



IVD

CE

REF

10-7001

Arbeitsanleitung – NF-light® (Neurofilament light) ELISA für CF-Proben

1. Verwendungszweck

Bei NF-light® ELISA handelt es sich um ein *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von humanem Neurofilament light (NF-L) Protein in Liquor (CF). Erhöhte NF-L-Konzentrationen weisen auf einen Abbau der Nervenzellen hin. Das Ergebnis dient **zur Unterstützung bei der Diagnose** neurologischer Erkrankungen wie Amyotropher Lateralsklerose (ALS), Multipler Sklerose (MS), Demenzerkrankungen und Parkinson-Syndrom (PS). Die Ergebnisse dieses Assays müssen zusammen mit anderen klinischen Beobachtungen und der Anamnese des Patienten verwendet werden, da NF-L ein unspezifischer Biomarker für axonale Schädigungen ist. Die vorgesehene Testpopulation ist Personen > 18 Jahre, bei denen der Verdacht auf eine neurologische Erkrankung besteht. Zusätzlich kann NF-light® ELISA zu Forschungszwecken bei Proben mit NF-L von Ratten, Rindern und Makaken angewendet werden, da die Antikörper des Assays auch NF-L dieser Spezies erkennen.

Das Kit ist für den professionellen Einsatz bestimmt, d. h. nur für klinisches Laborpersonal, das in der ELISA-Technologie und In-vitro-Diagnoseverfahren geschult ist.

2. Hinweis für Anwender

Wenn im Zusammenhang mit diesem Gerät ein schwerwiegender Vorfall auftritt, ist der Vorfall dem Hersteller und der zuständigen örtlichen Behörde des Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder Patient ansässig sind, gemeldet werden. Informationen zur Meldung an den Hersteller finden Sie in den Kontaktdaten am Ende dieser Anleitung.

3. Zusammenfassung und Erläuterung

Neurofilamente sind die Hauptbestandteile des Zytoskeletts neuronaler Zellen. Diese sind wichtig für die Erhaltung und Regulierung des axonalen Durchmessers und der morphologischen Integrität, die wiederum die Geschwindigkeit und Genauigkeit der neuronalen Transmission beeinflussen. Es existieren drei verschiedene Neurofilamentketten, die jeweils nach Ihrer Größe benannt sind. Dies sind respektive Neurofilament light, medium und heavy. Das Neurofilament light stellt das Rückgrat dar, an das sich die schwereren Ketten anheften und die Neurofilamentfasern bilden [1]. Nach Verletzungen der Nervenzellen aufgrund eines direkten Traumas oder langsamen degenerativen Prozesses, wird der Zellinhalt in das umliegende Kompartiment freigesetzt, wo eine quantitative Bestimmung der axonalen Proteine ermöglicht wird. Man stellte erhöhte Neurofilament light-Konzentrationen bei verschiedenen degenerativen Erkrankungen, wie der amyotrophen Lateralsklerose, dem Morbus Alzheimer und der multiplen Sklerose fest [2-4].

4. Verfahrensbeschreibung

Der UmanDiagnostics NF-light®-ELISA-Assay ist ein enzymatischer Immunassay zur quantitativen Bestimmung von NF-L in humanem Liquor und kann in seiner jetzigen Form nicht zur Analyse von Blutproben verwendet werden. Der Test verwendet zwei hochspezifische nicht konkurrierende monoklonale Antikörper [5]. Ein spezifischer monoklonaler Antikörper ist auf einer festen Oberfläche beschichtet und bindet sich an NF-L. Die Erkennung erfolgt durch einen anderen spezifischen konjugierten monoklonalen Antikörper. Die quantitative Bestimmung erfolgt mittels enzymatischer Umwandlung von einem farblosen Substrat in ein farbiges Produkt, das der Neurofilament light-Konzentration in der Probe entspricht. Der Assay ist nicht automatisiert und verwendet herkömmliche 96-Well-Platten. Es sind nur Standardlaborgeräte erforderlich.

Standardkurvenbereich:

50 – 5000 pg/ml (einschließlich Ankerpunkten)

Standardkurven-Quantifizierungsbereich:

125 pg/ml – 2500 pg/ml (Probenverdünnung 1+1)

Erkennungsgrenze:	33 pg/ml
Präzision:	Intra-Assay CV % < 5, Inter-Assay CV % < 10
Inkubationszeit:	2,5 Stunden
Probengröße:	50 µl/Parallelprobe

5. Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und wichtige Hinweise

- Im Falle einer erheblichen Beschädigung der Testpackung ist der jeweilige Lieferant innerhalb einer Woche nach Erhalt der Ware schriftlich zu benachrichtigen. Beschädigte Komponenten dürfen nicht verwendet werden, sondern sollten solange aufbewahrt werden, bis der Transportschaden endgültig geregelt ist.
- NF-light® ELISA ist nur zum In-vitro-Gebrauch und nicht zur inneren Anwendung bei Menschen oder Tieren bestimmt.
- Das Kit enthält keine Substanzen tierischen oder menschlichen Ursprungs, die ein Infektionsrisiko darstellen.
- Alle Materialien, die von Menschen stammen, müssen als potenziell infektiös eingestuft und mit Vorsicht behandelt werden. Bei Verschütten sofort mit 0,5 % Natriumhypochlorit oder einem gleichwertigen Produkt desinfizieren.
- Diese Arbeitsanweisung muss bei der Verwendung des Produkts exakt befolgt werden. Gute Laborpraxis und Sicherheitsrichtlinien müssen beachtet werden. Je nach Bedarf sollten Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrillen getragen werden.

6. Handhabung der Reagenzien

- Das Kit kann für zwei verschiedene Analysezwecke eingesetzt werden. Rekonstituierte Standard- und Arbeitslösungen von Tracer und Konjugat sind zum einmaligen Gebrauch bestimmt. Nach zwei Analysevorgängen sind nicht verwendete Reagenzien zu verwerfen.
- Alle Assay-Reagenzien müssen vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Es wird empfohlen, Proben und Standards in doppelter Ausfertigung durchzuführen. Bei großen Abweichungen zwischen den Proben bitte erneut analysieren.
- Es dürfen keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen gemischt werden. Dies kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Alle Inkubationsschritte müssen bei Raumtemperatur (RT, +20-25 °C) durchgeführt werden.

- **ELISA-Orbitalschüttler für die Inkubationsschritte bei 800 UpM verwenden. GANZ WICHTIG ist das Schütteln der Platte bei 800 UpM. Die Verwendung einer niedrigeren Geschwindigkeit führt zu falsch erhöhten Ergebnissen.**
- **Das mitgelieferte 15 ml Röhrchen von Sarstedt (62.554.502) bei der Zubereitung der Konjugatlösung verwenden. Andere Röhrchen können sich negativ auf die Lösungsstabilität auswirken, was zu einem niedrigen Absorptionsniveau führt, wodurch die Messwerte der Proben unzuverlässig werden.**

- Entsorgen Sie sämtliches Material, das mit Proben und Reagenzien in Kontakt gekommen ist, gemäß den Vorschriften des Landes, des Bundeslandes und der örtlichen Behörden.
-  **VORSICHT:** Vermeiden Sie Kontakt mit der Stopplösung. Sie kann Hautreizungen und Verätzungen verursachen. Das Sicherheitsdatenblatt für dieses Produkt ist auf der Website von UmanDiagnostics verfügbar und kann auf Anfrage auch per E-Mail zugeschickt werden.

7. Haltbarkeit und Lagerung von Reagenzien

Die Kits werden bei Umgebungstemperatur versandt. Nach Erhalt müssen sie bei +2–8 °C gelagert und vor Hitze oder direkter Sonneneinstrahlung geschützt werden. Die Komponenten dürfen nicht eingefroren werden. Nach der Öffnung der NF-light®-Mikrotiterplatte sollte diese innerhalb von 4 Wochen aufgebraucht werden. Stellen Sie sicher, dass eine geöffnete Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Feuchtigkeit versiegelt ist. Die Haltbarkeit des Kits beträgt 18 Monate ab Produktionsdatum.

8. Entnahme und Lagerung von Proben

Alle Patientenproben sollten als potenziell infektiös behandelt werden. Nach der Lumbalpunktion sollten die Proben bei -80 °C in Polypropylen-Röhrchen gelagert werden. Wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen sollten vermieden werden.

Die Probenstabilität wurde mit 5 verschiedenen klinischen Proben ermittelt. Die Probenwerte nach den unterschiedlichen Vorbehandlungen wurden mit der gleichen bei -80 °C gelagerten Probe verglichen.

		Mittel % der -80 °C Kontrolle	MW % Bereich
Ein-/Auftauzyklen	≤ 4 Zyklen	98	96 - 101
Lagerung	≤ 1 Woche bei 5 - 8 °C	99,7	95 - 108
	24 Std. bei RT (22 °C)	100	91 - 106
	1 Monat bei -20 °C	95,8	89 - 109

9. Materialien

Im Kit enthaltene Komponenten:

Kurzname	Vollständiger Name	Beschreibung	Anzahl/Menge
PLATE	Anti-NF-light-Mikrotiterplatte	Mit monoklonalem Anti NF-L Maus-Antikörper vorbeschichtet, im Kunststoffbeutel versiegelt.	12 x 8 Wannen
STOP	Stoplösung	Verdünntes H ₂ SO ₄ (8 % v/v).	1 x 6 ml
TMB	TMB-Substrat	Tetramethylbenzidin-Substrat.	1 x 12 ml
SAMDIL	Probenverdünnungspuffer	Wässrige Pufferlösung mit Detergens.	1 x 40 ml
CONDIL	Konjugatverdünnungspuffer	Wässrige gepufferte biotinfreie Stabilisierungslösung.	1 x 12 ml
CONJ	Konjugatkonzentrat	Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Konjugat in wässriger gepufferter biotinfreier Stabilisierungslösung. Verdünnung gemäß Etikett.	1 x 260 µl
50xTRAC	Tracerkonzentrat (50 x)	Biotin-markierter monoklonaler Anti-NF-L Antikörper in wässriger gepufferter biotinfreier Stabilisierungslösung.	1 x 260 µl
STAND	Rinder-NF-L standard	Rekonstitution gemäß Flaschenetikett. (Enthält BSE-, MKS-negatives Rindermaterial deutscher Ursprungs).	2 Fläschchen
10xWASH	Waschpufferkonzentrat (10 x)	10 x Wässrige Pufferlösung mit Detergens.	2 x 40 ml

Zusätzlich enthaltenes Material:

Plattenabdeckung, 2 St.

15 ml Röhrchen für Konjugatlösung, 2 St.

Nicht enthaltenes, erforderliches Material:

Photometer 450 nm (Referenzwellenlänge 620–650 nm)

Mikropipetten: 10 - 1000 µl

Vortex-Mischer

ELISA-Orbitalplattenschüttler (**800 UpM**)

entionisiertes Wasser

Waschflasche, automatisches oder halbautomatisches Waschsystem für Mikrotiterplatten

Pipettenspitzen und Stoppuhr

Polystyren- oder Polypropylen-Röhrchen für die Standard- und Probenverdünnung

10. Analyseverfahren

Vorbereitungen:

Vorbereitung des Waschpuffers 1x: Verdünnen Sie den Gesamtinhalt einer 10-fachen Waschpufferkonzentratflasche (10xWASH) (40 ml) mit entionisiertem Wasser auf ein Volumen von 400 ml. Ein verdünnter und nicht verwendeter Waschpuffer kann bei Raumtemperatur aufbewahrt und sollte innerhalb von zwei Monaten aufgebraucht werden. Das 10-fache Waschpufferkonzentrat kann aufgrund des hohen Salzgehalts opalisierend erscheinen (dies hat keine Auswirkung auf die Analyse).

Vorbereitung von Standardverdünnungsserien:

Die Rekonstitution und Herstellung der Standardverdünnungsreihe sollten erst direkt vor dem Gebrauch erfolgen. Das Standardmaterial sollte nicht gelagert oder erneut verwendet werden. Jeder analysierten Platte sind die Standardkurven beizufügen.

Den höchsten Standard (5000 pg/ml) erhält man, indem man den lyophilisierten Standard (STAND) mit dem Volumen des auf dem Etikett der Fläschchen angegebenen Probenverdünners (SAMDIL) rückverdünnnt. Kurz etwas vorwirbeln und bei Raumtemperatur aufbewahren.

7 Mikroröhrchen beschriften, je eines für die zusätzlichen Standardpunkte (d. h. 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 50 pg/ml und 0 pg/ml) und verdünnen Sie den rekonstituierten Standard gemäß der nachstehenden Tabelle mit Probenverdünner (SAMDIL).

Führen Sie eine serielle Verdünnung entsprechend der nachfolgenden Anweisung durch.

Stufe Nr.	Konzentration (pg/ml)	Probenverdünner (SAMDIL)	Standard aus Röhrchen Nr.
1 (Fläschchen)	5000	Rekonstitution mit Probenverdünnungspuffer (SAMDIL) gemäß Etikett der Standard-Fläschchen	
2	2500	300 µl	300 µL (1, Fläschchen)
3	1250	300 µl	300 µl (2)
4	500	360 µl	240 µl (3)
5	250	300 µl	300 µl (4)
6	125	300 µl	300 µl (5)
7	50	360 µl	240 µl (6)
8	0	300 µl	0 µl

Assay – Zusammenfassung:

	Waschen 3 x 300 µl		
Proben, Standards und Kontrollen	CF-Proben/Interne Kontrollprobe (1+1 Verdünnung)	Standard (Nr. 1–7)	Blindwert (Blank) (Nr. 8, SAMDIL)
	100 µl	100 µl	100 µl
	Inkubation 60 Minuten, 800 UpM		
	Waschen 3 x 300 µl		
Tracer Ak 1x	100 µl		
	Inkubation 45 Minuten, 800 UpM		
	Waschen 3 x 300 µl		
Konjugat 1x	100 µl		
	Inkubation 30 Minuten, 800 UpM		
	Waschen 3 x 300 µl		
TMB	100 µl		
	Inkubation 15 Minuten, 800 UpM		
Stopp-Lösung	50 µl		
	Ablesen der Platte bei 450 nm (Referenzwellenlänge 620 nm) direkt nach Zugabe der Stopp-Lösung		

Ausführliches Testprotokoll:

1. Liquorproben 1+1 mit gleicher Konzentration (1 + 1) des Probenverdünners (SAMDIL) zu einem Mindestvolumen von 210 µl verdünnen. Die rückverdünnten und gemäß der Standardverdünnungstabelle verdünnten Standards sind einsatzbereit (und müssen nicht weiter verdünnt werden).
2. Entsprechende zu verwendende Wannen 1x mit Waschpuffer (3 x 300 µl) waschen. Das Waschen kann entweder mit einer automatischen Waschmaschine oder durch manuelles Pipettieren erfolgen.
3. 100 µl von jedem Standard (8 Stufen, einschließlich Blindwert) und duplizierter Probe hinzufügen und 1 Stunde bei RT auf dem Orbitalschüttler (800 UpM) inkubieren.
4. Die Wanne 1x mit Waschpuffer waschen (3 x 300 µl), siehe Punkt 2.
5. Direkt vor dem Gebrauch den konzentrierten Tracer 50x (50xTRAC) auf 1x mit Probenverdünner (SAMDIL) verdünnen. Gründlich mischen durch Wenden des Röhrchens oder Vorwirbel. 100 µl des frisch verdünnten Tracer-Antikörpers in jede Wanne geben und dann 45 Minuten bei RT auf dem Orbitalschüttler (800 UpM) inkubieren.
6. Wannen 1x mit Waschpuffer waschen (3 x 300 µl), siehe Punkt 2.
7. Direkt vor dem Gebrauch das konzentrierte Konjugat (CONJ) gemäß Etikett der Ampulle mit Konjugatverdünner (CONDIL) im mitgelieferten 15 ml Röhrchen von Sarstedt auf 1x verdünnen. Gründlich mischen durch Wenden des Röhrchens oder Vorwirbel. 100 µl des frisch verdünnten Konjugats in jede Wanne geben und dann 30 Minuten bei RT auf dem Orbitalschüttler (800 UpM) inkubieren.

Achtung: Nur das mitgelieferte 15 ml Röhrchen bei der Zubereitung der Konjugatlösung verwenden.

8. Wannen 1x mit (3 x 300 µl) Waschpuffer waschen, siehe Punkt 2.
9. 100 µl TMB in jede Wanne geben und dann 15 Minuten bei RT auf dem Orbitalschüttler (800 UpM) inkubieren.
10. 50 µl der Stopplösung (STOP) in jede Wanne geben und anschließend die Absorption bei 450 nm (Referenzwellenlänge 620 – 650 nm) ableSEN.



Die Stopplösung enthält verdünnte Schwefelsäure und ist ätzend.

11. Berechnung der Ergebnisse

Die Ergebnisse können automatisch mittels Immunassay-Softwarepaket berechnet werden. Ein $1/y^2$ -gewichteter 4-Parameter-Algorithmus bietet die beste Kurvenanpassung (eine typische ist nachfolgend zu sehen). Sollte eine solche Immunassay-Software nicht zur Verfügung stehen, wird die NF-L-Konzentration aus dem Plottdurchschnitt OD (λ 450 minus λ 620) gegenüber der bekannten Standardkonzentration berechnet.

Die Konzentration aus der Kalibrierkurve sollte mit 2 multipliziert werden, um die Konzentration in der Probe zu erhalten (aufgrund der Verdünnung 1+1 vor der Analyse).

12. Verdünnung

Proben mit Konzentrationen über 5000 pg/ml müssen weiter verdünnt und erneut getestet werden. Basierend auf dem ersten Ergebnis sollte ein Verdünnungsfaktor gewählt werden mit dem eine Konzentration im Bereich von 125 bis 2500 pg/ml erreicht wird. Die äußersten Standardpunkte (50 und 5000 pg/ml) sind Ankerpunkte, die nur dazu dienen, eine genauere Kurvenanpassung zu erzielen. Eine Quantifizierung zwischen den beiden zweitäußersten Standardpunkten (125 und 2500 pg/ml) und ihrem jeweiligen Ankerpunkt sollte nicht erfolgen. Die genaueste Quantifizierung wird erhalten, wenn die Messungen innerhalb des Standardkurvenbereichs von 125 bis 2500 pg/ml liegen. Das aus der Standardkurve erhaltene Ergebnis wird mit dem neu verwendeten Verdünnungsfaktor multipliziert.

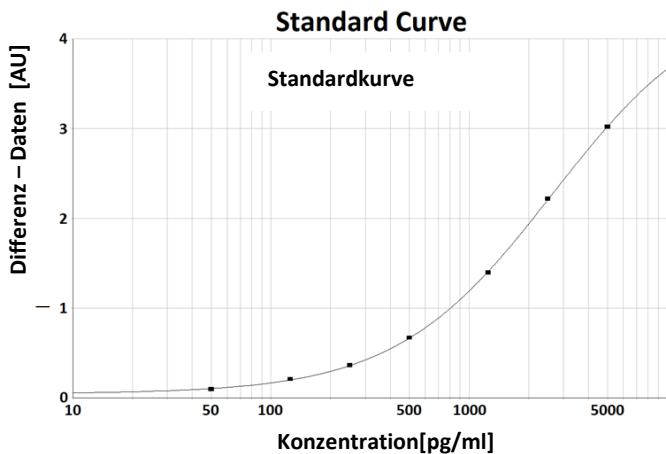
13. Qualitätskontrolle

Um die Leistungsfähigkeit des Kits zu gewährleisten, sollten für jeden Analysetermin die folgenden Kriterien erfüllt sein:

- Das Aussehen der Kurve sollte dem der vorstehenden Abbildung entsprechen.
- Die maximale Absorption für 5000 pg/ml sollte > 2,0 AU entsprechen.
- Der Hintergrund sollte bei < 0,1 AU liegen.

Interne Kontrollproben gesunder Kontrollpersonen und/oder Proben mit erhöhten Patientenwerten sollten ermittelt werden, wenn das Kit für die klinische Routineanalyse verwendet wird. Es wird empfohlen, mindestens eine Kontrollprobe im Konzentrationsbereich 1000-3000 pg/ml herzustellen. Kontrollproben können vorbereitet werden, indem Liquorproben gepoolt und der Pool wiederholt analysiert wird, um Konzentrationsniveaus und Akzeptanzkriterien festzulegen. Der Pool sollte aliquotiert und bei -80 °C gelagert werden.

Nachfolgend werden eine typische Standardkurve zum Zeitpunkt der Freisetzung dargestellt und ungefähre Absorptionswerte angegeben.



Standardwert (pg/ml)	% des maximalen Signals für 5000 pg/ml
5000 (Ankerpunkt)	100
2500	74
1250	47
500	22
250	12
125	6,5
50 (Ankerpunkt)	3,7

14. Messbereich

Die Standardkurve deckt den Bereich von 50 bis 5000 pg/ml NF-L ab. Die Standards 5000 pg/ml und 50 pg/ml dienen als Ankerpunkte, und die Quantifizierung sollte innerhalb des Bereichs von 125 – 2500 pg/ml der Standardkurve unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors der Probe durchgeführt werden, dies entspricht 250 – 5000 pg/ml NFL in der Originalprobe. Eine Extrapolation oberhalb der Kurve ist nicht zulässig. Proben außerhalb des Kurvenbereichs müssen weiter verdünnt und erneut gemessen werden.

15. Verwendungsbeschränkungen

Bei klinischen Proben sollten folgende Kriterien berücksichtigt werden:

- Bei atypischen Parkinson-Syndromen sind NF-L-Konzentrationen im Vergleich zur Parkinson-Krankheit deutlich erhöht [6].
- Verschiedene Art von Demenzerkrankungen sind mit unterschiedlichen NF-L-Konzentrationen verbunden [7].
- Bei Diagnoseverfahren müssen die Ergebnisse dieser Analyse gemeinsam mit weiteren klinischen Befunden ausgewertet werden.

Mögliche Beeinträchtigungen durch heterophile Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Patienten mit häufigem Kontakt zu Tieren oder nach Immuntherapien oder Diagnoseverfahren mit Immunglobulinen oder Immunglobulinfragmenten können unter Umständen humane Anti-Tier-Antikörper, z. B. HAMA, entwickeln, die diesen Immunassay beeinträchtigen. Eine weitere mögliche Störquelle ist eine Behandlung mit einer Biotintherapie. Beim Verdacht auf Vorliegen derartiger Beeinträchtigungen der Proben müssen die Ergebnisse gründlich überprüft werden.

16. Klinische Beurteilung

Die NF-L-Konzentrationen im Liquor wurden für 35 verschiedene neurologische und psychiatrische Erkrankungen mit dem UmanDiagnostics NF-light® ELISA-Kit analysiert [8]. Die Metastudie basierte auf 47 Datensätzen und umfasste Daten von 10.059 Personen.

Die Ergebnisse zeigten, dass die NF-L-Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Kontrollen bei den meisten Erkrankungen erhöht waren, mit Ausnahme von:

- Parkinson-Krankheit ($p > 0,95$)
- Parkinson-Demenz ($p > 0,95$)
- Lewy-Körperchen-Demenz (LBD) ($p = 0,09$)
- Primär progrediente MS ($p = 0,33$)
- Idiopathischer Normaldruckhydrozephalus ($p > 0,95$)
- Leichte kognitive Störung ($p = 0,10$)

- Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyradikulopathie/Guillain-Barré-Syndrom

Die höchsten NF-L-Konzentrationen wurden beobachtet für:

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> HIV Frontotemporale Demenz/ALS ALS | <ul style="list-style-type: none"> Chorea Huntington Frontotemporale Demenz |
|--|---|

Die Konzentrationswerte überlappten sich in den meisten klinisch ähnlichen Diagnosen mit Ausnahme von:

- Frontotemporale Demenz und HIV mit kognitiven Beeinträchtigungen, die sich von anderen Demenzen unterschieden
- Parkinson-Krankheit, die von atypischen Parkinson-Syndromen abgetrennt wird.

Die Werte bei gesunden Kontrollen war abhängig von Alter und Geschlecht.

Es ist bekannt, dass bei gesunden Kontrollen die NF-L-Konzentrationen im Liquor aufgrund axonaler Degradation mit zunehmendem Alter ansteigen. Erfahrungen aus der klinischen Routineanalyse seit der frühen Produktentwicklung (2008) haben zu folgenden Grenzwerten geführt:

Alter	Referenzwert	
Erwachsene	< 30 Jahre	< 380 pg/ml
	30 – < 40 Jahre	< 560 pg/ml
	40 – < 60 Jahre	< 890 pg/ml
	≥ 60 Jahre	< 1850 pg/ml

Die Ergebnisse des Tests sind nur dann als valide anzusehen, wenn gemäß Arbeitsanleitung gearbeitet wurde und sie müssen mit weiteren klinischen Beobachtungen und diagnostischen Tests korreliert werden. Der Anwender hat sich strikt an die Vorschriften der guten Laborpraxis (Good Laboratory Practice, GLP) oder an andere geltende Standards/Gesetze zu halten.

17. Leistungsdaten

Rückverfolgbarkeit des Standards

Der Test wird anhand von internen Qualitätskontrollproben des Liquors von Patienten (gepoolte Proben) standardisiert. Es sind keine Referenzmethode oder Standard-Referenzmaterial im Handel erhältlich. Nachfolgend sind typische chargenweise Abweichungen für die Absorptions- und QC-Proben dargestellt.

Kit-Charge	Ak 5000 pg/ml (AU)	Konz. QC-Probe 1 (pg/ml)	Konz. QC-Probe 2 (pg/ml)	Konz. QC-Probe 3 (pg/ml)
70668/70678	3,23	4079		2245
70688/70698	3,06	4246		2262
70716/70726	3,17	4151		2335
70736/70746	3,27	4571		2384
70784/70794	2,95	3893	2211	
70804/70814	3,12	3944	2275	
70836/70845	3,02	4440	2315	
Mittelwert:	3,12	4189	2267	2307
SD:	0,12	245	45	65
CV:	3,8 %	5,8 %	2,0 %	2,8 %

Genauigkeit:

Die Liquorproben wurden mit 50 000 pg/ml Neurofilament medium (NF-M) und Neurofilament heavy (NF-H) dotiert. Die Wiederfindung von NF-L bei NF-M- und NF-H-dotierten Proben variierte bei 95,1–103 %.

Analytische Empfindlichkeit:

Nachweisgrenze (NG) 33 pg/ml, Bestimmungsgrenze (BG) 81 pg/ml.

Präzision:

Intra-Präzision von NF-light® ELISA: < 5 % (700–5000 pg/ml)

Inter-Präzision von NF-light® ELISA: < 10 % (700–5000 pg/ml)

Verdünnungslinearität:

Eine Verdünnungslinearität liegt im Konzentrationsintervall von 53–21 000 pg/ml vor.

Parallelität:

Die Verdünnung der Liquorproben folgt dem gleichen Trend wie die Verdünnung der dotierten Proben. Die Verdünnung hat keinen Einfluss auf die Konzentrationsbestimmung endogener NF-L im untersuchten Konzentrationsintervall von 171–6900 pg/ml.

Wiederfindung:

Die Wiederfindung im untersuchten NF-L Konzentrationsintervall von 1700–6800 pg/ml liegt zwischen 88–108 %.

Genauigkeit:

Ein Vergleich der Ergebnisse aus dieser Analyse mit anderen Methoden ist nicht möglich, da es kein Kit mit CE-Zeichen oder standardisiertes Material für NF-L gibt.

18. Garantieerklärung

Die hier dargestellten Leistungsdaten wurden mittels der angegebenen Verfahren erzielt. Jegliche Änderung oder Veränderung hinsichtlich der Verfahren, die nicht von UmanDiagnostics AB empfohlen wurden, können sich auf die Ergebnisse auswirken. In diesem Fall schließt UmanDiagnostics AB jegliche ausdrückliche, stillschweigende oder gesetzliche Gewährleistung, einschließlich der allgemeinen Gebrauchstauglichkeit und Eignung für einen bestimmten Zweck, aus. UmanDiagnostics AB und die zugelassenen Vertriebshändler übernehmen in einem solchen Fall keine Haftung für direkte, indirekte oder Folgeschäden.

19. Literaturverzeichnis

1. Yuan, A., et al., *Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2017. **9**(4).
2. Feneberg, E., et al., *Multicenter evaluation of neurofilaments in early symptom onset amyotrophic lateral sclerosis*. Neurology, 2018. **90**(1): S. e22-e30.
3. Andersson, E., et al., *Blood and cerebrospinal fluid neurofilament light differentially detect neurodegeneration in early Alzheimer's disease*. Neurobiol Aging, 2020. **95**: S. 143-153.
4. Gunnarsson, M., et al., *Axonal damage in relapsing multiple sclerosis is markedly reduced by natalizumab*. Ann Neurol, 2011. **69**(1): S. 83-9.
5. Norgren, N., et al., *Monoclonal antibodies selective for low molecular weight neurofilaments*. Hybrid Hybrids, 2002. **21**(1): S. 53-9.
6. Hall, S., et al., *Accuracy of a panel of 5 cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of patients with dementia and/or parkinsonian disorders*. Arch Neurol, 2012. **69**(11): S. 1445-52.
7. Khalil, M., et al., *Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders*. Nat Rev Neurol, 2018. **14**(10): S. 577-589.
8. Bridel, C., et al., *Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid Neurofilament Light Protein in Neurology: A Systematic Review and Meta-analysis*. JAMA Neurol, 2019.

20. Verwendete Symbole

REF	Kat.-Nr.:
	Verwendbar bis:
LOT	Chargen-Bez.:
	Kitgröße:
IVD	<i>In-vitro-Diagnostikum.</i>
	Arbeitsanleitung lesen.
	Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen.
	Lagern bei:
	Hersteller:
	Herstellungsland
	Vorsicht!
	Warnung



**UmanDiagnostics AB
Tvistevägen 48C
907 36 Umeå, Schweden**

**Telefon: +46(0)90 777 880
info@umandiagnostic.com
www.umandiagnostic.com**

Die Arbeitsanweisungen in anderen Sprachen stehen zum direkten Download auf der Website des Unternehmens bereit.