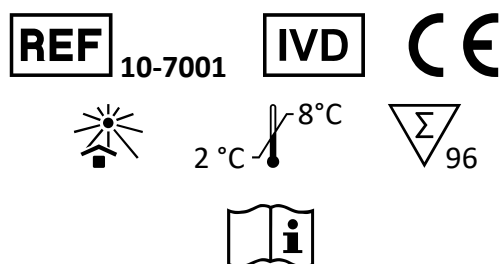




NF-light® (neurofilament à chaîne légère) ELISA pour les échantillons de LCR

Test immuno-enzymatique (ELISA) pour la quantification du neurofilament à chaîne légère dans les échantillons de LCR

Mode d'emploi




umandiagnostics.com/products/ifu-ce



UmanDiagnostics AB
Tvistevägen 48C
907 36 Umeå, Sweden

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

Les modes d'emploi dans d'autres langues peuvent être téléchargés directement sur le site Web de l'entreprise.
 umandiagnostics.com/products/ifu-ce

1. Historique des révisions du mode d'emploi

Modifications apportées entre la version précédente **2021-11** et la version actuelle **2026-03**

Tous les chapitres ont été mis à jour

Chapitre 5 – Données mises à jour et supplémentaires

Chapitre 7 – Chapitre supplémentaire : Avertissements et précautions

Chapitre 10 – Liste du matériel mise à jour

Chapitre 12 – Informations mises à jour et supplémentaires

Chapitre 15 – Informations mises à jour et supplémentaires

Chapitre 16 – Informations mises à jour et supplémentaires

Chapitre 17 – Données mises à jour et supplémentaires

Chapitre 19 – Bibliographie mise à jour

2. Usage prévu

Le test NF-light® ELISA est un dispositif de diagnostic in vitro non automatisé destiné au dosage quantitatif de la protéine humaine NF-L (neurofilament à chaîne légère) dans le liquide céphalorachidien (LCR). Une augmentation du taux de NF-L indique une dégradation des cellules nerveuses et le résultat est utilisé pour **faciliter le diagnostic** de maladies neurologiques telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA), la sclérose en plaques (SEP), les démences et la maladie de Parkinson (MP). Les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte des autres observations cliniques et des antécédents du patient, car la protéine NF-L est un biomarqueur non spécifique des lésions neuronales. La population cible du test est constituée de personnes âgées de plus de 18 ans chez qui une maladie neurologique est suspectée.

Le kit est destiné à un usage professionnel, ce qui signifie qu'il doit être utilisé que par du personnel de laboratoire clinique formé à la technologie ELISA et aux procédures de diagnostic in vitro.

3. Avis à l'utilisateur

En cas d'incident grave relatif à ce dispositif, l'incident doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente locale de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est domicilié. Pour contacter le fabricant, veuillez consulter ses coordonnées à la fin de ce mode d'emploi.

4. Contexte

Les neurofilaments sont les principaux constituants du cytosquelette des cellules neuronales. Ils sont essentiels au maintien du calibre et de l'intégrité morphologique des neurones, qui influent sur la vitesse et la fidélité des transmissions neuronales. Il existe trois types de chaînes de neurofilaments, nommées selon leur taille dont les neurofilaments à chaîne légère, les neurofilaments à chaîne moyenne et les neurofilaments à chaîne lourde. Le neurofilament à chaîne légère constitue le squelette sur lequel s'assemblent les chaînes plus lourdes, formant ainsi la fibre de neurofilaments [1]. Suite à des lésions des cellules nerveuses causées par un traumatisme direct ou par des processus dégénératifs lents, le contenu cellulaire est libéré dans le compartiment environnant, ce qui permet le dosage quantitatif des protéines neuronales. Des taux élevés de NF-L ont été observés dans diverses maladies dégénératives telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA), la maladie d'Alzheimer et la sclérose en plaques [2-4].

5. Description de la méthode


Le test UmanDiagnostics NF-light® ELISA est un dosage immuno-enzymatique conçu pour la mesure quantitative de NF-L dans le liquide céphalorachidien humain. Le test utilise deux anticorps monoclonaux non compétitifs hautement spécifiques [5]. L'anticorps de capture est fixé sur une surface solide et se lie à la NF-L de l'échantillon. L'anticorps secondaire/de détection est conjugué à la biotine et l'ajout de streptavidine conjuguée à la peroxydase de raifort (HRP) permet une mesure quantitative par transformation enzymatique d'un substrat incolore de tétraméthylbenzine (TMB) en un produit coloré. Les valeurs d'absorbance peuvent être corrélées à la quantité de NF-L dans l'échantillon à l'aide d'une courbe d'étalonnage.

Intervalle de quantification de la courbe d'étalonnage :	125 pg/ml-2500 pg/ml
Intervalle de la courbe d'étalonnage :	50 pg/ml-5000 pg/ml
Limite de blanc LoB	16 pg/ml
Limite de détection (LoD)	25 pg/ml
Limite de quantification (LoQ)	62 pg/ml
Précision : intra-essai CV %	< 3 %
Précision : intra-essai CV %	< 6 %
Temps d'incubation :	2 heures et 30 minutes
Taille de l'échantillon	50 µl/réplicat
Dilution minimale de l'échantillon :	2x

6. Informations importantes!

- Le produit doit être utilisé en respectant strictement le présent mode d'emploi. Respectez les bonnes pratiques de laboratoire et les consignes de sécurité. Portez une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection si nécessaire.
- En cas de dommages importants à l'emballage du kit, veuillez contacter votre fournisseur par écrit au plus tard une semaine après réception du kit. N'utilisez pas les composants endommagés. Veuillez conserver les composants endommagés pour d'éventuelles réclamations. La perte de vide dans la plaque n'a aucun effet négatif sur les performances du test.
- Le test NF-light® ELISA est uniquement destiné au diagnostic in vitro et non à un usage interne chez l'homme ou l'animal.
- Ne mélangez pas les réactifs de lots différents.

7. Avertissements et précautions

- Ce kit ne contient aucune substance d'origine animale ou humaine présentant un risque d'infection.
- Tous les échantillons à analyser doivent être considérés comme potentiellement contagieux. Par conséquent, prenez les mesures de sécurité appropriées lors de la manipulation et de l'élimination des échantillons biologiques. En cas de déversement, désinfectez immédiatement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 % ou équivalent.
- Éliminez tout le matériel ayant été en contact avec les échantillons et les réactifs conformément aux réglementations nationales, régionales et locales.
-  **Avertissement (H290, H315, H319, P280, P305+P351+P338, P337+P313, P390)**
La solution d'arrêt peut être corrosive pour les métaux. Provoque une irritation cutanée. Provoque une grave irritation des yeux. Portez des gants de protection résistants aux produits chimiques et des lunettes de protection. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincez avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Si la personne porte des lentilles de contact et si cela est possible, retirez les lentilles de contact et continuez à rincer. Si l'irritation oculaire persiste : consultez un médecin. Absorbent le produit répandu pour éviter tout dommage matériel. La fiche de données de sécurité de ce produit est disponible sur le site Web d'UmanDiagnostics et peut également être envoyée par courriel sur demande.

8. Durée de conservation et stockage des réactifs

Conservez le kit entre +2 et +8 °C, à l'abri de la chaleur et de la lumière directe du soleil. Ne congélez pas les composants.

L'étalon reconstitué et le contrôle positif doivent être utilisés immédiatement et ne peuvent être réutilisés.

Une fois ouvert, le kit doit être utilisé dans les 4 semaines.

Une plaque ouverte doit être scellée hermétiquement avec du ruban adhésif pour éviter l'excès d'humidité et conservée entre +2 et +8 °C.

La durée de conservation du kit est indiquée sur l'étiquette de la boîte du kit et sur le certificat d'analyse (CoA) fourni.


9. Prélèvement et stockage des échantillons

Après la ponction lombaire, les échantillons doivent être conservés à -80 °C dans des tubes en polypropylène. Les cycles de congélation-décongélation répétés doivent être évités. La stabilité des échantillons a été évaluée pour 5 échantillons cliniques différents. La réactivité des échantillons soumis à différents traitements a été comparée à celle du même échantillon conservé à -80 °C.

		% moyen de contrôle à -80 °C	Intervalle moyen (%)
Gel/Dégel	≤ 4 cycles	98,0	96-101
Stockage	+ 5 – 8 °C ≤ 1 semaine	99,7	95-108
	24 h à température ambiante (+ 22 °C)	100	91-106
	- 20 °C 1 mois	95,8	89-109

10. Matériel

Composants du kit fournis :

Couleur du bouchon	Nom abrégé	Nom complet	Description	Quantité
N/A	Plate	Plaque anti-NF-L	Pré-enduite d'anticorps monoclonal anti-NF-L de souris, recouverte d'un couvercle et scellée dans un sachet en plastique avec dessiccant.	12 x 8 puits
Gris	Stop	Solution d'arrêt	 H ₂ SO ₄ dilué (8 % v/v).	1 x 6 ml
Noir	TMB	Substrat TMB	Substrat de tétraméthylbenzidine.	1 x 12 ml
Noir	ELISA-Dil	Diluant ELISA	Solution aqueuse tamponnée avec détergent	1 x 40 ml
Rouge	ConjDil	Diluant de conjugué	Solution stabilisante aqueuse tamponnée sans biotine.	1 x 12 ml
Rouge	Conj	Conjugué	Conjugué streptavidine-peroxydase de raifort dans une solution aqueuse stabilisante aqueuse tamponnée sans biotine. Diluer selon les instructions.	1 x 350 µl
Noir	Det	Détecteur Ab	Anticorps monoclonal anti-NF-L marqué à la biotine dans une solution aqueuse stabilisante tamponnée sans biotine. Diluer selon les instructions sur l'étiquette.	1 x 300 µl
Vert	bNFL-Cal	Étalon NF-L bovine	Reconstituer selon les instructions sur l'étiquette du flacon (contient du matériel bovin d'origine allemande, négative à l'encéphalopathie spongiforme bovine et à la fièvre aphteuse).	2 flacons
Blanc	Pos Ctrl	Contrôle positif hrNF-L	NF-L humain recombinant, à reconstituer selon les instructions sur l'étiquette du flacon.	2 flacons
Blanc	Wash	Tampon de lavage	10x solution aqueuse tamponnée avec détergent.	2 x 40 ml

Matériel supplémentaire fourni :

Tubes de 15 ml pour la dilution du conjugué (2 pièces)

Équipement nécessaire mais non-fourni : :

Lecteur de plaques de microtitration capable de lire l'absorbance à 450 nm (longueur d'onde de référence 620-650 nm)

Micropipettes 10-1000 µl

Agitateur Vortex

Agitateur de table orbital ELISA (**800 tr/min**)

Eau déionisée

Bouteille de lavage pour système de lavage automatique ou semi-automatique de plaque de microtitration

Embouts de pipettes et chronomètre

Tubes en polystyrène ou polypropylène pour la dilution des étalons et des échantillons

11. Procédure de dosage

Préparation et remarques importantes :

- Tous les réactifs de dosage doivent être amenés à température ambiante (TA, +18-25 °C) avant utilisation.
- Le kit a été conçu pour être utilisé à deux occasions d'analyses distinctes. Si le kit est destiné à être utilisé à deux reprises, il ne faut pas préparer plus de 500 µl de volume supplémentaire de solutions de travail de conjugué et d'anticorps détecteur. Les microtubes de conjugué et de détecteur doivent être centrifugés avant utilisation, afin d'obtenir des volumes de réactifs suffisants à la deuxième analyse.
- Il est conseillé d'analyser les échantillons et les étalons en double exemplaire. En cas d'écarts importants entre les réplicats, veuillez refaire l'analyse.
- Un couvercle de plaque est fourni avec le kit. Utilisez-le pour recouvrir la plaque pendant les étapes d'incubation afin de la protéger de toute contamination. Toutes les étapes d'incubation doivent être réalisées à température ambiante.

• Pendant les étapes d'incubation, utilisez un **agitateur de table orbital ELISA à 800 tr/min**. L'agitation de la plaque à **800 tr/min est d'une IMPORTANCE CAPITAL pour obtenir des résultats fiables**. Une incubation à une fréquence inférieure entraînera une diminution des absorbances et des résultats peu fiables.

• Utilisez le tube Sarstedt de 15 ml fourni (62.554.502) pour préparer la solution de conjugué. L'utilisation d'autres tubes pourrait nuire à l'activité du conjugué, entraînant une baisse du niveau de l'absorbance globale et des lectures d'échantillons peu fiables. Notez toutefois que des réservoirs de réactifs peuvent être utilisés pour faciliter le pipetage à toutes les étapes.

- Assurez-vous qu'il n'y a pas de bulles dans les puits avant de mesurer l'absorbance.

Préparation du tampon de lavage 1x :

Diluer le contenu total d'un flacon de tampon de lavage (**Wash**) avec de l'eau déionisée jusqu'à un volume final de 400 ml. Le tampon de lavage (**Wash**) dilué et non utilisé peut être conservé à température ambiante et doit être utilisé dans les deux mois. Le tampon de lavage (**Wash 10x**) peut présenter un aspect opalescent en raison de sa forte concentration en sel (ce qui n'a aucun effet sur les performances du dosage).

Reconstitution de l'étalon et du contrôle positif :

Juste avant utilisation, reconstituez l'étalon NF-L bovine (**bNFL-Cal**) et le contrôle positif (**Ctrl Pos**) conformément aux instructions figurant sur l'étiquette de chaque flacon respectif, avec le diluant ELISA (**ELISA-Dil**). Agiter brièvement au vortex et conservez à température ambiante. Le **Ctrl Pos** ne doit pas être dilué davantage. L'étalon **bNFL-Cal** et le **Ctrl Pos** ne sont pas réutilisables. Le **bNFL-Cal** reconstitué a une concentration de 5 000 pg/ml. La concentration du **Ctrl Pos** est indiquée sur le certificat d'analyse (CoA).

Préparation de la série de dilutions de la solution étalon :

Une courbe d'étalonnage doit être incluse pour chaque plaque analysée. Le point d'étalonnage le plus élevé (5 000 pg/ml) est obtenu en reconstituant un flacon d'étalon **bNFL-Cal** lyophilisé avec le volume de diluant **ELISA-Dil** indiqué sur l'étiquette du flacon. Étiquetez sept microtubes, un pour chaque point de l'étalon (soit 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml et 50 pg/ml), et un pour l'étalon zéro, en excluant la solution à 5000 pg/ml qui est utilisée directement à partir du flacon. Diluez la solution étalon reconstituée à l'aide du diluant **ELISA-Dil** selon le tableau ci-dessous

Effectuez une dilution en série comme décrit ci-dessous. .

N° du tube	Concentration pg/ml	Volume ELISA-Dil	Volume de la solution étalon du tube n°
bNFL-Cal (Vial)	5000	Reconstituer avec le diluant ELISA-Dil selon les instructions sur l'étiquette du flacon d'étalon	
1	2500	300 µl	300 µl (flacon)
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

Aperçu du test :

Lavage 3 x 300 µl			
bNFL-Cal (Directement du flacon et des tubes n° 1 à 6) Ajout de 100 µl	ELISA-Dil Étalon zéro (tube n° 7) Ajout de 100 µl	Contrôle positif (Pos Ctrl) Directement du flacon Ajout de 100 µl	Échantillons de LCR /Échantillon de contrôle interne (dilution 1+1) Ajout de 100 µl
Incubation de 1 heure, 800 tr/min			
Lavage 3 x 300 µl			
Ajout de 100 µl d'anticorps détecteur 1x			
Incubation de 45 minutes, 800 tr/min			
Lavage 3 x 300 µl			
Ajout de 100 µl de conjugué 1x			
Incubation de 30 minutes, 800 tr/min			
Lavage 3 x 300 µl			
Ajout de 100 µl de TMB			
Incubation de 15 minutes, 800 tr/min			
Ajout de 50 µl de solution d'arrêt			
Lecture de la plaque à 450 nm (longueur d'onde de référence 620-650 nm) immédiatement après l'ajout de la solution d'arrêt			

Protocole détaillé du test :

1. Les étalons **bNFL-Cal**, reconstitués et dilués selon le tableau de dilution des étalons, ainsi que le contrôle positif (**Pos Ctrl**) reconstitué, sont prêts à l'emploi (c.-à-d., aucune dilution supplémentaire n'est nécessaire).
2. Diluer les échantillons de LCR avec un volume égal (1+1) de diluant **ELISA-Dil** jusqu'à un volume minimum total de 210 µl.
3. Laver les puits à utiliser avec le tampon de lavage **Wash 1x** (3 x 300 µl). Le lavage peut être effectué à l'aide d'un laveur automatisé ou par pipetage manuel. En cas de lavage manuel, veiller à éliminer l'excès de tampon de lavage entre chaque lavage en tapotant la plaque sur du papier absorbant. La présence de tampon de lavage résiduel et/ou un lavage insuffisant pourraient affecter la réactivité du réactif suivant.
4. Ajouter 100 µl par puits des solutions suivantes : points d'étalonnage (directement à partir du flacon et des tubes n° 1 à 6), étalon zéro (tube n° 7), contrôle positif (flacon) et échantillons. Ajouter en double.
→ Incuber 1 heure à température ambiante sous agitation (800 tr/min).
5. Laver les puits avec le tampon de lavage **Wash 1x** (3 x 300 µl), voir point 3.
6. Juste avant utilisation, préparer le volume requis (100 µl/puits) de détecteur Ab **Det 1x** en diluant le détecteur Ab **Det** concentré avec le diluant **ELISA-Dil**. Bien mélanger en retournant le tube ou en utilisant un vortex.
→ Ajouter 100 µl de détecteur Ab **Det** fraîchement dilué dans chaque puits.
→ Incuber 45 minutes à température ambiante avec agitation (800 tr/min).
7. Laver les puits avec le tampon de lavage **Wash 1x** (3 x 300 µl), voir le point 3.
8. Juste avant utilisation, préparer le volume requis (100 µl/puits) de conjugué **Conj 1x** dans le **tube Sarstedt de 15 ml fourni**, en diluant avec le diluant de conjugué **ConjDil** selon les instructions sur l'étiquette du flacon jusqu'à une concentration de 1x. Bien mélanger en retournant le tube ou en utilisant un vortex.
→ Ajouter 100 µl de conjugué **Conj** fraîchement dilué dans chaque puits.
→ Incuber 30 minutes à température ambiante sous agitation (800 tr/min).
9. Laver les puits avec le tampon de lavage **Wash 1x** (3 x 300 µl), voir le point 3.
10. Ajouter 100 µl de **TMB** dans chaque puits.
→ Incuber 15 minutes à température ambiante avec agitation (800 tr/min).
11. Ajouter 50 µl de solution d'arrêt (**STOP**) dans chaque puits et mesurer l'absorbance à 450 nm (longueur d'onde de référence de 620-650 nm).



La solution d'arrêt contient une solution diluée d'acide sulfurique et est corrosive. .

12. Calcul des résultats

Les résultats peuvent être calculés automatiquement à l'aide d'un logiciel d'immunodosage. **Un algorithme à 4 paramètres pondéré par $1/y^2$ offre le meilleur ajustement de la courbe** (voir une courbe d'étalonnage typique ci-dessous). Si aucun logiciel d'immunodosage de ce type n'est disponible, la concentration de NF-L est calculée du tracé de la DO moyenne à ($\lambda 450$ moins $\lambda 620$ - référence 650) en fonction des concentrations connues des étalons, par exemple dans Excel. *Veillez noter que ce modèle ne sera aussi précis dans la partie inférieure de la courbe qu'un modèle à 4 paramètres.* Tracez une courbe d'étalonnage linéaire-logarithmique à partir de l'absorbance (axe des y) et de la concentration (axe des x). Ajoutez une courbe de tendance linéaire et utilisez l'équation de la courbe de tendance pour calculer manuellement la concentration de vos échantillons à partir de leurs absorbances respectives.

Pour tous les calculs, veuillez noter les points suivants :

- L'absorbance de l'étalon zéro ne doit pas être soustraite des données de mesure. Elle doit être utilisée uniquement comme indicateur du bruit de fond, qui doit être comparé aux valeurs attendues sur le certificat d'analyse (CoA).
- **Les valeurs de l'échantillon obtenues à partir de la courbe d'étalonnage doivent être multipliées par le facteur de dilution de l'échantillon afin d'obtenir la concentration dans l'échantillon d'origine.**
- L'intervalle de quantification de la courbe est compris entre 125 et 2 500 pg/ml. Les échantillons dont la concentration est supérieure à cet intervalle doivent être dilués en conséquence et réanalysés. Les échantillons dont la concentration est inférieure à cet intervalle sont trop faibles pour être quantifiés avec précision par cette méthode. Voir la section 12 pour plus de détails.

La concentration obtenue à partir de la courbe d'étalonnage doit être multipliée par 2 pour obtenir la concentration dans l'échantillon (en raison de la dilution 1+1 avant l'analyse).

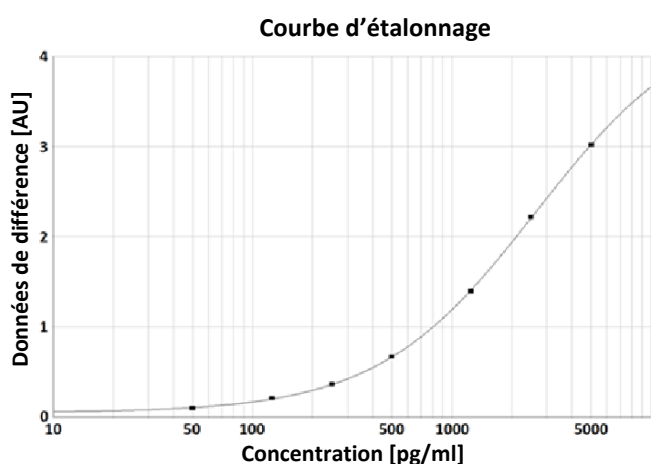
13. Contrôle de la qualité

Afin de vérifier les performances du dosage, les critères suivants doivent être respectés pour chaque analyse. Notez que les absorbances correspondent aux données de différence (λ 450 moins λ référence).

- La courbe doit présenter l'aspect illustré dans la figure ci-dessous.
- Le contrôle positif (**Pos Ctrl**) doit avoir une concentration conforme aux critères d'acceptation indiqués sur le certificat d'analyse (CoA) (la concentration doit être déterminée directement à partir de la courbe d'étalonnage, sans multiplication par un facteur de dilution).
- L'absorbance à 5 000 pg/ml doit être supérieure à 2,0 UA.
- L'absorbance de l'étalon zéro doit être inférieure à 0,1 UA.

Des échantillons de contrôle interne provenant de témoins en bonne santé et/ou des échantillons contenant des concentrations élevées provenant de patients doivent être établis si le kit est utilisé dans le cadre d'analyses cliniques de routine. Il est recommandé d'établir au moins un échantillon de contrôle dans l'intervalle de concentration de 1 000 à 3 000 pg/ml. Les échantillons de contrôle peuvent être préparés en regroupant des échantillons de liquide céphalorachidien et en analysant ce mélange à plusieurs reprises afin d'établir les niveaux de concentration et les critères d'acceptation. Le mélange doit être aliquoté et conservé à -80 °C.

Le graphique ci-dessous montre une courbe d'étalonnage typique au moment de la libération, accompagnée des valeurs d'absorbance approximatives.



Niveau d'échantillonnage (pg/ml)	% du signal pour 5000 pg/ml
5000 (point d'ancrage)	100
2500	71
1250	44
500	20
250	11
125	5,7
50 (point d'ancrage)	2,7

14. Intervalle de mesure

La courbe d'étalonnage couvre l'intervalle de 50 à 5000 pg/ml de NF-L. Les étalons à 5000 pg/ml et 50 pg/ml servent de points d'ancrage. La quantification doit être effectuée dans l'intervalle 125 à 2500 pg/ml sur la courbe d'étalonnage, ce qui, en tenant compte du facteur de dilution (2) de l'échantillon correspond à une concentration de NF-L de 250 à 5000 pg/ml dans l'échantillon original. L'extrapolation de mesures au-delà de la courbe d'étalonnage n'est pas autorisée et implique que les échantillons se situant en dehors de cette courbe doivent être dilués à nouveau et remesurés.

15. Limitations d'utilisation

Pour les échantillons cliniques, les critères suivants doivent être pris en considération :

- En cas de procédure diagnostique, les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte des autres données cliniques.
- Ne comparez pas les résultats de ce test avec ceux obtenus à l'aide de kits d'autres fabricants.
- Les taux de NF-L sont nettement plus élevés dans la maladie de Parkinson (MP) atypique que dans la maladie de Parkinson classique [6].
- Différents types de démence sont associés à différents taux de NF-L [7].

Une interférence potentielle d'anticorps hétérophiles pourrait entraîner des résultats erronés. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou des procédures de diagnostic utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps anti-animaux humains, par exemple des HAMA) susceptibles d'interférer avec ce dosage immunologique. Un traitement par la biotine constitue une autre source d'interférence potentielle. Il convient d'évaluer attentivement les résultats si vous soupçonnez que les échantillons présentent ce type d'interférences.

16. Performances cliniques

Les taux de NF-L dans le LCR ont été analysés pour 35 troubles neurologiques et psychiatriques différentes à l'aide du kit NF-light® ELISA d'UmanDiagnostics. Cette méta-analyse était basée sur 47 ensembles de données et comprenait des données provenant de 10 059 personnes. Les résultats ont montré que les taux de NF-L étaient élevés par rapport aux témoins en bonne santé pour la plupart des pathologies. Les taux les plus élevés de NF-L ont été observés chez les personnes séropositives pour le VIH présentant des troubles cognitifs, la SLA, la démence fronto-temporale et la maladie de Huntington [8]. D'autres études ont démontré l'utilité clinique du NF-L pour le diagnostic de la SLA [9], des démences [10], de la SEP [11] et la MP [12].

Les taux chez les témoins en bonne santé dépendent de l'âge et du sexe. Chez les témoins en bonne santé, les taux de NF-L dans le LCR augmentent avec l'âge en raison de la dégradation neuronale. L'expérience acquise lors des analyses cliniques de routine depuis les premières phases de développement du produit a permis de définir les seuils suivants :

Âge		Valeur de référence
Adultes	< 30 ans	< 380 pg/ml
	30 – < 40 ans	< 560 pg/ml
	40 – < 60 ans	< 890 pg/ml
	≥ 60 ans	< 1850 pg/ml

Les résultats du test ne sont valides que si le test a été réalisé conformément au mode d'emploi et doivent être corrélés à d'autres observations cliniques et tests diagnostiques. L'utilisateur doit respecter strictement les règles de BPL (Bonnes pratiques de laboratoire) et les autres normes/lois applicables.

17. Caractéristiques de performance

Traçabilité de l'étalon

Le test est étalonné à l'aide d'échantillons de contrôle de qualité internes constitués de liquide céphalorachidien provenant de patients (échantillons groupés). Aucune méthode de référence ni aucun matériau de référence standard n'est disponible dans le commerce. Le tableau ci-dessous indique les variations typiques de l'absorbance et des échantillons de contrôle de qualité d'un lot à l'autre.

Lot du Kit	Abs 5000 pg/ml (UA)	Conc. échantillon CQ 1 (pg/ml)	Conc. échantillon CQ 2 (pg/ml)	Conc. échantillon CQ 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
Moyenne :	3,23	2243	1439	2247
Écart-type :	0,04	58	52	49
CV :	1,4%	2,6 %	3,6 %	2,2 %

Spécificité analytique

Les interférences et les réactions croisées présentées dans le tableau ci-dessous ont été déterminées conformément à la directive EP07 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [13].

Substance	Concentration de la substance	Bias dû à la substance
Biotine	191 ng/ml	3,8 %
Hémoglobine	27 ng/ml	6,4 %
Bilirubine directe	3 mg/dl	3,1 %
Bilirubine indirecte	2 mg/ml	0,1 %
Albumine	0.3 g/dl	4,6 %
Neurofilament à chaînes moyennes	50000 pg/ml	-0,7 %
Neurofilament à chaînes lourdes	50000 pg/ml	0,5 %
Tau	2500 pg/ml	0,7 %

Sensibilité analytique

Limite du blanc (LoB) : 16 pg/ml.

Limite de détection (LoD) : 25 pg/ml.

Limite de quantification (LoQ) : 62 pg/ml.

La LoB et la LoD ont été déterminées conformément à la directive EP17-A2 de CLSI [14]. La LoQ a été déterminée à partir des résultats du blanc obtenus lors de l'évaluation de la LoB et calculée comme la moyenne_{blanc} + 10 × écart-type_{blanc}.

Précision

Précision intra-essai : 2,8 % (intervalle de concentration de 239-4223 pg/ml).

Précision inter-essai : 6,0 % (intervalle de concentration de 242-4938 pg/ml).

Précision inter-lots : 1 échantillon sur 5 : 19,2 % (304 pg/ml), 4 échantillons sur 5 : 4,7 % (730-4753 pg/ml).

La précision intra-essai a été déterminée comme le % CV moyen à partir de 20 mesures répétées de cinq échantillons de LCR.

La précision inter-essai a été déterminée conformément à la directive EP05-A3 du CLSI [15]. Les échantillons inter-essais ont été analysés selon un plan d'essai 5 × 2 × 2 avec trois lots distincts. La moyenne des résultats est présentée.

La précision inter-lots a été déterminée à partir des résultats obtenus lors de l'évaluation inter-essais et calculée comme le % CV pour les échantillons respectifs. La précision inter-lots maximale autorisée est de CV ≤ 20 % pour les échantillons < 500 pg/ml et de CV ≤ 10 % pour les échantillons ≥ 500 pg/ml.

Linéarité de la dilution

La linéarité de la dilution est observée dans l'intervalle de concentration de 53 à 21 000 pg/ml.

Parallélisme

La dilution des échantillons de LCR suit la même tendance que la dilution des échantillons enrichis. La dilution n'affecte pas la détermination de la concentration de NF-L endogène dans l'intervalle de concentration étudié (171 à 6 900 pg/ml).

Récupération

Le taux de récupération dans l'intervalle de concentration de NF-L étudié (1 700 à 6 800 pg/ml) se situe entre 88 et 108 %.

Précision

Il n'a pas été possible de comparer les résultats de ce test avec ceux d'autres méthodes, car aucun kit marqué CE pour le LCR ni aucun matériau de référence standard pour NF-L n'est disponible.















18. Garantie

Les données de performance présentées ici ont été obtenues en suivant la procédure de dosage décrite. Tout changement ou toute modification de la procédure non recommandée par UmanDiagnostics AB peut affecter les résultats. Dans ce cas, UmanDiagnostics AB décline toute garantie, expresse, implicite ou légale, y compris la garantie implicite de qualité marchande et d'adéquation à un usage particulier. UmanDiagnostics AB et ses distributeurs agréés ne pourront dans un tel cas être tenus responsables des dommages, directs, indirects ou consécutifs.

19. Bibliographie

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. Symboles utilisés

	Numéro de catalogue
	Date limite d'utilisation
	Numéro de lot
	Contient une quantité suffisante pour <n> tests
	Contrôle positif
	Ne pas réutiliser
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Consulter le mode d'emploi
	Conserver à l'abri de la lumière du soleil
	Limite de température
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Attention!
	Nocif



UmanDiagnostics AB
Tvistevägen 48C
907 36 Umeå, Sweden

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

Les modes d'emploi dans d'autres langues peuvent être téléchargés directement sur le site Web de l'entreprise.
 umandiagnosics.com/products/ifu-ce