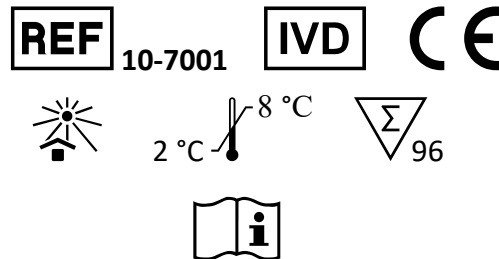




## NF-Light® (Neurofilament light) ELISA für CF-Proben

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay zur Quantifizierung  
von Neurofilament light für CF-Proben

### Gebrauchsanweisung




[umandiagnosics.com/products/ifu-ce](http://umandiagnosics.com/products/ifu-ce)



UmanDiagnostics AB  
Tvistevägen 48C  
907 36 Umeå, Schweden

Tel.: +46(0)90 777 880  
[info@umandiagnosics.com](mailto:info@umandiagnosics.com)  
[www.umandiagnosics.com](http://www.umandiagnosics.com)

Die Gebrauchsanweisung kann in anderen Sprachen direkt von der Website des Unternehmens heruntergeladen werden.  [umandiagnosics.com/products/ifu-ce](http://umandiagnosics.com/products/ifu-ce)

## 1. Revisionshistorie der Gebrauchsanweisung

Änderungen seit der vorherigen Version 2021-11 bis zur derzeitigen Version 2026-03

Alle Kapitel – Aktualisierung

Kapitel 5 – Aktualisierung und Hinzufügung von Daten

Kapitel 7 – Hinzufügung des Kapitels: Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Kapitel 10 – Aktualisierung der Materialliste

Kapitel 12 – Aktualisierung / Hinzufügung von Informationen

Kapitel 15 – Aktualisierung / Hinzufügung von Informationen

Kapitel 16 – Aktualisierung / Hinzufügung von Informationen

Kapitel 17 – Aktualisierung und Hinzufügung von Daten

Kapitel 19 – Aktualisierung des Literaturverzeichnisses

## 2. Verwendungszweck

Bei NF-light® ELISA handelt es sich um ein nicht automatisiertes *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 Krankengeschichte des Patienten verwendet werden, da NF-L ein unspezifischer Biomarker für neuronale Schädigungen ist. Die vorgesehene Testpopulation ist Personen > 18 Jahre, bei denen der Verdacht auf eine neurologische Erkrankung besteht.

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.

## 3. 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.

## 4. Hintergrund

Neurofilamente sind die Hauptbestandteile des Zytoskeletts neuronaler Zellen. Diese sind wichtig für die Erhaltung und Regulierung des neuronalen 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 neuronalen-Proteine ermöglicht wird. Erhöhte NF-L-Konzentrationen sind bei verschiedenen degenerativen Erkrankungen, wie der amyotrophen Lateralsklerose, dem Morbus Alzheimer und der multiplen Sklerose festgestellt worden [2–4].

## 5. Verfahrensbeschreibung

Der UmanDiagnostics NF-light®-ELISA-Assay ist ein enzymatischer Immunoassay zur quantitativen Messung von NF-L im humanen Liquor. Der Test **verwendet zwei** hochspezifische nicht konkurrierende monoklonale Antikörper [5]. Der Fängerantikörper ist auf einer festen Oberfläche beschichtet und bindet sich an NF-L in der Probe. Der sekundäre bzw. Detektionsantikörper ist mit Biotin konjugiert, und die Addition von HRP-konjugiertem Streptavidin ermöglicht quantitative Messungen durch die enzymatische Umwandlung des farblosen Substrates (TMB) in ein farbiges Produkt.-Mithilfe einer Kalibrierkurve können die Absorptionswerte mit den NF-L-Konzentrationen in der Probe korreliert werden.

Quantifizierungsintervall der Kalibrierkurve:	125 pg/ml – 2500 pg/ml
Intervall der Kalibrierkurve:	50 pg/ml – 5000 pg/ml
LoB	16 pg/ml
LoD	25 pg/ml
LoQ	62 pg/ml
Präzision: Intra-Assay CV %	< 3 %
Präzision: Inter-Assay CV %	< 6 %
Inkubationszeit:	2,5 Stunden
Probengröße:	50 µl/Parallelprobe
Probenverdünnung mindestens:	2x

## 6. Wichtige Hinweise

- Das Produkt muss unter strikter Einhaltung dieser Gebrauchsanweisung (IFU) verwendet werden. Halten Sie bewährte Laborpraktiken und Sicherheitsrichtlinien ein. Soweit erforderlich sollten Laborkittel, Einweghandschuhe und eine Schutzbrille getragen werden.
- 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 so lange aufbewahrt werden, bis der Transportschaden endgültig geregelt ist. Ein die Platte betreffender Vakuumverlust wirkt sich nicht negativ auf die Leistungsfähigkeit des Assays aus.
- NF-light® ELISA ist nur zum In-vitro-Gebrauch und nicht zur inneren Anwendung bei Menschen oder Tieren bestimmt.
- Es dürfen keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen gemischt werden.

## 7. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Das Kit enthält keine Substanzen tierischen oder menschlichen Ursprungs, die ein Infektionsrisiko darstellen. Alle zu analysierenden Proben müssen als potenziell infektiös eingestuft werden. Ergreifen Sie daher bei der Handhabung und Entsorgung biologischer Proben geeignete Sicherheitsmaßnahmen. Bei Verschütten sofort mit 0,5 % Natriumhypochlorit oder einem gleichwertigen Produkt desinfizieren.
- Entsorgen Sie sämtliches Material, das mit Proben und Reagenzien in Kontakt gekommen ist, gemäß den Vorschriften des Landes, des Bundeslandes und der örtlichen Behörden.



### Warnhinweis (H290, H315, H319, P280, P305+P351+P338, P337+P313, P390)

- **Stopplösung** kann auf Metalle korrosiv wirken. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizungen. Tragen Sie chemikalienbeständige Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. WENN SIE IN DIE AUGEN GELANGT IST: Vorsichtig mehrere Minuten lang mit Wasser ausspülen. Soweit zutreffend und möglich: Entfernen Sie Kontaktlinsen und fahren Sie mit dem Ausspülen fort. Falls die Augenreizung weiterhin besteht: Lassen Sie sich ärztlich beraten/behandeln. Entfernen Sie Verschüttungen, um Materialschäden zu vermeiden. Das Sicherheitsdatenblatt für dieses Produkt ist auf der Website von UmanDiagnostics verfügbar und kann auf Anfrage auch per E-Mail zugeschickt werden.

## 8. Haltbarkeit und Lagerung von Reagenzien

Bei +2–8 °C lagern und vor Hitze oder direkter Sonneneinstrahlung schützen. Die Komponenten dürfen nicht eingefroren werden. Der rekonstituierte Kalibrator und die Positivkontrolle sollten sofort verwendet werden und können nicht wiederverwendet werden. Nach dem Öffnen sollte das Kit innerhalb von 4 Wochen verwendet werden.

Eine geöffnete Platte sollte zur Vermeidung von übermäßiger Feuchtigkeit mit Klebeband versiegelt und bei +2–8°C gelagert werden. Die Haltbarkeit ist auf dem Etikett auf der Verpackung des Kits angegeben und befindet sich auch auf dem beiliegenden Analysenzertifikat (CoA).

## 9. Entnahme und Lagerung von Proben

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 Probenreaktivität nach den unterschiedlichen Vorbehandlungen wurde mit derselben bei -80 °C gelagerten Probe verglichen.

		Mittel % der -80 °C Kontrolle	MW % Bereich
Ein-/Auftauzyklen	≤ 4 Zyklen	98,0	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

## 10. Materialien

### Im Kit enthaltene Komponenten:

Farbe der Kappe	Kurzname	Vollständiger Name	Beschreibung	Anzahl/Menge
n. z.	Plate	Anti-NF-L-Platte	Mit monoklonalem Anti-NF-L-Maus-Antikörper vorbeschichtet, abgedeckt mit Deckel, im versiegelten Kunststoffbeutel, mit Trockenmittel.	12 x 8 Wannan
Grau	Stop	Stopplösung	⚠ Verdünntes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (8 % v/v).	1 x 6 ml
Schwarz	TMB	TMB-Substrat	Tetramethylbenzidin-Substrat.	1 x 12 ml
Schwarz	ELISA-Dil	ELISA-Verdünnung	Wässrige Pufferlösung mit Detergens.	1 x 40 ml
Rot	ConjDil	Konjugatverdünnung	Wässrige gepufferte biotinfreie Stabilisierungslösung.	1 x 12 ml
Rot	Conj	Konjugatkonzentrat	Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Konjugat in wässriger gepufferter biotinfreier Stabilisierungslösung. Verdünnung gemäß Etikett.	1 x 350 µl
Schwarz	Det	Detektorantikörper	Biotin-markierter monoklonaler Anti-NF-L-Antikörper in wässriger gepufferter biotinfreier Stabilisierungslösung. Verdünnung gemäß Etikett.	1 x 300 µl
Grün	bNFL-Cal	bNF-L-Kalibrator	Rekonstitution gemäß Fläschchenetikett. (Enthält BSE-, MKS-negatives Rindermaterial deutschen Ursprungs).	2 Fläschchen
Weiß	Pos Ctrl	hrNF-L-Positivkontrolle	Rekombinantes humanes NF-L, Rekonstitution gemäß Fläschchenetikett.	2 Fläschchen
Weiß	Wash	Waschpuffer	10 x wässrige Pufferlösung mit Detergens.	2 x 40 ml

### Zusätzlich enthaltene Material:

15-ml-Röhrchen für Konjugatlösung, 2 St.

### Nicht enthaltene, 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 Waschsysteem für Mikrotiterplatten

Pipettenspitzen und Stoppuhr

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

## 11. Analyseverfahren

### Vorbereitungen und wichtige Hinweise:

- Alle Assay-Reagenzien müssen vor der Verwendung auf Raumtemperatur (RT, +18–25 °C) gebracht werden.
- Das Kit kann für zwei verschiedene Analysezwecke eingesetzt werden. Wenn das Kit für zwei Vorgänge eingesetzt werden soll, sollten nicht mehr als 500 µl zusätzliches Volumen an Konjugat- und Detektorantikörper-Arbeitslösungen vorbereitet werden. Die Konjugat- und Detektor-Mikroröhrchen sollten vor der Verwendung zentrifugiert werden, damit bei der zweiten Analyse ausreichend Reagenzvolumen zur Verfügung steht.
- Es wird empfohlen, Proben und Kalibrierungen in doppelter Ausfertigung durchzuführen.
- Das Kit wird mit einer Plattenabdeckung geliefert. Mit dieser sollte die Platte während der Inkubationsschritte abgedeckt werden, um eine Kontamination zu verhindern. Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden.

• Für die Inkubationsschritte den **ELISA-Orbitalplattenschüttler** bei **800 UpM** verwenden. **GANZ WICHTIG ist das Schütteln der Platte bei 800 UpM, um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten.** Die Inkubation bei einer niedrigeren Frequenz führt zu einer verringerten Absorption und unzuverlässigen Ergebnissen.

• Das mitgelieferte 15-ml-Röhrchen von Sarstedt (62.554.502) bei der Zubereitung der Konjugatlösung verwenden. Andere Röhrchen können sich negativ auf die Konjugataktivität auswirken, was zu einem niedrigen Absorptionsniveau führt, wodurch die Messwerte der Proben unzuverlässig werden.

- Stellen Sie sicher, dass sich vor der Messung der Absorption keine Bläschen in den Wannan befinden.

**Vorbereitung des Waschpuffers 1x:**

Verdünnen Sie den Gesamtinhalt einer **Waschflasche** mit entionisiertem Wasser auf ein Volumen von 400 ml. Verdünnter und nicht verwendeter **Waschflascheninhalt** kann bei Raumtemperatur aufbewahrt und sollte innerhalb von zwei Monaten aufgebraucht werden. Die 10-fach konzentrierte **Waschlösung** kann aufgrund des hohen Salzgehalts opalisierend erscheinen (dies hat keine Auswirkung auf die Leistungsfähigkeit des Assays).

**Rekonstitution von Kalibrator und Positivkontrolle:**

Führen Sie unmittelbar vor dem Gebrauch, wie auf dem jeweiligen Etikett angegeben, eine Rekonstitution von **bNFL-Cal** und **Pos Ctrl** mit **ELISA-Dil** durch. Kurz schütteln und bei Raumtemperatur aufbewahren. **Pos Ctrl** darf nicht weiter verdünnt werden. **bNFL-Cal** und **Pos Ctrl** dürfen nicht wiederverwendet werden. Der rekonstituierte **bNFL-Cal** hat eine Konzentration von 5000 pg/ml. Die Konzentration der **Pos Ctrl** ist dem CoA zu entnehmen.

**Vorbereitung von Kalibrator-Verdünnungsserien:**

Jeder analysierten Platte ist eine Kalibrierkurve beizufügen. Die höchsten Kalibratorpunkte (5000 pg/ml) erhält man, indem man den lyophilisierten **bNFL-Cal** mit dem Volumen des auf dem Etikett der Fläschchen angegebenen **ELISA-Dil** rückverdünnt. Sieben Mikroröhrchen beschriften, eines für jeden Kalibratorpunkt (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 eines für den Nullkalibrator, ausgenommen ist 5000 pg/ml, das direkt aus dem Fläschchen entnommen wird. Verdünnen Sie den rekonstituierten Kalibrator gemäß der nachstehenden Tabelle mit **ELISA-Dil**.

Führen Sie eine serielle Verdünnung entsprechend der nachfolgenden Anweisung durch.

Röhrchen Nr.	Konzentration (pg/ml)	Volumen ELISA-Dil	Volumen Kalibrator aus Röhrchen Nr.
<b>bNFL-Cal</b> (Fläschchen)	5000	Rekonstitution mit <b>ELISA-Dil</b> gemäß Etikett der Kalibrator-Fläschchen	
1	2500	300 µl	300 µL (Fläschchen)
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

**Assay –Übersicht:**

Waschen <b>3 x 300 µl</b>			
<b>bNFL-Cal</b> (Direkt aus den Fläschchen und Röhrchen Nr. 1–6)	<b>ELISA-Dil</b> Nullkalibrator (Röhrchen Nr. 7)	<b>Post Ctrl</b> Direkt aus den Fläschchen	Liquor-Proben / Interne Kontrollprobe (1+1 Verdünnung)
<b>Hinzufügung 100 µl</b>	<b>Hinzufügung 100 µl</b>	<b>Hinzufügung 100 µl</b>	<b>Hinzufügung 100 µl</b>
Inkubation 60 Minuten, 800 UpM			
Waschen <b>3 x 300 µl</b>			
<b>Hinzufügung von 100 µl Detektorantikörper 1x</b>			
Inkubation 45 Minuten, 800 UpM			
Waschen <b>3 x 300 µl</b>			
<b>Hinzufügung von 100 µl Konjugat 1 x</b>			
Inkubation 30 Minuten, 800 UpM			
Waschen <b>3 x 300 µl</b>			
<b>Hinzufügung von 100 µl TMB</b>			
Inkubation 15 Minuten, 800 UpM			
<b>Hinzufügung von 50 µl Stopplösung</b>			
Ablesen der Platte bei 450 nm (Referenzwellenlänge 620–650 nm) direkt nach Zugabe der Stopplösung			

**Ausführliches Testprotokoll:**

1. **bNFL-Cal** gemäß der Kalibratorverdünnungstabelle rekonstituiert und verdünnt und rekonstituiertes **Pos Ctrl** sind einsatzbereit (und müssen nicht weiter verdünnt werden).
2. Liquor-Proben mit gleicher Menge (1+1) von **ELISA-Dil** auf ein Mindestvolumen von 210 µl verdünnen.
3. 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. Bei der manuellen Wäsche muss darauf geachtet werden, dass überschüssiger Waschpuffer zwischen den einzelnen Waschvorgängen entfernt wird, indem die Platte gegen saugfähiges Papier gehalten und auf sie geklopft wird. Verbleibender Waschpuffer und/oder unzureichendes Waschen können die Reaktivität des nachfolgenden Reagenzes beeinträchtigen.
4. Pro Wanne 100 µl des Folgenden hinzufügen: Kalibratorpunkte (direkt aus dem Fläschchen oder aus den Röhrchen mit den Nummern 1–6, Nullkalibrator (Röhrchen Nr. 7), Positivkontrolle (Fläschchen) und Proben. In doppelter Ausfertigung hinzufügen.  
→ 1 Stunde bei RT unter Verwendung des Schüttlers (800 UpM) inkubieren.
5. Die Wannen 1x mit **Waschpuffer** waschen (3 x 300 µl), siehe Punkt 3.
6. Direkt vor dem Gebrauch das erforderliche Volumen von **Det 1x** (100 µl/Wanne) durch Verdünnung des **Det-Konzentrats** mit **ELISA-Dil** herstellen. Gründlich mischen durch Wenden des Röhrchens oder Schütteln.  
→ 100 µl des frisch verdünnten **Det** in jede Wanne geben.  
→ 45 Minuten bei RT unter Verwendung des Schüttlers (800 UpM) inkubieren.
7. Die Wannen mit **Waschpuffer** 1x waschen (3 x 300 µl), siehe Punkt 3.
8. Direkt vor dem Gebrauch das erforderliche Volumen von **Conj 1x** (100 µl/Wanne) herstellen, und zwar in dem **mitgelieferten 15-ml-Sarstedt-Röhrchen** durch Verdünnung, wie auf dem Etikett des Fläschchens mit **ConjDil** angegeben, 1x. Gründlich mischen durch Wenden des Röhrchens oder Schütteln.  
→ 100 µl des frisch verdünnten **Conj** in jede Wanne geben.  
→ 30 Minuten bei RT unter Verwendung des Schüttlers (800 UpM) inkubieren.
9. Die Wannen mit Waschpuffer 1x (3 x 300 µl) waschen, siehe Punkt 3.
10. 100 µl TMB in jede Wanne geben.  
→ 15 Minuten bei RT unter Verwendung des Schüttlers (800 UpM) inkubieren.
11. 50 µl **Stop** in jede Wanne geben und die Absorption bei 450 nm (Referenzwellenlänge 620–650 nm) ablesen.



**Die Stopplösung enthält verdünnte Schwefelsäure und ist ätzend.**

**12. 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 Kalibrierkurve ist nachfolgend zu sehen). Sollte keine Immunassay-Software zur Verfügung stehen, wird die NF-L-Konzentration aus dem Durchschnitt der abgebildeten Ergebnisse OD ( $\lambda$  450 minus  $\lambda$  620–650 Referenz) im Verhältnis zur bekannten Kalibratorkonzentration berechnet, z. B. in Excel. *Bitte beachten Sie, dass solch ein Modell im unteren Bereich der Kurve nicht so genau ist wie ein 4-Parameter-Modell.* Erstellen Sie eine logarithmisch-lineare Kalibrierungskurve anhand der Absorption (y-Achse) und der Konzentration (x-Achse). Fügen Sie eine lineare Trendlinie hinzu und berechnen Sie anhand der Trendliniengleichung manuell die Konzentration Ihrer Proben, ausgehend von ihrer jeweiligen Absorption.

Beachten Sie bei allen Berechnungen bitte Folgendes:

- Die Absorption des Nullkalibrators sollte nicht von den Meßdaten subtrahiert werden. Sie sollte lediglich als Indikator der Hintergrundniveaus verwendet werden, die mit den erwarteten Werten auf dem CoA verglichen werden sollten.
- **Die aus der Kurve abgelesenen Probenwerte müssen mit dem Verdünnungsfaktor der Probe multipliziert werden, um die Konzentration in der Originalprobe zu erhalten.**
- Das Quantifizierungsintervall der Kurve liegt zwischen 125 und 2.500 pg/ml. Proben, deren Werte oberhalb dieses Intervalls liegen, sollten entsprechend verdünnt und erneut analysiert werden. Bei Proben unterhalb dieses Intervalls sind die Werte zu niedrig, um mit dieser Methode genau quantifiziert zu werden. Siehe Abschnitt 12 für weitere Details.

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

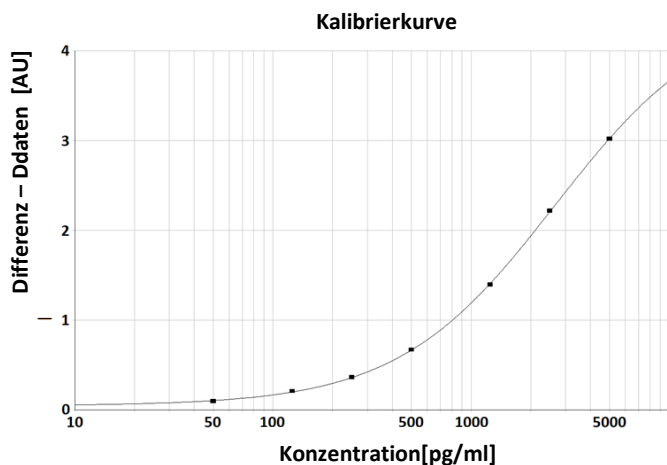
### 13. Qualitätskontrolle

Um die Leistungsfähigkeit des Assays zu gewährleisten, sollten für jede Analyse die folgenden Kriterien erfüllt sein. Beachten Sie, dass sich die Absorptionen auf Differenzwerte beziehen ( $\lambda$  450 minus  $\lambda$  Referenz).

- Die Kurve sollte wie in der folgenden Abbildung dargestellt aussehen.
- Die Konzentration von **Pos Ctrl** sollte innerhalb des im CoA angegebenen Akzeptanzkriteriums liegen (die Konzentration sollte direkt aus der Kalibrierkurve ermittelt werden; multiplizieren Sie sie nicht mit einem Verdünnungsfaktor).
- Die Absorption für 5000 pg/ml sollte > 2,0 AU sein.
- Die Absorption des Nullkalibrators sollte < 0,1 AU sein.

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 mit einer Konzentration im Intervall von 1.000–3.000 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  $-80\text{ °C}$  gelagert werden.

Nachfolgend ist eine typische Kalibrierkurve zum Zeitpunkt der Freisetzung dargestellt, mit Angabe ungefährer Absorptionswerte.



Kalibrierwert (pg/ml)	% des Signals für 5000 pg/ml
5000 (Ankerpunkt)	100
2500	71
1250	44
500	20
250	11
125	5,7
50 (Ankerpunkt)	2,7

### 14. Messintervall

Die Kalibrierkurve deckt das Intervall von 50–5000 pg/ml NF-L ab. Die Kalibratoren mit 5000 pg/ml und 50 pg/ml dienen als Ankerpunkte, und die Quantifizierung sollte innerhalb des Intervalls von 125–2500 pg/ml der Kalibrierkurve unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors (2) 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 Diagnoseverfahren müssen die Ergebnisse dieses Assays zusammen mit anderen klinischen Befunden interpretiert werden.
- Vergleichen Sie die Ergebnisse dieses Assays nicht mit denen, die Sie mit Kits anderer Hersteller erzielt haben.
- Bei atypischen Parkinson-Syndromen sind NF-L-Konzentrationen im Vergleich zur Parkinson-Krankheit deutlich erhöht [6].
- Verschiedene Arten von Demenzerkrankungen sind mit unterschiedlichen NF-L-Konzentrationen verbunden [7].

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 Leistung

Die NF-L-Konzentrationen im Liquor wurden für 35 verschiedene neurologische und psychiatrische Erkrankungen mit dem UmanDiagnostics NF-light® ELISA-Kit analysiert. 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. Die höchsten NF-L-Konzentrationen wurden bei HIV-positiven Personen mit kognitiven Beeinträchtigungen wie ALS, frontotemporaler Demenz und Chorea Huntington [8] festgestellt. Der klinische Nutzen von NF-L bei ALS [9], Demenzerkrankungen [10], MS [11] und Parkinson [12] ist auch in anderen Studien nachgewiesen worden. Die Werte bei gesunden Kontrollen sind abhängig vom Alter und Geschlecht.

Es ist bekannt, dass bei gesunden Kontrollen die NF-L-Konzentrationen im Liquor aufgrund neuronaler Degradation mit zunehmendem Alter ansteigen. Erfahrungen aus der klinischen Routineanalyse seit der frühen Produktentwicklung 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. Leistungsmerkmale

### Rückverfolgbarkeit des Kalibrators

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

Kit-Charge	Abs. 5000 pg/ml (AU)	Konz. QC-Probe 1 (pg/ml)	Konz. QC-Probe 2 (pg/ml)	Konz. QC-Probe 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
<b>Mittelwert:</b>	<b>3,23</b>	<b>2243</b>	<b>1439</b>	<b>2247</b>
<b>SD:</b>	<b>0,04</b>	<b>58</b>	<b>52</b>	<b>49</b>
<b>CV:</b>	<b>1,4 %</b>	<b>2,6 %</b>	<b>3,6 %</b>	<b>2,2 %</b>

### Analytische Spezifität

Die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Störungen und Kreuzreaktivitäten wurden gemäß der Richtlinie EP07 des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [13] ermittelt.

Substanz	Konzentration der Substanz	Substanzbedingte Verzerrung
Biotin	191 ng/ml	3,8 %
Hämoglobin	27 ng/ml	6,4 %
Direktes Bilirubin	3 mg/dl	3,1 %
Indirektes Bilirubin	2 mg/ml	0,1 %
Albumin	0,3 g/dl	4,6 %
Neurofilament medium	50000 pg/ml	-0,7 %
Neurofilament heavy	50000 pg/ml	0,5 %
Tau	2500 pg/ml	0,7 %

**Analytische Sensitivität**

Blindwert-Grenzwert (Limit of Blank, LoB) 16 pg/ml

Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) 25 pg/ml

Quantifizierungsgrenze (Limit of Quantitation, LoQ) 62 pg/ml

LoQ wurde anhand der bei der LoB-Bestimmung ermittelten Blindwert-Ergebnisse ermittelt und als  $\text{Mittelwert}_{\text{blank}} + 10 \times \text{Standardabweichung } SD_{\text{blank}}$  berechnet.

**Präzision**

Intra-Assay-Präzision: 2,8 % (Konzentrationsintervall 239–4223 pg/ml).

Inter-Assay-Präzision: 6,0 % (Konzentrationsintervall 242–4938 pg/ml).

Inter-Chargen-Präzision: 1 bis 5 Proben 19,2 %, (304 pg/ml), 4 bis 5 Proben 4,7 % (730–4753 pg/ml).

Die Intra-Assay-Präzision wurde als durchschnittlicher prozentualer Variationskoeffizient (CV) aus 20 Wiederholungsmessungen an fünf Liquorproben ermittelt.

Die Inter-Assay-Präzision wurde wie in der CLSI-Richtlinie EP05-A3 [15] beschrieben, ermittelt. Die Inter-Assay-Proben wurden in einer  $5 \times 2 \times 2$ -Versuchsordnung mit drei separaten Chargen geprüft. Die Durchschnittsergebnisse sind angegeben.

Die Inter-Chargen-Präzision wurde anhand der bei der Inter-Assay-Bewertung erzielten Ergebnisse bestimmt und als prozentualer Variationskoeffizient (CV) für die jeweiligen Proben berechnet. Die maximal zulässige, genehmigte Inter-Chargen-Präzision beträgt  $CV \leq 20 \%$  für Proben  $< 500 \text{ pg/ml}$  und  $CV \leq 10 \%$  für Proben  $\geq 500 \text{ pg/ml}$ .

**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 und 108 %.

**Genauigkeit:**

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















**18. Garantieerklärung**

Die hier dargestellten Leistungsdaten wurden mittels der angegebenen Assay-Verfahren erzielt. Jegliche Änderung oder Veränderung hinsichtlich der Verfahren, die nicht von UmanDiagnostics AB empfohlen wurden, kann sich auf die Ergebnisse auswirken. In diesem Fall schließt UmanDiagnostics AB jegliche ausdrückliche, stillschweigende oder gesetzliche Gewährleistung, einschließlich der stillschweigenden Gewährleistung der Marktgängigkeit und Gebrauchstauglichkeit, 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 Hybridomics, 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*. NatRev 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.
9. Kläppe, U., et al., *Neurodegenerative biomarkers outperform neuroinflammatory biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis*. Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degenration, 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  $\alpha$ -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. Verwendete Symbole

	Katalognummer
	Verfallsdatum
	Chargennummer
	Enthält eine ausreichende Menge für <n> Tests
	Positivkontrolle
	Nicht wiederverwenden
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vor Sonneneinstrahlung schützen
	Temperaturgrenze
	Hersteller
	Herstellungsland
	Vorsicht!
	Gesundheitsschädlich



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

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

Die Gebrauchsanweisung kann in anderen Sprachen direkt von der Website des Unternehmens heruntergeladen werden.  [umandiagnosics.com/products/ifu-ce](http://umandiagnosics.com/products/ifu-ce)