

FGF23 (C-TERMINAL)

(EN) multi-matrix ELISA FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN FGF23 (C-TERMINAL) IN SERUM, EDTA PLASMA, HEPARIN PLASMA, AND CITRATE PLASMA

Cat. No. BI-20702 . 12 x 8 TESTS

(DE) multi-matrix ELISA ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON HUMANEM FGF23 (C-TERMINAL) IN SERUM, EDTA PLASMA, HEPARIN PLASMA UND CITRAT PLASMA

Kat. Nr. BI-20702 . 12 x 8 TESTE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES

Not for Sale in the United States!

rev.no. 190111 (replacing 150407)

This kit was developed and manufactured by:

Biomedica Medizinprodukte GmbH, A-1210 Wien, Divischgasse 4

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



CONTENT / INHALT

| | |
|----------------|----------------|
| ENGLISH | Page 3 |
| DEUTSCH | Seite 7 |

Detailed information on the FGF23 (C-terminal) ELISA, e.g. assay validation data, sample matrix comparisons, and stability data is available on our website.
Detaillierte Informationen und Validierungsdaten zum FGF23 (C-terminal) ELISA, wie z.B. Probenmatrix Vergleiche und Probenstabilität finden Sie auf unserer Webseite.

www.bmgrp.com

1) INTRODUCTION

FGF23 (fibroblast growth factor 23) is a 32 kDa protein with 251 amino acids that is proteolytically processed between arginine¹⁷⁹ and serine¹⁸⁰ to generate N-terminal and C-terminal fragments. FGF23 is mainly secreted by osteocytes and controls phosphate and 1,25(OH)₂ vitamin D homeostasis.

2) CONTENTS OF THE KIT

| CONTENTS | KIT COMPONENTS | QUANTITY |
|----------|---|--------------|
| PLATE | Anti FGF23 pre-coated microtiter strips in a strip holder, packed in an 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 20 ml |
| AB | Rabbit polyclonal anti FGF23 antibody, biotin labelled, green cap, green dye, ready to use | 1 x 6 ml |
| STD | Standards 1-7 (0; 0.2; 0.6; 1.8; 5; 10; 20 pmol/l), recombinant human FGF23 in human serum, white caps, lyophilized | 7 vials |
| CTRL | Controls A + B, yellow caps, lyophilized (exact concentrations after reconstitution see labels) | 2 vials |
| CONJ | Conjugate, (streptavidin-HRPO), amber bottle, amber cap, ready to use | 1 x 13 ml |
| SUB | Substrate (TMB solution), amber bottle, blue cap, ready to use | 1 x 13 ml |
| STOP | Stop solution, white cap, ready to use | 1 x 7 ml |

3) ADDITIONAL MATERIAL IN THE KIT

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

4) MATERIAL AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Precision pipettes calibrated to deliver 10 µl, 50 µl, 100 µl, 300 µl, 400 µl, and disposable tips
- Distilled or deionised water
- Plate washer is recommended for washing, alternative multichannel pipette or manifold dispenser
- Refrigerator with 4°C (2-8°C)
- ELISA reader capable of measuring absorbance at 450 nm (with correction wavelength at 630 nm)
- Graph paper or software for calculation of results

5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

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

Sample preparation/dilution:

Collect venous blood samples by using standardized blood collection tubes for serum or plasma. We recommend performing plasma or serum separation by centrifugation immediately, e.g. 20 min at 2000 x g at 4°C (2-8°C). The acquired serum or plasma samples should be measured as soon as possible. For longer storage aliquot and store at -25°C or lower. Samples are stable for 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.

If samples read higher than STD7, we recommend to dilute serum samples 1:11 (1+10, e.g. 10 µl sample + 100 µl ASYBUF) and plasma samples 1:41 (1+40, e.g. 10 µl + 400 µl ASYBUF) and to test again.

The kit incorporates sufficient assay buffer (ASYBUF) for a 1:41 dilution of 40 samples. Additional ASYBUF can be ordered free of charge on request.

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

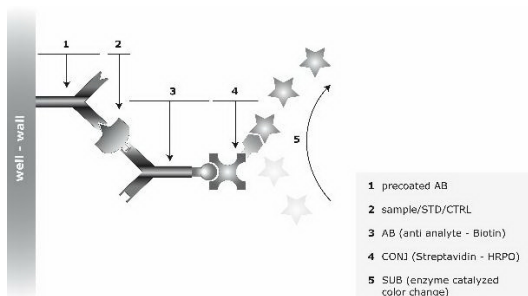
Reconstitution/Handling:

WASHBUF (Wash buffer): Dilute the concentrate 1:20, e.g. 50 ml WASHBUF + 950 ml distilled water. Crystals in the buffer concentrate will dissolve at room temperature. The undiluted WASHBUF is stable at 4°C (2-8°C) until expiry date stated on label. The diluted WASHBUF is stable up to one month at 4°C (2-8°C). Only use diluted WASHBUF when performing the assay.

STD (Standards) + CTRL (Controls): Pipette 400 µl of distilled or deionised water into each vial. Leave at room temperature (18-24°C) for 15 min. Vortex gently. The exact concentration is printed on the label. Reconstituted STDs and CTRLs are stable for 4 h at room temperature (18-24°C) or 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 direct determination of FGF23 in human serum and plasma samples. In a first step, STD/sample/CTRL and detection antibody (rabbit polyclonal anti human FGF23-Biotin) are pipetted into the wells of the microtiter strips, which are pre-coated with anti FGF23 antibody. FGF23 present in the STD/sample/CTRL 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. In a second step, the conjugate (Streptavidin-HRPO) is pipetted into the wells and reacts with the detection antibody. After another washing step, the substrate (TMB Tetramethylbenzidine) is pipetted into the wells. The enzyme catalysed colour change of the substrate is directly proportional to the amount of FGF23. This colour change is detectable with a standard microtiter plate ELISA reader. A dose response curve of the absorbance (optical density, OD at 450 nm) vs. standard concentration is generated, using the values obtained from the standard. The concentration of FGF23 in the sample is determined directly from the dose response curve.



7) ASSAY PROTOCOL

All reagents and samples must be at room temperature (18-24°C) before use in the assay.

Mark position for STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Sample/Control) on the protocol sheet.

Take microtiter strips out of the aluminium bag. Store unused strips with desiccant at 4°C (2-8°C) in the aluminium bag. Strips are stable until expiry date stated on the label.

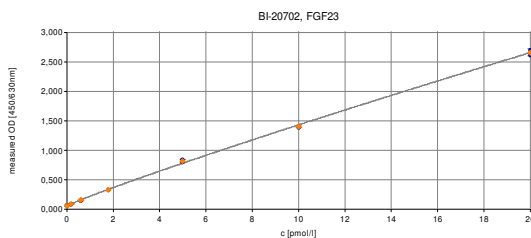
1. Pipette 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Sample/Control) in duplicate into respective well.
2. Add 50 µl AB (biotinylated anti FGF23 antibody, green cap, green dye) into each well, mix gently.
3. **Cover tightly and incubate over night (20-24 h) at room temperature (18-24°C).**
4. Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer, natural cap). Remove remaining WASHBUF by strongly tapping plate against paper towel after the last wash.
5. Add 100 µl CONJ (Conjugate, amber cap) into each well.
6. **Cover tightly and incubate for 1 hour at room temperature (18-24°C) in the dark.**
7. Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer, natural cap). Remove remaining WASHBUF by strongly tapping plate against paper towel after the last wash.

8. Add 100 μ l SUB (Substrate, blue cap) into each well.
9. Incubate for 30 minutes at room temperature (18-24°C) in the dark.
10. Add 50 μ l STOP (Stop solution, white cap) into each well, mix gently.
11. Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 630 nm, if available.

8) CALCULATION OF RESULTS

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

Example typical STD-curve:



The quality control (QC) protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each kit lot. 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 values of the CTRLs are in range (target ranges see labels).

9) ASSAY CHARACTERISTICS

| | | | | |
|---|---|----------------------------|------|------|
| Method: | Sandwich ELISA, HRP/TMB, 12x8-well strips | | | |
| Sample type: | Serum, EDTA plasma, heparin plasma, and citrate plasma | | | |
| Standard range: | 0 to 20 pmol/l (7 standards and 2 controls in a human serum matrix) | | | |
| Conversion factor: | FGF23, C-terminal: 1 pg/ml = 0.133 pmol/l (MW: 7.52 kDa) | | | |
| Sample volume: | 50 μ l / well | | | |
| Incubation time: | 20-24 h / 1 h / 30 min | | | |
| Sensitivity: | LOD: (0 pmol/l + 3 SD): 0.08 pmol/l; LLOQ: 0.1 pmol/l | | | |
| Specificity: | This assay recognizes endogenous and recombinant human FGF23. The assay measures both intact and C-terminal fragments of FGF23. | | | |
| Precision: | Intra-assay (n=6) \leq 12% , Inter-assay (n=10) \leq 10% | | | |
| Spike/Recovery (average recovery spiked with 5 pmol/l rec. FGF23): | Serum (n=13): 96% | Heparin plasma (n=8): 101% | | |
| | EDTA plasma (n=7): 97% | Citrate plasma (n=7): 100% | | |
| Dilution linearity (average recovery of expected FGF23 after a 1+1; 1+3; 1+7 dilution): | Dilution: | 1+1 | 1+3 | 1+7 |
| | Serum (n=9) | 105% | 100% | 108% |
| | EDTA plasma (n=4) | 103% | 103% | 106% |
| | Heparin plasma (n=10) | 107% | 106% | 104% |
| | Citrate plasma (n=5) | 102% | 106% | 101% |

| | |
|---|--|
| Values from apparently healthy individuals: | <p>Median serum (n=35): 0.8 pmol/l Median EDTA plasma (n=22): 1.3 pmol/l Median heparin plasma (n=22): 1.2 pmol/l Median citrate plasma (n=30): 1.4 pmol/l</p> <p>Each laboratory should establish its own reference range for the samples under investigation. Do not change sample type during the study.</p> |
|---|--|

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

10) PRECISION

Intra-assay: 2 samples of known concentration were tested 6 times within 1 kit lot by 1 operator.

Inter-assay: 2 samples of known concentration were tested 10 times within 2 different kit lots by 4 different operators.

| Intra-assay (n=6) | Sample 1 | Sample 2 |
|-------------------|----------|----------|
| Mean (pmol/l) | 0.6 | 10.0 |
| SD (pmol/l) | 0.07 | 0.6 |
| CV (%) | 12 | 6 |

| Inter-assay (n=10) | Sample 1 | Sample 2 |
|--------------------|----------|----------|
| Mean (pmol/l) | 0.6 | 9.9 |
| SD (pmol/l) | 0.06 | 0.5 |
| CV (%) | 10 | 5 |

Detailed information on the FGF23 (C-terminal) ELISA, e.g. assay performance characteristics, matrix comparisons, and stability data is available on our website www.bmgrp.com (see Validation Data).

11) TECHNICAL HINTS

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

12) PRECAUTIONS

All test components of human source were tested against HIV-Ab, HCV-Ab and HBsAg and were found negative. Nevertheless, they should be handled and disposed as if they were infectious.

All liquid reagents contain $\leq 0.1\%$ Proclin 950 as preservative. Avoid contact with skin and mucous membrane. Proclin 950 is not toxic in concentrations used in this kit. It may cause allergic skin reactions – avoid contact with skin or eyes.

- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke, or apply cosmetics where reagents are used.
- Wear gloves, glasses, and lab coat while performing this assay.
- Sulfuric acid is irritating to the eyes and skin. Avoid contact with skin and mucous. Irritations are possible. Flush with water if contact occurs!

13) LITERATURE

1. The Use of Fibroblast Growth Factor 23 Testing in Patients with Kidney Disease. ER Smith, Clin J Am Soc Nephrol 2014; 9: 1283-1303.
2. Management of hyperphosphataemia in chronic kidney disease – challenges and solutions. Ketteler M et al., Clinical Kidney Journal, 2013; 6: 128-136.
3. Regulation of serum phosphate. E Lederer, J Physiol 2014; 592: 3985-3995.
4. Fibroblast growth factor 23. Smith ER et al., Annals of Clin Biochemistr 2014; 51: 203-227.

1) EINLEITUNG

FGF23 (Fibroblast growth factor 23) ist ein 32 kDa Protein mit 251 Aminosäuren. Es wird proteolytisch zwischen Arginin¹⁷⁹ und Serin¹⁸⁰ in die N-terminalen und C-terminalen Fragmente gespalten. FGF23 wird hauptsächlich von Osteozyten produziert und kontrolliert die Homöostase von Phosphat und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

2) INHALT DES KITS

| CONTENTS | KIT KOMPONENTEN | MENGE |
|----------|---|--------------|
| PLATE | Anti FGF23 Antikörper beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter. Verpackt im Aluminium Beutel mit Trockenmittel. | 12 x 8 Tests |
| WASHBUF | Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtiger Schraubverschluss | 1 x 50 ml |
| ASYBUF | Assay Puffer, roter Schraubverschluss, gebrauchsfertig | 1 x 20 ml |
| AB | Polyklonaler Hase Anti FGF23 Antikörper, biotinyliert, grün gefärbt, grüner Schraubverschluss, gebrauchsfertig | 1 x 6 ml |
| STD | Standards 1-7 (0; 0,2; 0,6; 1,8; 5; 10; 20 pmol/l), rekombinantes humanes FGF23 in humanem Serum, weißer Schraubverschluss, lyophilisiert | 7 Fläschchen |
| CTRL | Kontrollen A + B, gelber Schraubverschluss, lyophilisiert (genaue Konzentrationen siehe Etiketten) | 2 Fläschchen |
| CONJ | Konjugat (Streptavidin-HRPO), braune Flasche, brauner Schraubverschluss, gebrauchsfertig | 1 x 22 ml |
| SUB | Substrat (TMB Lösung), braune Flasche, blauer Schraubverschluss, gebrauchsfertig | 1 x 22 ml |
| STOP | Stopp Lösung, weißer Schraubverschluss, gebrauchsfertig | 1 x 7 ml |

3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

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

4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Kalibrierte Präzisionspipetten für 10 µl, 50 µl, 100 µl, 300 µl, 400 µl, inkl. Pipettenspitzen
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Mikrotiterplatten Wascher wird empfohlen, Alternativen: Mehrkanalpipetten oder Dispenser
- Kühlschrank mit 4°C (2-8°C)
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (630 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software

5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

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

Probenvorbereitung/verdünnung:

Abnahme von venösem Blut mittels standardisierter Blutabnahmeröhrchen zur Gewinnung von Serum oder Plasma. Wir empfehlen die Zentrifugation des Blutes für 20 Minuten bei 2000 g, bevorzugt bei 4°C (2-8°C), 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. 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) wie folgt verdünnt und erneut getestet werden:

Serum Proben: 1:11 (1+10, zB 10 µl Serum + 100 µl ASYBUF)

Plasma Proben: 1:41 (1+40, zB 10 µl Plasma + 400 µl ASYBUF)

Im Kit ist ausreichend Assay Puffer (ASYBUF) für eine 1:41 Verdünnung von 40 Proben. Zusätzlicher ASYBUF ist auf Anfrage gratis erhältlich.

Nähere Informationen zur Probenstabilität finden Sie auf unserer Website unter www.bmgrp.com (s. Validation Data) oder kontaktieren Sie unseren Kundenservice per Email an info@bmgrp.com oder telefonisch unter +43/ 1/ 29107-45.

Rekonstitution/Handhabung:

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 400 µl destilliertem oder deionisiertem Wasser bei Raumtemperatur (18-24°C) für 15 min. Gut mischen. Die genaue Konzentration ist am Etikett 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

Der Test basiert auf der Methode eines Sandwich ELISA und dient zur quantitativen Bestimmung von FGF23 in humanen Serum und Plasmaproben.

Zuerst werden STD/Probe/CTRL und Detektionsantikörper (polyklonaler Hase-anti-human-FGF23-Biotin) in die entsprechenden Vertiefungen, welche mit anti-human-FGF23-Antikörper beschichtet sind, pipettiert. Das in den STD/Proben/CTRL vorhandene FGF23 bildet mit beiden Antikörper einen stabilen Komplex. Durch Waschen werden die unspezifischen und nicht gebundenen Anteile entfernt. Nach Zugabe von Konjugat (Streptavidin-HRP), das mit dem Detektionsantikörper reagiert, und einem weiteren Waschschriff, wird mit Substrat (TMB Tetramethylbenzidine) inkubiert. Die dadurch enzymatisch bedingte Farbentwicklung ist direkt proportional mit der FGF23 Konzentration in den Proben und kann mittels eines Mikrotiterplatten ELISA Reader gemessen werden. Aus dem jeweiligen Farbsignal und den Konzentrationen der STD wird eine Kalibrationskurve erstellt, von der die FGF23 Konzentration der Proben direkt ablesbar ist.

Schema 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 (18-24°C) aufweisen.

Markieren Sie die Positionen für STD/PROBE/CTRL (Standard/Probe/Kontrolle) am Protokoll Blatt.

Nehmen Sie die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Aluminium Beutel. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können mit Trockenmittel im Aluminium Beutel auf 4°C (2-8°C) bis zum angegebenen Ablaufdatum gelagert werden.

- 1) Pipettieren Sie 50 µl STD /PROBE/CTRL(Standard/Probe/Kontrolle) in Doppelbestimmung in die Mikrotiterstreifen.
- 2) Pipettieren Sie 50 µl AB (biotinylierter anti FGF23 Antikörper, grüner Schraubverschluss, grün gefärbt) in die Mikrotiterstreifen, gut mischen.
- 3) Streifen abdecken und bei Raumtemperatur (18-24°C) über Nacht (20-24 h) inkubieren.**
- 4) Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen. Nach dem letzten Waschschriff Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
- 5) Pipettieren Sie 100 µl CONJ (Konjugat, brauner Schraubverschluss) in alle Wells.
- 6) Streifen abdecken und bei Raumtemperatur (18-24°C) für 1 Stunde im Dunkeln inkubieren.**
- 7) Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen. Nach dem letzten Waschschriff Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
- 8) Pipettieren Sie 100 µl SUB (Substrat, blauer Schraubverschluss) in alle Wells.

9) Bei Raumtemperatur (18-24°C) für 30 Minuten im Dunkeln inkubieren.

10) Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stopplösung, weißer Schraubverschluss) in alle Wells, gut mischen.

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

8) BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

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

Typische STD-Kurve:Siehe Kapitel 8) *CALCULATION OF RESULTS* im englischen Teil des Beipacktextes.

In dem beige packten QC Protokoll sind die Resultate der QC Freigabe der entsprechenden Kit Lot 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 von STD7 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 | | | |
| Standardbereich: | 0 bis 20 pmol/l (7 Standards und 2 Kontrollen in humaner Serum-Matrix) | | | |
| Umrechnungsfaktor pg/ml zu pmol/l: | 1 pg/ml = 0,133 pmol/l (MW: 7,52 kD) | | | |
| Probenvolumen: | 50 µl / Vertiefung | | | |
| Inkubationszeiten: | 20-24 h / 1 h / 30 min | | | |
| Sensitivität: | LOD: (0 pmol/l + 3 SD): 0,08 pmol/l; LLOQ: 0,1 pmol/l | | | |
| Spezifität | Dieser Assay erkennt endogenes und rekombinantes humanes FGF23. Der Assay misst intaktes und C-terminale Fragmente von FGF23. | | | |
| Präzision: | Intra-assay (n=6) ≤ 12%, Inter-assay (n=10) ≤ 10% | | | |
| Wiederfindung (durchschnittliche Wiederfindung nach spike mit 5 pmol/l rek. FGF23): | Serum (n=13) = 96% | Heparin plasma (n=8) = 101% | | |
| | EDTA plasma (n=7) = 97% | Citrat plasma (n=7) = 100% | | |
| Verdünnungslinearität (durchschnittliche FGF23 Werte nach VD mit ASYBUF): | Verdünnung: | 1+1 | 1+3 | 1+7 |
| | Serum (n=15) | 105% | 100% | 108% |
| | EDTA plasma (n=7) | 103% | 103% | 106% |
| | Heparin plasma (n=15) | 107% | 106% | 104% |
| | Citrat plasma (n=5) | 102% | 106% | 101% |
| Werte von anscheinend gesunden Spendern: | Median Serum (n = 35) = 0,8 pmol/l Median EDTA plasma (n=22) = 1,3 pmol/l Median Heparin plasma (n=22) = 1,2 pmol/l Median Citrat plasma (n=30) = 1,4 pmol/l Jedes Labor sollte den Normalbereich für seine Proben evaluieren. Wechseln Sie nicht die Probenmatrix innerhalb einer Studie. | | | |

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

10) PRÄZISION

Intra-assay: 2 Proben bekannter Konzentration wurden 6mal in 1 Test von 1 Operator getestet.
Inter-assay: 2 Proben bekannter Konzentration wurden 10mal in 2 Kit Lots von 4 verschiedenen Operatoren getestet.

| Intra-assay (n=6) | Probe 1 | Probe 2 |
|-----------------------|---------|---------|
| Durchschnitt (pmol/l) | 0,6 | 10,0 |
| SD (pmol/l) | 0,07 | 0,6 |
| VK (%) | 12 | 6 |

| Inter-assay (n=10) | Probe 1 | Probe 2 |
|-----------------------|---------|---------|
| Durchschnitt (pmol/l) | 0,6 | 9,9 |
| SD (pmol/l) | 0,06 | 0,5 |
| VK (%) | 10 | 5 |

Detaillierte Informationen zum FGF23 (C-terminal) ELISA, z.B. Testmarkmale, Matrix Vergleiche und Stabilitätsdaten, finden Sie auf unserer Homepage www.bmgrp.com (s. Validation Data).

11) TECHNISCHE MERKMALE

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

12) VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Alle flüssigen Reagenzien enthalten 0,01% Proclin 300 als Konservierungsmittel. Vermeiden Sie Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhaut. Proclin 300 ist in der verwendeten Konzentration nicht toxisch. Allergische Reaktionen sind möglich.

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Nicht Rauchen, Essen, Trinken oder Kosmetika benutzen während der Verwendung der Testreagenzien.
- Verwenden Sie Handschuhe, Schutzbrillen und Laborkleidung während der Testdurchführung.
- Schwefelsäure reizt Augen und Haut. Bei Berührung gründlich mit Wasser spülen.

13) LITERATUR

Siehe Kapitel 13) *LITERATURE* im englischen Teil des Beipacktextes.

SYMBOLS



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



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



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



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



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



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



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

BI-20702 FGF23 (C-TERMINAL)

ASSAY PROTOCOL AND CHECKLIST

PREPARATION OF REAGENTS:

- Bring all reagents to room temperature (18-24°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:

- Step 1) Pipette 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (standard/sample/control) into all wells.
- Step 2) Add 50 µl AB (biotinylated anti FGF23, green cap) into all wells, mix gently.
- Step 3) Cover tightly and incubate over night (20-24 h) at room temperature (18-24°C).**
- Step 4) Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Step 5) Add 100 µl CONJ (Conjugate, amber cap) into each well.
- Step 6) Cover tightly and incubate for 1 hour at room temperature (18-24°C), in the dark.**
- Step 7) Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Step 8) Add 100 µl SUB (Substrate, blue cap) into each well.
- Step 9) Incubate for 30 minutes at room temperature (18-24°C), in the dark.**
- Step 10) Add 50 µl STOP (Stop solution, white cap) into each well, mix gently.
- Step 11) Read Optical Density at 450 nm with reference 630 nm, if available.