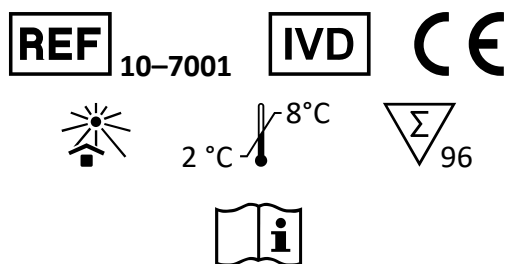




NF-light® (Neurofilament light, lehká neurofilamenta) ELISA Pro vzorky CSF

Enzymová imunoanalýza pro kvantifikaci
lehkého neurofilamentu ve vzorcích mozkomíšního moku

Návod k použití




Umandiagnostics.com/products/ifu-ce



UmanDiagnostics AB
Tvistevägen 48C
907 36 Umeå, Švédsko

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

Návody k použití v dalších jazycích jsou k dispozici ke stažení přímo na webových stránkách společnosti.

 umandiagnostics.com/products/ifu-ce

1. Historie revizí návodu k použití

Změny oproti předchozí verzi **2021-11** ve srovnání s aktuální verzí **2026-03**

Všechny kapitoly – aktualizováno

Kapitola 5 – Aktualizovány a doplněny údaje

Kapitola 7 – Doplněna kapitola: Upozornění a bezpečnostní opatření

Kapitola 10 – Aktualizovaný seznam materiálů

Kapitola 12 – Aktualizovány/doplněny informace

Kapitola 15 – Aktualizovány/doplněny informace

Kapitola 16 – Aktualizovány/doplněny informace

Kapitola 17 – Aktualizovány/doplněny informace

Kapitola 19 – Aktualizována literatura

2. Určený účel

NF-light® ELISA je neautomatizovaný in vitro diagnostický prostředek určený pro kvantitativní stanovení lidského proteinu lehkých neurofilament (NF-L) v mozkomíšním moku (CSF). Zvýšené hladiny NF-L indikují degradaci nervových buněk a výsledek se používá jako **pomůcka k diagnostice** neurologických onemocnění, jako je amyotrofická laterální skleróza (ALS), roztroušená skleróza (RS), demence a Parkinsonova choroba (PD). Výsledky tohoto testu musí být použity společně s dalšími klinickými pozorováními a anamnézou pacienta, protože NF-L je nespecifický biomarker pro neuronální poškození. Určenou testovanou populací jsou lidé starší 18 let, u kterých existuje podezření, že trpí neurologickým onemocněním.

Souprava je určena pro profesionální použití, to znamená, že by ji měl používat personál klinické laboratoře vyškolený v technologii ELISA a diagnostických postupech in vitro.

3. Poznámka pro uživatele

Pokud dojde v souvislosti s tímto zařízením k závažné příhodě, měla by být příhoda nahlášena výrobcí a příslušnému místně příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen. Chcete-li nahlásit příhodu výrobcí, viz kontaktní údaje na konci tohoto návodu.

4. Základní informace

Neurofilamenta jsou hlavními cytoskeletálními složkami v neuronových buňkách. Jsou důležité pro udržení neuronálního kalibru a morfologické integrity, která ovlivňuje rychlost a věrnost neuronových přenosů. Existují tři různé neurofilamentové řetězce, pojmenované podle jejich velikosti. Jedná se o lehká, střední a těžká neurofilamenta. Lehké neurofilamentum tvoří páteř, ke které se skládají těžší řetězce a tvoří neurofilamentové vlákno [1]. Po poranění nervových buněk v důsledku přímého traumatu nebo pomalých degenerativních procesů je obsah buňky uvolněn do okolního kompartmentu, což umožňuje kvantitativní stanovení neuronálních proteinů. Zvýšené hladiny NF-L byly nalezeny u různých degenerativních onemocnění, jako je amyotrofická laterální skleróza, Alzheimerova choroba a roztroušená skleróza [2–4].

5. Popis metody


Test UmanDiagnostics NF-light® ELISA je enzymatický imunotest určený pro kvantitativní měření NF-L v lidském mozkomíšním moku. Test používá dvě vysoce specifické nekompetující monoklonální protilátky [5]. Záchytná protilátka je potažena na pevném povrchu a váže vzorek NF-L. Sekundární/detekční protilátka je konjugována s biotinem a přidání streptavidinu konjugovaného s HRP umožňuje kvantitativní měření prostřednictvím enzymatické přeměny bezbarvého substrátu (TMB) na barevný produkt. Hodnoty absorbance lze pomocí kalibrační křivky převést na množství NF-L ve vzorku.

Rozsah kvantifikace standardní křivky:	125 pg/ml–2500 pg/ml
Interval kalibrační křivky:	50 pg/ml–5000 pg/ml
LoB	16 pg/ml
LoD	25 pg/ml
LoQ	62 pg/ml
Precision: Intra-Assay CV%	< 3%
Precision: Inter-Assay CV%	< 6%
Inkubační doba:	2 hodiny a 30 minut
Velikost vzorku:	50 µl/replikát
Minimální ředění vzorku:	2x

6. Důležité informace!

- S výrobkem je třeba zacházet výhradně v souladu s tímto návodem k použití (IFU). Dodržujte zásady správné laboratorní praxe a bezpečnostní pokyny. V případě potřeby noste laboratorní pláště, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- V případě vážného poškození obalu soupravy kontaktujte písemně svého dodavatele nejpozději do týdne po obdržení soupravy. Nepoužívejte poškozené součásti. Poškozené součásti uschovejte pro případy související s reklamací. Ztráta podtlaku v misce nemá žádný negativní vliv na výkonnost testu.
- NF-light® ELISA je určena pouze pro diagnostické použití in vitro a není určena pro vnitřní použití u lidí nebo zvířat,
- Nemíchejte reagenty různých šarží.

7. Varování a bezpečnostní opatření

- V soupravě nejsou žádné látky zvířecího nebo lidského původu, které představují riziko infekce.
- Veškerý materiál lidského původu by měl být považován za potenciálně infekční a mělo by se s ním zacházet opatrně. V případě rozlití okamžitě dezinfikujte 0,5% chlornanem sodným nebo ekvivalentem.
- Veškerý materiál, který přišel do styku se vzorky a reagenty, zlikvidujte v souladu s předpisy platnými na úrovni státu, kraje a obce.
-  **Varování (H290, H315, H319, P280, P305+P351+P338, P337+P313, P390)**
Roztok Stop může působit korozivně na kovy. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí., Noste ochranné rukavice odolné proti chemikáliím a ochranné brýle. **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Opatrně vyplachujte vodou po dobu několika minut. Pokud je to možné, vyjměte kontaktní čočky a pokračujte ve vyplachování. Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc. Rozlitou látku vysajte, abyste zabránili hmotným škodám. Bezpečnostní list pro tento produkt je k dispozici na webových stránkách UmanDiagnostics a lze jej na vyžádání zaslat také e-mailem.

8. Doba použitelnosti a skladování reagentů

Uchovávejte soupravu při teplotě +2 až 8 °C a chraňte před teplem a přímým slunečním zářením. Součásti nezmrazujte.

Rekonstituovaný kalibrátor a pozitivní kontrola by se měly použít ihned a nelze je znovu použít.

Po otevření by měla být sada spotřebována do 4 týdnů.

Otevřenou destičku je třeba uzavřít lepicí páskou, aby se zabránilo nadměrné vlhkosti, a skladovat při teplotě +2 až 8 °C.

Doba použitelnosti soupravy je vytištěna na štítku krabičky soupravy a je uvedena také na přiloženém certifikátu analýzy (CoA).


9. Odběr a skladování vzorků

Po lumbální punkci by měly být vzorky uchovávány při -80 °C v polypropylenových zkumavkách. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazování/rozmrazování. Stabilita vzorku byla hodnocena pro 5 různých klinických vzorků. Reaktivita vzorku po různých úpravách byla porovnána se stejným vzorkem skladovaným při -80 °C.

		Průměr v % vůči kontrole při -80 °C	Průměrný interval v %
Zmrazování–rozmrazování	≤ 4 cykly	98,0	96–101
Uchovávání	+5 až -8 °C ≤ 1 týden	99,7	95–108
	24 h při RT (+22 °C)	100	91–106
	-20 °C 1 měsíc	95,8	89–109

10. Materiály

Dodávané součásti soupravy:

Barva víčka	Krátký název	Celý název	Popis	Množství
Neuplatňuje se	Destička	Destička se stripy anti-NF-L	Předem potažené myší anti-NF-L monoklonální protilátkou, uzavřené víkem a zatavené v plastovém sáčku s desikantem.	12 x 8 jamek
Šedá	Stop	Roztok Stop	 Zředěná H ₂ SO ₄ (8 % obj./obj.).	1 x 6 ml
Černá	TMB	Substrát TMB	Tetramethylbenzidinový substrát	1 x 12 ml
Černá	Elisa-Dil	Roztok ELISA	Vodný pufovaný roztok s detergentem.	1 x 40 ml
Červená	ConjDil	Konjugát	Vodný pufovaný stabilizační roztok bez biotinu.	1 x 12 ml
Červená	Conj	Konjugát	Streptavidin konjugát křenové peroxidázy ve vodném pufovaném stabilizačním roztoku bez biotinu. Zředte podle údajů na označení.	1 x 350 µl
Černá	Det	Detektor Ab	Biotinem značená anti NF-L monoklonální protilátka ve vodném pufovaném stabilizačním roztoku bez biotinu. Ředte podle štítku.	1 x 300 µl
Zelená	vNFL-Cal	bNF-L kalibrátor	Rekonstituujte podle označení na lahvičce. (Obsahuje bovinní spongiformní encefalopatii, negativní bovinní materiál slintavky a kulhavky německého původu).	2 lahvičky
Bílá	Pos Ctrl	Pozitivní kontrola hrNF-L	Rekombinantní lidský NF-L, který je třeba rekonstituovat podle pokynů na štítku lahvičky.	2 lahvičky
Bílá	Wash	Promývací pufr	10x vodný pufovaný roztok s detergentem.	2 x 40 ml

Další poskytnutý materiál:

15ml zkumavka pro ředění konjugátu, 2 ks

Základní vybavení, které není součástí:

Čtečka mikrotitračních destiček 450 nm (referenční vlnová délka 620–650 nm)

Mikropipety 10 – 1000 µl

Vortexové míchadlo

Orbitální stolní třepačka ELISA (800 ot./min.)

Deionizovaná voda

Promývací láhev, automatický nebo poloautomatický systém promývání mikrotitračních destiček

Pipetovací špičky a časovač

Polystyrenové nebo polypropylenové zkumavky pro kalibrátory a ředění vzorků

11. Postup testu

Příprava a důležité poznámky:

- Všechny reagentie pro testování je třeba před použitím nechat zahřát na pokojovou teplotu (RT, +18–25 °C).
- Tato souprava je navržena tak, aby ji bylo možné použít při dvou samostatných analýzách. Pokud se souprava má použít při dvou analýzách, je třeba připravit maximálně 500 µl dodatečného objemu pracovních roztoků konjugátu a detekční protilátky. Zkumavky s konjugátem a detekční protilátkou je třeba před použitím odstředit, aby byl při druhé analýze k dispozici dostatečný objem reagentií.
- Doporučuje se provádět analýzu vzorků a kalibrátorů ve dvojím opakování. Pokud se mezi jednotlivými opakováními vyskytnou velké odchylky, proveďte analýzu znovu. Součástí soupravy je víčko na destičku. To by se mělo používat k zakrytí destičky během inkubačních kroků, aby se zabránilo kontaminaci. Všechny inkubační kroky by se měly provádět při pokojové teplotě.

- Během inkubačních kroků použijte **orbitální stolní třepačku ELISA při 800 ot./min. Protřepávání destičky při 800 ot./min. je NEJDŮLEŽITĚJŠÍ pro dosažení spolehlivých výsledků.** Inkubace při nižších otáčkách může způsobit nižší absorpenci a nespolehlivé výsledky,

- Při přípravě roztoku konjugátu použijte dodanou zkumavku Sarstedt o objemu 15 ml (62.554.502). Použití jiných zkumavek může mít negativní vliv na aktivitu konjugátu, což může vést ke snížení celkové absorbance a k nespolehlivým výsledkům měření vzorků. Upozorňujeme však, že pro usnadnění pipetování ve všech krocích lze použít zásobníky na reagentie.

- Před měřením absorbance se ujistěte, že v jamkách nejsou žádné bublinky.

Příprava promývacího pufru 1x:

Naředte celkový obsah jedné lahvičky **Wash** s deionizovanou vodou na konečný objem 400 ml. Zředěný, nepoužitý **Wash** lze skladovat při pokojové teplotě a měl by být spotřebován do dvou měsíců. 10x **Wash** může vypadat opalescentně kvůli vysoké koncentraci soli (nemá žádný vliv na výkon testu).

Rekonstituce kalibrátoru a pozitivní kontroly:

Bezprostředně před použitím rekonstituujte **bNFL-Cal** a **Pos Ctrl** podle pokynů na štítku příslušné lahvičky pomocí **ELISA-Dil**. Krátce promíchejte vortexovým míchadlem a uchovávejte při pokojové teplotě. **Pos Ctrl** by se neměl dále ředit. **bNFL-Cal** a **Pos Ctrl** nelze znovu použít. Rekonstituovaný **bNFL-Cal** má koncentraci 5000 pg/ml. Koncentrace **Pos Ctrl** je uvedena na certifikátu pravosti (CoA).

Příprava kalibračních sérií ředění:

Kalibrační křivka by měla být zahrnuta ke každé analyzované destičce. Nejvyšší kalibrační bod (5000 pg/ml) se získá rekonstitucí jedné lahvičky lyofilizovaného **Bnfl-Cal** v objemu **ELISA-Dil** uvedeném na označení lahvičky.

Označte sedm mikrozkušavek, jednu pro každý kalibrační bod (to znamená 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 50 pg/ml) a jeden pro nulový kalibrátor, s výjimkou 5000 pg/ml, který je použit přímo z lahvičky, Naředte rekonstituovaný kalibrátor podle níže uvedené tabulky pomocí **ELISA-Dil**.

Proveďte sériové ředění, jak je popsáno níže.

Č. zkumavky	Koncentrace pg/ml	Objem ELISA-Dil	Objem kalibrátoru ze zkumavky č.
bNFL-Cal (lahvička)	5000	Rekonstituujte pomocí ELISA-Dil podle označení na lahvičce kalibrátoru	
1	2500	300 µl	300 µl (lahvička)
2	1250	300 µl	300 µl (1)
3	500	360 µl	240 µl (2)
4	250	300 µl	300 µl (3)
5	125	300 µl	300 µl (4)
6	50	360 µl	240 µl (5)
7	0	300 µl	0 µl

Přehled testu:

Promývání 3 x 300 µl			
bNFL-Cal (přímo z lahvičky a zkumavek č. 1–6) Přidání 100 µl	ELISA-Dil Nulový kalibrátor (zkumavka č 7). Přidání 100 µl	Pos Ctrl přímo z lahvičky Přidání 100 µl	Vzorky CSF / Vzorek pro vnitřní kontrolu (ředění 1:1) Přidání 100 µl
Inkubace 1 hodina, 800 ot./min			
Promývání 3 x 300 µl			
Přidání 100 µl Detector Ab 1x			
Inkubace 45 minut, 800 ot./min			
Promývání 3 x 300 µl			
Přidání 100 µl konjugátu 1x			
Inkubace 30 minut, 800 ot./min			
Promývání 3 x 300 µl			
Přidání 100 µl TMB			
Inkubace 15 minut, 800 ot./min			
Přidání 50 µl Stop			
Odečtěte destičku při 450 nm (referenční vlnová délka 620 – 650 nm) ihned po přidání roztoku Stop			

Podrobný protokol testu:

1. Rekonstituovaný **Bnfl-Cal**, který byl naředěn podle tabulky ředění kalibrátorů a rekonstituovaný **Pos Ctrl**, jsou připraveny k použití (tj. nemá se provádět žádné další ředění).
2. Vzorky CSF naředte stejným množstvím (v poměru 1:1) roztoku **ELISA-Dil** na celkový minimální objem 210 µl.
3. Promyjte jamky, které mají být použity, pufrém **Wash 1x** (3x300 µl). Promývání může být prováděno buď automatickou promývačkou, nebo ručním pipetováním. Při ručním promývání nezapomeňte mezi jednotlivými promývacími cykly odstranit přebytečný promývací pufr poklepáním destičky o savý papír. Zbytky promývacího pufru a/nebo nedostatečné promytí by mohly ovlivnit reaktivitu následující reagentie.
4. Do každé jamky přidejte 100 µl následujících roztoků: kalibrační body (přímo z lahvičky a zkumavek č. 1–6), nulový kalibrátor (zkumavka č. 7), pozitivní kontrola (lahvička) a vzorky, Přidejte ve dvojím opakování.
→ Inkubujte 1 hodinu při pokojové teplotě za míchání (800 ot./min.).
5. Promyjte jamky pufrém **Wash 1x** (3 x 300 µl), viz bod 3.
6. Bezprostředně před použitím připravte požadovaný objem (100 µl/jamka) **Det 1x** naředěním koncentrovaného **Det** pomocí **ELISA-Dil**, důkladně promíchejte převrácením zkumavky nebo vortexováním.
→ Do každé jamky přidejte 100 µl čerstvě naředěné protilátky indikátoru.
→ Inkubujte 45 minut při RT za míchání (800 otáček za minutu).
7. Promyjte jamky pufrém **Wash 1x** (3 x 300 µl), viz bod 3.
8. Bezprostředně před použitím připravte požadovaný objem (100 µl/jamka) **Conj-1x** v **dodané 15ml zkumavce Sarstedt** naředěním podle označení lahvičky s **ConjDil** na koncentraci 1x. Důkladně promíchejte převrácením zkumavky nebo vortexováním.
→ Do každé jamky přidejte 100 µl čerstvě naředěného **Conj**.
→ Inkubujte 30 minut při RT za míchání (800 otáček za minutu).
9. Promyjte jamky pufrém **Wash 1x** (3 x 300 µl), viz bod 3.
10. Do každé jamky přidejte 100 µl **TMB**.
→ Inkubujte 15 minut při teplotě místnosti za míchání (800 otáček za minutu).
11. Do každé jamky přidejte 50 µl roztoku Stop a odečtěte absorbanci při 450 nm (referenční vlnová délka 620–650 nm).



Roztok Stop obsahuje zředěnou kyselinu sírovou a ta je žíravá.

12. Výpočet výsledků

Výsledky lze vypočítat automaticky pomocí softwarového balíčku pro imunoanalýzu. **1/y² – vážený 4parametrový algoritmus poskytuje nejlepší přizpůsobení křivce** (viz typická kalibrační křivka níže). Pokud není k dispozici žádný takový software pro imunoanalýzu, vypočte se koncentrace NF-L z vnesení průměrné OD při (λ 450 minus referenční rozsah 620–650 λ reference) proti známým standardním koncentracím např. v Excelu. *Upozorňujeme, že takový model nebude v dolní části křivky tak přesný jako čtyřparametrový model.* Vyneste logaritmicko-lineární kalibrační křivku na základě absorbance (osa y) a koncentrace (osa x). Přidejte lineární linii trendu a pomocí její rovnice ručně vypočítejte koncentraci vašich vzorků na základě jejich příslušné absorbance.

Při všech výpočtech prosím vezměte na vědomí následující:

- Absorbance nulového kalibrátoru by neměla být odečítána z naměřených dat. Měla by být použita pouze jako indikátor úrovně pozadí, které by měly být porovnány s očekávanými hodnotami na certifikátu analýzy (CoA).
- **Hodnoty vzorků odečtené z křivky musí být vynásobeny ředicím faktorem vzorku, aby bylo možné získat koncentraci v původním vzorku.**
- Interval kvantifikace křivky je mezi 125 a 2500 pg/ml. Vzorky, které se nacházejí nad tímto intervalem, by měly být odpovídajícím způsobem zředěny a znovu analyzovány. Vzorky, které se nacházejí pod tímto intervalem, jsou příliš nízké na to, aby mohly být touto metodou přesně kvantifikovány. Více podrobností naleznete v oddíle 12.

Koncentraci ze standardní křivky je třeba vynásobit 2, abyste získali koncentraci ve vzorku (kvůli ředění 1+1 před analýzou).

13. Kontrola kvality

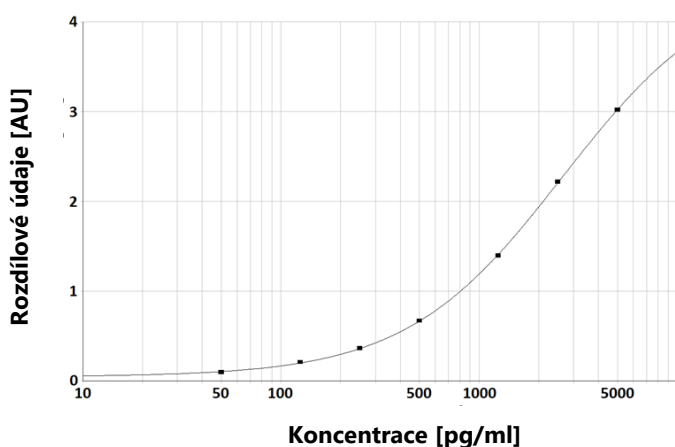
Pro ověření funkční způsobilosti testu by měla být při každé analýze splněna následující kritéria. Upozorňujeme, že absorbance se vztahují k rozdílům (λ 450 minus λ reference).

- Křivka by měla vypadat jako na obrázku níže.
- Koncentrace v vzorku **Pos Ctrl** by měla spadat do mezí přijatelnosti uvedených v certifikátu analýzy (CoA); koncentraci je třeba stanovit přímo z kalibrační křivky, bez násobení jakýmkoli ředicím faktorem.
- Absorbance pro 5000 pg/ml by měla být > 2,0 AU.
- Nulový kalibrátor by měl být < 0,1 AU.

Pokud se souprava používá při běžné klinické analýze, měly by být stanoveny hodnoty pro vnitřní kontrolní vzorky od zdravých dobrovolníků a/nebo pro vzorky od pacientů se zvýšenými hladinami. Doporučuje se, aby alespoň jeden kontrolní vzorek měl hodnotu v intervalu koncentrací 1000–3000 pg/ml. Kontrolní vzorky lze připravit smícháním vzorků mozkomíšního moku a opakovanou analýzou směsného vzorku za účelem stanovení úrovně koncentrace a kritérií přijatelnosti. Směsný vzorek by měl být rozdělen na alikvoty a skladován při -80 °C.

Níže je uvedena typická kalibrační křivka v čase vydání a jsou uvedeny přibližné hodnoty absorbance.

Kalibrační křivka



Kalibrační úroveň (pg/ml)	% signálu pro 5000 pg/ml
5000 (kotevní bod)	100
2500	71
1250	44
500	20
250	11
125	5,7
50 (kotevní bod)	2,7

14. Interval měření

Kalibrační křivka pokrývá interval 50–5000 pg/ml NF-L. Kalibrátory 5000 pg/ml a 50 pg/ml slouží jako kotevní body a kvantifikace by měla být provedena v intervalu 125–2500 pg/ml kalibrační křivky s přihlédnutím k faktoru ředění vzorku (2), což odpovídá 250–5000 pg/ml NFL v původním vzorku. Extrapolace mimo křivku není povolena s tím, že vzorky mimo křivku musí být dále zředěny a přeměřeny.

15. Omezení použití

U klinických vzorků je třeba vzít v úvahu následující kritéria:

- V případě jakéhokoli diagnostického postupu je nutné výsledky tohoto testu vyhodnocovat společně s dalšími klinickými nálezy.
- Výsledky tohoto testu nesrovnávejte s výsledky získanými pomocí souprav jiných výrobců.
- Hladiny NF-L jsou výrazně zvýšené u atypické PD ve srovnání s PD [6].
- Různé typy demence jsou spojeny s různými úrovněmi NF-L [7].

Potenciální interference heterofilních protilátek může způsobit chybné výsledky. Pacienti, kteří pravidelně přicházejí do kontaktu se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické postupy využívající imunoglobuliny nebo imunoglobulinové fragmenty, mohou produkovat lidské protilátky proti zvířecím protilátkám, např. HAMA, které interferují s tímto imunotestem. Dalším potenciálním zdrojem interference je, pokud pacienti podstoupili biotinovou terapii. Pečlivě vyhodnoťte výsledky, pokud je u vzorků podezření na tyto typy interferencí.

16. Klinická funkce

Hladiny NF-L v CSF byly analyzovány pro 35 různých neurologických a psychiatrických stavů pomocí soupravy UmanDiagnostics NF-light® ELISA. Metastudie byla založena na 47 souborech dat a zahrnovala data od 10 059 jedinců. Výsledky ukázaly, že hladiny NF-L byly u většiny stavů zvýšené ve srovnání s kontrolami od zdravých dobrovolníků. Nejvyšší hladiny NF-L byly zaznamenány u osob s HIV a kognitivním postižením, u pacientů s ALS, frontotemporální demencí a Huntingtonovou chorobou [8], Další studie navíc prokázaly klinickou užitečnost NF-L u ALS [9], demencí [10], roztroušené sklerózy [11] a Parkinsonovy choroby [12].

Hladiny kontrol od zdravých dobrovolníků byly závislé na věku a pohlaví. Je známo, že u kontrol od zdravých dobrovolníků se hladiny NF-L v CSF zvyšují s věkem v důsledku neuronální degradace. Zkušenosti z běžných klinických analýz od raného vývoje produktu vedly k následujícím mezním úrovním:

Věk	Referenční hodnota	
Dospělí	< 30 let	< 380 pg/ml
	30– < 40 let	< 560 pg/ml
	40– < 60 let	< 890 pg/ml
	≥ 60 let	< 1850 pg/ml

Výsledky jsou platné pouze tehdy, pokud byl test proveden podle návodu k použití a musí být korelovány s jinými klinickými pozorováními a diagnostickými testy. Uživatel musí přísně dodržovat pravidla SLP (Správná laboratorní praxe) nebo jiné platné normy/zákony.

17. Charakteristiky funkční způsobilosti

Sledovatelnost kalibrátoru

Test je standardizován pomocí vzorků mozkomíšního moku od pacientů pro interní kontrolu kvality (směsné vzorky). Žádná referenční metoda ani standardní referenční materiál nejsou komerčně dostupné. Níže jsou uvedeny typické variace mezi šaržemi pro absorbanční a vzorky pro kontrolu kvality.

Šarže soupravy	Abs 5000 pg/ml (AU)	Koncentr. vzorek kontroly kvality 1 (pg/ml)	Koncentr. vzorek kontroly kvality 2 (pg/ml)	Koncentr. vzorek kontroly kvality 3 (pg/ml)
70940/70950	3,26	2179	1332	-
70966/70976	3,23	2289	1458	2303
70986/70996	3,16	2242	1475	2307
71017/71027	3,29	2169	1415	2196
71037/71047	3,22	-	1475	2200
71068CE/71069RUO	3,18	2270	1471	2253
71092CE/71093RUO	3,24	2309	1448	2223
Průměr:	3,23	2243	1439	2247
SD:	0,04	58	52	49
CV:	1,4 %	2,6 %	3,6 %	2,2 %

Analytická specifita

Interference a zkřížená reaktivita uvedené v tabulce níže byly stanoveny v souladu s pokyny EP07 Institutu pro klinické a laboratorní standardy (CLSI) [13].

Látka	Koncentrace látky	Zkreslení způsobené látkou
Biotin	191 ng/ml	3,8 %
Hemoglobin	27 ng/ml	6,4 %
Přímý bilirubin	3 mg/dl	3,1 %
Nepřímý bilirubin	2 mg/ml	0,1 %
Albumin	0,3 g/dl	4,6 %
Střední neurofilament	50000 pg/ml	-0,7 %
Těžký neurofilament	50000 pg/ml	0,5 %
Tau	2500 pg/ml	0,7 %

Analytická citlivost

Limit slepého vzorku (LoB) 16 pg/ml.

Limit detekce (LoD) 25 pg/ml.

Limit kvantifikace (LoQ) 62 pg/ml.

LoB a LoD byly stanoveny podle pokynů CLSI EP17-A2 [14]. LoQ byl stanoven na základě výsledků slepých vzorků získaných během hodnocení LoB a vypočítán jako průměr slepých vzorků + 10×SD slepých vzorků.

Přesnost

Přesnost v rámci testu: 2,8 % (rozsah koncentrací 239–4223 pg/ml).

Přesnost mezi testy: 6,0 % (rozsah koncentrací 242–4938 pg/ml).

Přesnost mezi šaržemi: 1 z 5 vzorků 19,2 % (304 pg/ml), 4 z 5 vzorků 4,7 % (730 – 4753 pg/ml).

Přesnost v rámci testu byla stanovena jako průměrné % CV z 20 opakovaných měření pěti vzorků CSF.

Přesnost mezi testy byla stanovena podle pokynů CLSI EP05-A3 [15]. Vzorky pro testy mezi testy byly testovány v uspořádání 5x2x2 se třemi samostatnými šaržemi. Je uveden průměr výsledků.

Přesnost mezi šaržemi byla stanovena pomocí výsledků získaných během hodnocení mezi testy a byla vypočítána jako % CV pro příslušné vzorky. Maximální povolená přesnost mezi šaržemi je $CV \leq 20\%$ pro vzorky < 500 pg/ml a $CV \leq 10\%$ pro vzorky ≥ 500 pg/ml.

Linearita ředění

Linearita ředění je v koncentračním intervalu 53 – 21 000 pg/ml.

Paralelismus

Ředění vzorků CSF sleduje stejný trend jako ředění obohacených vzorků. Ředění neovlivňuje stanovení koncentrace endogenního NFL ve zkoumaném koncentračním intervalu 171 – 6900 pg/ml.

Výtěžnost

Výtěžnost ve zkoumaném koncentračním intervalu NFL 1700 – 6800 pg/ml se pohybuje mezi 88–108 %.

Přesnost

Výsledky tohoto testu nebylo možné porovnat s žádnou jinou metodou, protože není k dispozici žádná souprava označená CE pro CSF ani standardní referenční materiál pro NF-L.















18. Záruka

Údaje o funkční způsobilosti zde uvedené byly získány za použití uvedeného postupu popsaného testu. Jakákoli změna nebo úprava postupu, která není doporučena společností UmanDiagnostics AB, může ovlivnit výsledky, v takovém případě se společnost UmanDiagnostics AB zříká všech záruk, výslovných, nepřímých nebo zákonných, včetně předpokládané záruky obchodovatelnosti na trhu a vhodnosti k použití. Společnost UmanDiagnostics AB a její autorizovaní distributoři v takovém případě nenesou odpovědnost za žádné škody, ať už přímé, nepřímé nebo následné.

19. Použitá literatura

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): p. 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**: p. 143-153.
4. Gunnarsson, M., et al., *Axonal damage in relapsing multiple sclerosis is markedly reduced by natalizumab*. *Ann Neurol*, 2011. **69**(1): p. 83-9.
5. Norgren, N., et al., *Monoclonal antibodies selective for low molecular weight neurofilaments*. *Hybrid Hybridomics*, 2002. **21**(1): p. 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): p. 1445-52.
7. Khalil, M., et al., *Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders*. *Nat Rev Neurol*, 2018. **14**(10): p. 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.
9. Kläppe, U., et al., *Neurodegenerative biomarkers outperform neuroinflammatory biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis*. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, 2024. **25**: p.150-161.
10. Hüper, L., et al., *Neurofilaments and progranulin are related to atrophy in frontotemporal lobar degeneration – A trandiagnostic study cross-validating atrophy and fluid biomarkers*. *Alzheimer's Dement*.2024 **20**: p. 4461- 4475.
11. Rosenstein, I., et al., *Increased intrathecal neurofilament light and immunoglobulin M predict severe disability in relapsing-remitting multiple sclerosis*. *Frontiers in Immunology*, 2022. **8**: p. 01-12.
12. Compta, Y., et al., *Combined CSF α -SYN RT-QuIC, CSF NFL, and midbrain-pons planimetry in degenerative parkinsonisms: From bedside to bench, and back again*. *Parkinsonism and Related Disorders*, 2022. **5**: p. 33- 41.
13. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry*. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
14. CLSI. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second edition*. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
15. CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third edition*. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.


20. Použité symboly

	Katalogové číslo
	Datum použitelnosti
	Číslo šarže
	Obsahuje dostatek pro <n> testů
	Pozitivní kontrola
	Nepoužívejte opakovaně
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Přečtěte si návod k použití
	Chraňte před přímým slunečním zářením
	Omezení teploty
	Výrobce
	Země výroby
	Upozornění!
	Nebezpečné



UmanDiagnostics AB
Twistevägen 48C
907 36 Umeå, Švédsko

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

Návod k použití v jiných jazycích je k dispozici ke stažení přímo na webových stránkách společnosti.
 umandiagnosics.com/products/ifu-ce