fatty acid binding protein 2 (FABP2) in serum and plasma.

For *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

The intracellular fatty acid-binding protein (FABPs) family consists of nearly 20 members. It is divided in three subgroups: the hepatic, intestinal and cardiac group. They participate in the uptake, intracellular metabolism and/or transport of long-chain fatty acids. They may also be responsible in the modulation of cell growth and proliferation.

FABP2 is probably involved in triglyceride-rich lipoprotein synthesis. It binds saturated long-chain fatty acids with a high affinity, but binds with a lower affinity to unsaturated long-chain fatty acids. FABP2 may also help maintain energy homeostasis by functioning as a lipid sensor. It is an abundant cytosolic protein in small intestine epithelial cells.

Indications

- pancreatitis [1, 2]
- necrotising enterocolitis [3]
- Celiac disease [4]
- Crohn's disease [5]

3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 6809	PLATE	Microtiter plate, pre-coated	12 x 8 wells
K 0001.C.100	WASHBUF	Wash buffer concentrate, 10x	2 x 100 ml
K 6809	2. AB	Detection antibody, ready-to-use	1 x 15 ml
K 6809	CONJ	Conjugate, ready-to-use	1 x 15 ml
K 6809	STD	Standards, lyophilised (see Quality Control Protocol for concentration)	2 x 5 vials
K 6809	CTRL1	Control, lyophilised (see Quality Control Protocol for range)	2 x 1 vial

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 6809	CTRL2	Control, lyophilised (see Quality Control Protocol for range)	2 x 1 vial
K 6809	SAMPLEBUF	Sample dilution buffer, ready-to-use	1 x 50 ml
K 0002.15	SUB	Substrate (tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water*
- Calibrated precision pipettors and 10–1 000 µl single-use tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Vortex
- Standard single-use laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

* Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.

- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** has to be diluted with ultrapure water **1:10** before use (100ml WASHBUF + 900ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at room temperature or in a water bath at 37°C. The **WASHBUF** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8 °C for 1 month**.
- The **lyophilised standards (STD)** and **controls (CTRL)** are stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. Before use, the STD and CTRL have to be reconstituted with **500 µl of ultrapure water** and mixed by gentle inversion to ensure complete reconstitution. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes and then mix thoroughly. **Standards and controls** (reconstituted STD and CTRL) **can be stored at 2–8 °C for 4 weeks**.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at **2–8 °C**.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Sample storage

Freshly collected EDTA plasma or serum can be stored at -20°C.

Serum/plasma samples

EDTA plasma or serum samples must be diluted **1:5** before performing the assay,

e.g. **50 µl** sample + **200 µl** sample dilution buffer (SAMPLEBUF), mix well.

100 µl of the dilution are used in each well of the test.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

This ELISA is designed for the quantitative determination of FABP2 in serum and plasma samples.

Standards and prepared samples to be analysed for FABP2 are pipetted into the wells of a microtiter plate coated with an anti-FABP2 antibody. In this first incubation step, FABP2 from the samples is bound to the primary antibody coated to the microtiter plate. Then, a biotin-labelled anti-FABP2 antibody is added. The next step is adding the streptavidin-peroxidase conjugate. We now have the following complex at the wall of the microtiter well:

Primary antibody – FABP2 – biotinylated antibody – streptavidin-peroxidase conjugate

Tetramethylbenzidine (TMB) is used as peroxidase substrate. The enzymatic reaction is stopped by adding acid, causing a colour change from blue to yellow. The resulting chromogenic compound is measured photometrically at 450 nm. The intensity of the colour is directly proportional to the FABP2 concentration.

A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated, using the values obtained from the standard. FABP2, present in the samples, is determined directly from this curve.

Test procedure

Before use, bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30°C) and mix well.

Mark the positions of standards/controls/samples on a protocol sheet.

Take as many microtiter strips as needed from the kit. Store unused strips together with the desiccant bag in the closed aluminium packaging at 2–8°C. Strips are stable until expiry date stated on the label.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1.	Before use , wash the wells 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
2.	Add each 100 µl standards/controls/diluted samples into the respective wells.
3.	Cover the strips and incubate for 1 hour at room temperature (15–30 °C) on a horizontal shaker* .
4.	Discard the content of each well and wash 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
5.	Add 100 µl detection antibody (2. AB) into each well.
6.	Cover the strips and incubate for 1 hour at room temperature (15–30 °C) on a horizontal shaker* .
7.	Discard the content of each well and wash 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
8.	Add 100 µl conjugate (CONJ) into each well.
9.	Cover the strips and incubate for 30 min at room temperature (15–30 °C) on a horizontal shaker* .
10.	Discard the content of each well and wash 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
11.	Add 100 µl substrate (SUB) into each well.
12.	Incubate for 10–20 min** at room temperature (15–30 °C) in the dark .
13.	Add 100 µl stop solution (STOP) into each well and mix well.
14.	Determine absorption immediately with an ELISA reader at 450 nm against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at 405 nm against 620 nm (or 690 nm) as a reference.

* We recommend shaking the strips at 550 rpm with an orbit of 2 mm.

** The intensity of the colour change is temperature sensitive. We recommend observing the colour change and stopping the reaction upon good differentiation.

8. RESULTS

The following algorithms can be used alternatively to calculate the results. We recommend using the 4 parameter algorithm.

1. 4 parameter algorithm

It is recommended to use a linear ordinate for the optical density and a logarithmic abscissa for the concentration. When using a logarithmic abscissa, the zero standard must be specified with a value less than 1 (e.g. 0.001).

2. Point-to-point calculation

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

3. Spline algorithm

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

The plausibility of the duplicate values should be examined before the automatic evaluation of the results. If this option is not available with the programme used, the duplicate values should be evaluated manually.

Serum/plasma samples

The obtained results have to be multiplied by the **dilution factor of 5** to get the actual concentrations.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained result by the dilution factor used.

9. LIMITATIONS

Samples with concentrations above the measurement range (see definition below) can be further diluted and re-assayed. Please consider this higher dilution when calculating the results.

Samples with concentrations lower than the measurement range (see definition below) cannot be clearly quantified.

The upper limit of the measurement range can be calculated as:

highest concentration of the standard curve × sample dilution factor to be used

The lower limit of the measurement range can be calculated as:

LoB × sample dilution factor to be used

LoB see chapter "Performance Characteristics".

10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik AG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

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

Reference range

We recommend each laboratory to establish its own reference range.

Based on Immundiagnostik AG studies with blood samples from apparently healthy individuals, the following standard values were determined::

	m (serum) [n=37]	w (serum) [n=38]	m (plasma) [n=37]	w (plasma) [n=36]
Standard value [pg/ml]	118–1 936	127–1 835	114–1 031	78–1 577

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Accuracy – Precision

Repeatability (Intra-Assay); n = 23

The repeatability was assessed with 2 serum samples under **constant** parameters (same operator, measurement system, day and kit lot).

Sample	Mean value [pg/ml]	CV [%]
1	3 881.68	5.6
2	1 038.15	5.1

Reproducibility (Inter-Assay); n = 36

The reproducibility was assessed with 4 serum samples under **varying** parameters (different operators, measurement systems, days and kit lots).

Sample	Mean value [pg/ml]	CV [%]
1	1 176.59	13.1
2	1 748.64	13.3
3	591.97	13.6
4	2 346.05	11.4

Linearity

The linearity states the ability of a method to provide results proportional to the concentration of analyte in the test sample within a given range. This was assessed according to CLSI guideline EP6-A by serial dilution of 3 different serum samples.

For FABP2 in serum and plasma, the method has been demonstrated to be linear from 176.44 to 2 778.30 pg/ml, showing a non-linear behaviour of less than $\pm 20\%$ in this interval.

Sample	Dilution	Expected [pg/ml]	Obtained [pg/ml]	Recovery [%]
1	undiluted	-	2 778.30	-
	1:2	1 389.15	1 574.24	113.32
	1:3	926.10	992.56	107.18
	1:4	694.58	734.94	105.81
	1:5	555.66	555.41	99.95
2	1:3	-	529.32	-
	1:4	396.99	397.41	100.11
	1:5	317.59	359.86	113.31
	1:6	264.66	307.05	116.02
	1:7	226.85	270.53	119.26
	1:8	198.49	223.65	112.67
	1:9	176.44	220.49	124.96

Sample	Dilution	Expected [pg/ml]	Obtained [pg/ml]	Recovery [%]
3	1:3	-	643.86	-
	1:4	482.89	478.20	99.03
	1:5	386.32	425.49	110.14
	1:6	321.93	381.11	118.38
	1:7	275.94	305.25	110.62
	1:8	241.45	291.27	120.64
	1:9	214.62	257.91	120.17

Analytical Sensitivity

Limit of blank, LoB 28.45 pg/ml

Limit of detection, LoD 48.36 pg/ml

Limit of quantitation, LoQ 53.77 pg/ml

The evaluation was performed according to the CLSI guideline EP17-A2. The specified accuracy goal for the LoQ was 20% CV.

12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- 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 ProClin as bactericides. Sodium azide or ProClin are hazardous to health and the environment. Substrates for enzymatic colour reactions may also cause skin and/or respiratory irritation. Any contact with the substances must be avoided. Further safety information can be found in the safety data sheet, which is available from Immundiagnostik AG on request.
- The 10x Wash buffer concentrate (WASHBUF) contains surfactants which may cause severe eye irritation in case of eye contact.

Warning: Causes serious eye irritation. **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: get medical Advice/attention.

- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still should be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on the kit label.
- 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.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE













- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- *IDK®* is a trademark of Immundiagnostik AG.
- 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 incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immunodiagnostik AG along with a written complaint.

15. REFERENCES

General literature

1. Kupčinskas, Juozas, Rolandas Gedgaudas, Hannes Hartman, Tomi Sippola, Outi Lindström, Colin Johnson, and Sara Regnér. 2018. "Intestinal Fatty Acid Binding Protein as a Marker of Necrosis and Severity in Acute Pancreatitis." *Pancreas* **47** (6): 1.
2. Goswami, Pooja, Ujjwal Sonika, Praneeth Moka, Vishnubhatla Sreenivas, and Anoop Saraya. 2017. "Intestinal Fatty Acid Binding Protein and Citrulline as Markers of Gut Injury and Prognosis in Patients With Acute Pancreatitis." *Pancreas* **46** (10): 1275–80.
3. Cheng, Shupeng, Jialin Yu, Min Zhou, Yan Tu, and Qi Lu. 2015. "Serologic Intestinal-Fatty Acid Binding Protein in Necrotizing Enterocolitis Diagnosis: A Meta-Analysis." *BioMed Research International* **2015**: 1–8.
4. Gross, Sascha, Marlou P M Adriaanse, Petula Nijeboer, Greetje J Tack, Ingrid M W van Hoogstraten, Gerd Bouma, Chris J Mulder, B Mary E von Blomberg, Anita C E Vreugdenhil, and Hetty J Bontkes. 2015. "Serum Intestinal-Fatty Acid Binding Protein as a Biomarker for Refractory Celiac Disease." *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases : JGLD* **24** (2): 258–59.
5. Sarikaya, Murat, Bilal Ergül, Zeynal Doğan, Levent Filik, Murat Can, and Latife Arslan. 2015. "Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) as a Promising Test for Crohn's Disease: A Preliminary Study." *Clinical Laboratory* **61** (1–2): 87–91.

16. SYMBOL EXPLANATION

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Attention		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Irritant

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

