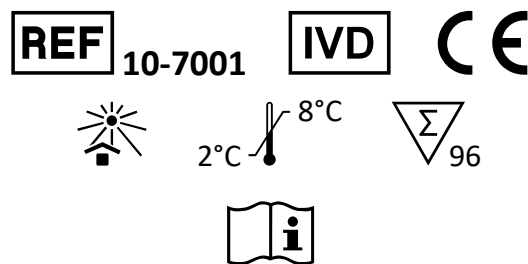




ELISA NF-light® (Neurofilamento leve) para amostras de LCR

Ensaio de imunoabsorção enzimática para quantificação de
Neurofilamento leve em amostras de LCR

Instruções de Utilização




umandiagnosics.com/products/ifu-ce



UmanDiagnostics AB
Tvistevägen 48C
907 36 Umeå, Sweden

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

Estão disponíveis instruções de utilização noutros idiomas, para transferência direta, no portal da empresa.

 umandiagnosics.com/products/ifu-ce

1. Histórico de revisões das instruções de utilização

Alterações da versão anterior **2021-11** para a versão atual **2026-03**

Todos os capítulos – Atualizados

Capítulo 5 – Atualizado e com dados adicionais

Capítulo 7 – Capítulo adicional: Advertências e precauções

Capítulo 10 – Lista de materiais atualizada

Capítulo 12 – Informações atualizadas / adicionais

Capítulo 15 – Informações atualizadas / adicionais

Capítulo 16 – Informações atualizadas / adicionais

Capítulo 17 – Dados atualizados e adicionais

Capítulo 19 – Bibliografia atualizada

2. Finalidade prevista

ELISA NF-light® é um dispositivo de diagnóstico *in vitro* não automatizado para efetuar determinações quantitativas da proteína humana Neurofilamento leve (NF-L) no líquido cefalorraquidiano (LCR). Níveis aumentados de NF-L indicam degradação das células nervosas e os resultados são usados **como auxiliares no diagnóstico** de doenças neurológicas tais como a esclerose lateral amiotrófica (ELA), a esclerose múltipla (EM), demências e doença de Parkinson (DP). Os resultados deste ensaio devem ser usados em conjunto com outras observações clínicas e a história do doente uma vez que o NF-L é um marcador inespecífico de lesões neuronais. A população a que se destina o ensaio consiste em indivíduos com mais de 18 anos de idade com suspeita de sofrerem de doença neurológica.

Este kit destina-se a utilização profissional, ou seja, deve ser utilizado por profissionais em laboratórios clínicos com formação em tecnologia de ELISA e em procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

3. Aviso ao utilizador

Se ocorrer um incidente grave com este dispositivo, este deve ser notificado ao fabricante e à autoridade competente local adequada do estado membro em que o utilizador e/ou o doente estiver estabelecido. Para notificar o fabricante, veja os dados de contacto no fim destas instruções.

4. Contexto

Os neurofilamentos são os principais constituintes do citoesqueleto nas células neuronais. São importantes na manutenção do calibre e da integridade morfológica dos neurónios, que afetam a velocidade e fidelidade nas transmissões neuronais. Existem três cadeias de neurofilamentos diferentes, denominadas de acordo com o seu tamanho. Estas são o Neurofilamento leve, médio e pesado, respetivamente. O Neurofilamento leve constitui a estrutura onde se co-agregam as cadeias mais pesadas, formando-se assim a fibra de neurofilamento [1]. Em resultado de lesões nas células nervosas devido a trauma direto ou processos degenerativos lentos, o conteúdo das células é libertado para o compartimento circundante, permitindo assim determinações quantitativas das proteínas neuronais. Foram observados níveis aumentados de NF-L em várias doenças degenerativas como a Esclerose lateral amiotrófica, doença de Alzheimer e Esclerose múltipla [2–4].

5. Descrição do método


O ensaio ELISA NF-light® da UmanDiagnostics é um imunoensaio enzimático concebido para medições quantitativas de NF-L no líquido cefalorraquidiano humano. O ensaio utiliza dois anticorpos monoclonais altamente específicos que não competem entre si [5]. O anticorpo de captura reveste uma superfície sólida e liga-se ao NF-L da amostra. O anticorpo secundário/de deteção é conjugado com biotina e a adição de estreptavidina conjugada com HRP permite medições quantitativas por meio da conversão enzimática de um substrato incolor (TMB) num produto corado. Os valores de absorvância podem correlacionar-se com a quantidade de NF-L na amostra usando uma curva de calibração.

Intervalo da quantificação da curva de calibração:	125 pg/ml – 2500 pg/ml
Intervalo da curva de calibração:	50 pg/ml – 5000 pg/ml
LoB	16 pg/ml
LoD	25 pg/ml
LoQ	62 pg/ml
Precisão: % CV intra-ensaios	< 3%
Precisão: % CV entre-ensaios	< 6%
Tempo de incubação:	2 horas e 30 minutos
Tamanho da amostra:	50 µl/réplica
Diluição mínima da amostra:	2x

6. Informações importantes!

- O produto deve ser rigorosamente utilizado de acordo com estas instruções de utilização (IDU). Siga as boas práticas de laboratório e as diretrizes de segurança. Use batas de laboratório, luvas descartáveis e óculos de proteção quando necessário.
- Caso a embalagem do kit esteja seriamente danificada, contacte o seu fornecedor por escrito no prazo máximo de uma semana após receber o kit. Não utilize os componentes danificados. Mantenha os componentes danificados armazenados para resolver qualquer questão relacionada com reclamações. A perda de vácuo na placa não tem qualquer efeito negativo no desempenho do ensaio.
- O ensaio ELISA NF-light® destina-se apenas à utilização no diagnóstico *in vitro* e não para uso interno em seres humanos ou animais.
Não misture reagentes de lotes diferentes.

7. Advertências e precauções

- Não existem substâncias no kit, de origem animal ou humana, que apresentem um risco de infeção.
- Todas as amostras a analisar devem ser consideradas como sendo potencialmente infecciosas. Por conseguinte, tome as medidas de segurança adequadas ao manusear e eliminar amostras biológicas. Em caso de derramamento, desinfete imediatamente com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% ou equivalente.
- Elimine todos os materiais que contactaram com as amostras e os reagentes, de acordo com os regulamentos nacionais, estatais e locais.
-  **(Aviso H290, H315, H319, P280, P305+P351+P338, P337+P313, P390)**
A **Solução Stop** pode ser corrosiva para os metais. Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de proteção resistentes a produtos químicos e proteção ocular. **SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS:** Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico. Absorver o produto derramado a fim de evitar danos materiais. A Ficha de Dados de Segurança do Material para este produto está disponível no portal da UmanDiagnostics e pode ainda ser enviada por e-mail mediante pedido.

8. Prazo de validade e armazenamento dos reagentes

Armazene o kit a +(2-8) °C e mantenha-o afastado de fontes de calor ou da luz solar direta. Não congele os componentes. A Solução de Calibração reconstituída e o Controlo Positivo devem ser usados imediatamente e não podem ser reutilizados. Uma vez aberto, o kit deve ser usado no prazo máximo de 4 semanas. A placa aberta deve ser selada com fita de modo a evitar humidade excessiva e armazenada a +(2-8) °C. O prazo de validade do kit está impresso no rótulo da embalagem do kit e também pode ser encontrado no certificado de análise (CoA) incluído.


9. Recolha e armazenamento de amostras

Após a punção lombar, as amostras devem ser mantidas a - 80 °C em tubos de polipropileno. Deve evitar-se o congelamento-descongelamento repetido. A estabilidade da amostra foi avaliada para 5 amostras clínicas diferentes. A reatividade da amostra após diferentes tratamentos foi comparada à da mesma amostra armazenada a - 80 °C.

		% média de controlo a - 80°C	Intervalo de % média
Congelamento-descongelamento	≤ 4 ciclos	98,0	96–101
Armazenamento	+ (5–8) °C ≤ 1 semana	99,7	95–108
	24 h à TA (+ 22 °C)	100	91–106
	- 20 °C 1 mês	95,8	89–109

10. Materiais

Componentes do kit fornecidos:

Cor da tampa	Nome abreviado	Nome completo	Descrição	Quantidade
N/D	Plate	Placa com anti-NF-leve	Pré-revestida com anticorpo monoclonal anti-NF-L de ratinho, coberta com uma tampa e selada em bolsa de plástico com dessecante.	12 x 8 poços
Cinzenta	Stop	Solução Stop	 H ₂ SO ₄ diluído (8% v/v).	1 x 6 ml
Preta	TMB	Substrato TMB	Substrato de tetrametilbenzidina.	1 x 12 ml
Preta	ELISA-Dil	Diluyente ELISA	Solução tampão aquosa com detergente.	1 x 40 ml
Vermelha	ConjDil	Diluyente do conjugado	Solução tampão aquosa estabilizadora sem biotina.	1 x 12 ml
Vermelha	Conj	Conjugado	Conjugado de estreptavidina peroxidase de rábano em solução tampão aquosa estabilizadora sem biotina. Diluir de acordo com o rótulo.	1 x 350 µl
Preta	Det	Solução de anticorpo de deteção	Anticorpo monoclonal anti-NF-L marcado com biotina em solução tampão aquosa estabilizadora sem biotina. Diluir de acordo com o rótulo.	1 x 300 µl
Verde	bNFL-Cal	Solução de Calibração de NF-L de bovinos	Reconstituir de acordo com o rótulo do frasco. (Contém material bovino negativo para encefalopatia espongiiforme bovina e febre aftosa de origem alemã.)	2 frascos para injetáveis
Branca	Pos Ctrl	Controlo positivo hrNF-L	NF-L recombinante humano, a reconstituir de acordo com o rótulo do frasco.	2 frascos para injetáveis
Branca	Wash	Tampão de lavagem	Solução tampão aquosa com detergente 10x.	2 x 40 ml

Material adicional fornecido:

Tubo de 15 ml para diluição de conjugado, 2 peças

Equipamento essencial não incluído:

Leitor de placas a 450 nm da Microtiter (comprimento de onda de referência de 620 – 650 nm)

Micropipetas de 10 – 1 000 µl

Agitador vórtex

Agitador de bancada orbital para placas de ELISA (**800 rpm**)

Água desionizada

Frasco de lavagem, sistema de lavagem de placas automatizado ou semi-automatizado

Pontas de pipeta e temporizador

Tubos de polistireno ou polipropileno para diluição da solução de calibração e amostras

11. Procedimento do ensaio

Preparação e notas importantes:

- Todos os reagentes do ensaio devem atingir a temperatura ambiente (TA, +18 a +25 °C) antes de serem usados.
- O kit foi concebido para poder ser utilizado em duas ocasiões de análise distintas. Se se pretender utilizar o kit em duas ocasiões, não se deve preparar mais de 500 µl de volume adicional de soluções de trabalho de conjugado e de anticorpo de deteção. Os microtubos de conjugado e de deteção devem ser centrifugados antes da utilização, para garantir volumes suficientes de reagentes na segunda análise.
- Recomenda-se que analise as amostras e as soluções de calibração em duplicado. Se ocorrerem grandes desvios entre as réplicas, volte a executar o ensaio.
- O kit inclui uma tampa para a placa. Esta deve ser utilizada para cobrir a placa durante as etapas de incubação, a fim de a proteger contra contaminação. Todas as etapas de incubação devem ser realizadas à temperatura ambiente.

• Durante os passos da incubação, use um **agitador de bancada orbital para placas de ELISA a 800 rpm**. A agitação da placa a 800 rpm é da **MÁXIMA IMPORTÂNCIA** para obter resultados fidedignos. A incubação a uma frequência inferior originará absorvâncias inferiores e resultados não fidedignos.

• Use o tubo Sarstedt de 15 ml fornecido (62.554.502) ao preparar a solução de conjugado. Outros tubos podem ter um impacto negativo na atividade do conjugado, causando uma queda no nível de absorvância global e leituras de amostras não fidedignas. Note-se, no entanto, que podem ser utilizados reservatórios de reagentes para facilitar a pipetagem em todas as etapas.

- Certifique-se de que não há bolhas nos poços antes de medir a absorvância.

Preparação do tampão de lavagem 1x:

Dilua o conteúdo total de um frasco de **Wash** com água desionizada para um volume final de 400 ml. O **Wash** diluído não usado pode ser armazenado à temperatura ambiente e deve ser usado no espaço máximo de dois meses. O **Wash** concentrado 10x pode parecer opalescente devido à elevada concentração de sal (sem efeito no desempenho do ensaio).

Reconstituição da solução de calibração e do controlo positivo:

Imediatamente antes da utilização, reconstitua a solução **bNFL-Cal** e o **Pos Ctrl** de acordo com o rótulo de cada frasco respetivo com **ELISA-Dil**. Agite brevemente no agitador vórtex e mantenha à temperatura ambiente. O **Pos Ctrl** não deve ser mais diluído. A solução **bNFL-Cal** e o **Pos Ctrl** não podem ser reutilizados. A solução **bNFL-Cal** reconstituída tem uma concentração de 5000 pg/ml. A concentração do **Pos Ctrl** pode ser consultada no CoA.

Preparação da série de diluições de solução de calibração:

Deve ser incluída uma curva de solução de calibração em cada placa analisada. O ponto da solução de calibração mais elevado (5000 pg/ml) é obtido por meio da reconstituição de um frasco de **bNFL-Cal** com o volume de **ELISA-Dil** indicado no rótulo do frasco. Marque 7 microtubos, um para cada ponto da solução de calibração (ou seja, 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 50 pg/ml) e um para zero de solução de calibração, excluindo 5000 pg/ml, que é usado diretamente do frasco. Dilua a solução de calibração reconstituída, de acordo com a tabela a seguir, usando **ELISA-Dil**.

Proceda à diluição em série como se descreve a seguir.

Tubo núm.	Concentração pg/ml	Volume de ELISA-Dil	Volume de solução de calibração do tubo núm.
bNFL-Cal (frasco para injetáveis)	5000	Reconstitua com ELISA-Dil de acordo com o rótulo do frasco de solução de calibração.	
1	2500	300 µl	300 µl (frasco para injetáveis)
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

Descrição geral do ensaio:

Lavagem 3 x 300 µl			
bNFL-Cal (Diretamente do frasco e tubos núm. 1-6) Adição de 100 µl	ELISA-Dil Zero de solução de calibração (tubo núm. 7) Adição de 100 µl	Pos Ctrl Diretamente do frasco Adição de 100 µl	Amostras de LCR/ Amostra de Controlo interno (diluição 1+1) Adição de 100 µl
Incubação 1 hora, 800 rpm			
Lavagem 3 x 300 µl			
Adição de 100 µl de Solução de anticorpo de deteção 1x			
Incubação 45 minutos, 800 rpm			
Lavagem 3 x 300 µl			
Adição de 100 µl de Conjugado 1x			
Incubação 30 minutos, 800 rpm			
Lavagem 3 x 300 µl			
Adição de 100 µl de TMB			
Incubação 15 minutos, 800 rpm			
Adição de 50 µl de Stop			
Ler a placa a 450 nm (comprimento de onda de referência de 620 –650 nm) diretamente após adicionar a Solução Stop			

Protocolo detalhado do ensaio:

1. A solução **bNFL-Cal**, reconstituída e diluída de acordo com a tabela de diluições da solução de calibração, e o **Pos Ctrl** reconstituído estão prontos a usar (ou seja, não deve ser feita mais nenhuma diluição).
2. Dilua as amostras de LCR com uma quantidade igual (1+1) de **ELISA-Dil** para um volume total mínimo de 210 µl.
3. Lave os poços a usar com o **Wash 1x** (3 x 300 µl). A lavagem pode ser feita com um sistema automatizado ou por meio de pipetagem manual. Se a lavagem for feita manualmente, certifique-se de que remove o excesso de tampão de lavagem entre cada lavagem, batendo levemente a placa contra papel absorvente. O tampão de lavagem remanescente e/ou uma lavagem insuficiente podem afetar a reatividade do reagente seguinte.
4. Adicione 100 µl por poço do seguinte: pontos da solução de calibração (diretamente do frasco e tubos núm. 1–6), zero de solução de calibração (tubo núm. 7), controlo positivo (frasco) e amostras. Adicione em duplicado.
→ Incube 1 hora à TA com agitação (800 rpm).
5. Lave os poços com **Wash 1x** (3 x 300 µl), ver o ponto 3.
6. Diretamente antes de usar, prepare o volume necessário (100 µl/poço) de **Det 1x**, diluindo a solução **Det** concentrada com **ELISA-Dil**. Misture bem invertendo o tubo ou agitando no vórtex.
→ Adicione 100 µl de **Det** acabado de diluir a cada poço.
→ Incube 45 minutos à TA com agitação (800 rpm).
7. Lave os poços com **Wash 1x** (3 x 300 µl), ver o ponto 3.
8. Diretamente antes de usar, prepare o volume necessário (100 µl/poço) de **Conj 1x** no **tubo Sarstedt de 15 ml fornecido**, diluindo de acordo com o rótulo do frasco com **ConjDil** para 1x. Misture bem invertendo o tubo ou agitando no vórtex.
→ Adicione 100 µl de **Conj** acabado de diluir a cada poço.
→ Incube 30 minutos à TA com agitação (800 rpm).
9. Lave os poços com **Wash 1x** (3 x 300 µl), ver o ponto 3.
10. Adicione 100 µl de **TMB** a cada poço.
→ Incube 15 minutos à TA com agitação (800 rpm).
11. Adicione 50 µl de **Stop** a cada poço e leia a absorvância a 450 nm (comprimento de onda de referência de 620 – 650 nm).



A Solução Stop contém ácido sulfúrico diluído e é corrosiva.

12. Cálculo de resultados

Os resultados podem ser calculados automaticamente usando um pacote de software do imunoensaio. **Um algoritmo 1/ y² ponderado de 4 parâmetros fornece o melhor ajuste de curva** (ver curva de calibração típica a seguir). Se não estiver disponível este software do imunoensaio, a concentração de NF-L é calculada por meio de um gráfico das DO médias a (λ450 menos λ620 – 650 de referência) em comparação com as concentrações de solução de calibração conhecidas, por exemplo numa folha de cálculo do Excel. *Tenha em atenção que este modelo não será tão preciso na parte inferior da curva como um modelo de 4 parâmetros.* Trace uma curva de calibração log-linear a partir da absorvância (eixo y) e da concentração (eixo x). Adicione uma linha de tendência linear e utilize a equação da linha de tendência para calcular manualmente a concentração das suas amostras a partir da respetiva absorvância.

Para todos os cálculos, tenha em atenção o seguinte:

- A absorvância do zero de solução de calibração não deve ser subtraída dos dados de medição. Deve ser utilizada apenas como um indicador dos níveis de fundo, que devem ser comparados com os valores esperados no CoA.
- **Os valores das amostras obtidos a partir da curva devem ser multiplicados pelo fator de diluição da amostra, a fim de obter a concentração na amostra original.**
- O intervalo de quantificação da curva situa-se entre 125 e 2500 pg/ml. As amostras que se situem acima deste intervalo devem ser diluídas em conformidade e reanalisadas. As amostras que se situem abaixo deste intervalo são demasiado baixas para serem quantificadas com precisão por este método. Consulte a secção 12 para mais detalhes.

A concentração da curva de calibração deve ser multiplicada por 2 para se obter a concentração na amostra (devido a diluição 1+1 antes da análise).

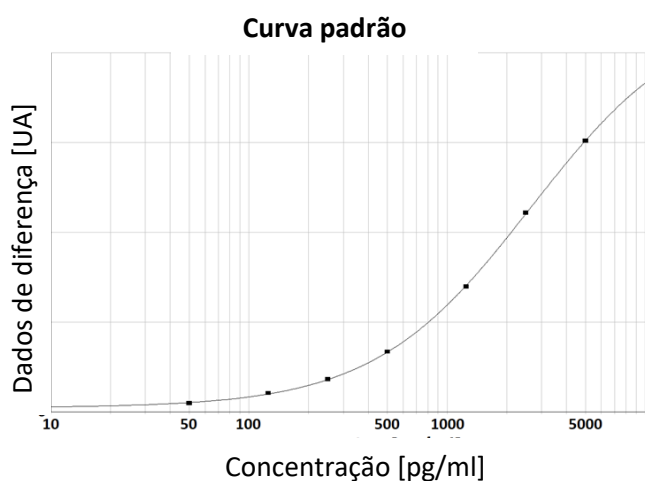
13. Controlo de qualidade

A fim de verificar o desempenho do ensaio, devem cumprir-se os seguintes critérios para cada análise. Note que as absorvâncias se referem a dados de diferença (λ 450 menos λ de referência).

- A curva deve ter uma aparência como se mostra na figura a seguir.
- A concentração do **Pos Ctrl** deve estar dentro do critério de aceitação indicado no CoA (a concentração deve ser determinada diretamente a partir da curva de calibração; não multiplique por qualquer fator de diluição).
- A absorvância para 5000 pg/ml deve ser > 2,0 UA.
- A absorvância para o zero de solução de calibração deve ser < 0,1 UA.

As amostras de controlo interno de controlos saudáveis e/ou amostras de doentes contendo níveis elevados devem ser estabelecidas se o kit for usado em análises clínicas de rotina. Recomenda-se que se estabeleça pelo menos uma amostra de controlo no intervalo de concentrações de 1000 – 3000 pg/ml. As amostras de controlo podem ser preparadas agregando amostras de líquido cefalorraquidiano e analisando o agregado repetidamente para estabelecer níveis de concentrações e critérios de aceitação. O agregado deve ser alíquotado e armazenado a - 80 °C.

Mostra-se a seguir uma curva de calibração típica no momento da emissão e são dados valores aproximados de absorvância.



Nível da solução de calibração (pg/ml)	% de sinal para 5000 pg/ml
5000 (ponto âncora)	100
2500	71
1250	44
500	20
250	11
125	5,7
50 (ponto âncora)	2,7

14. Intervalo da medição

A curva de calibração abrange o intervalo de 50 – 5000 pg/ml de NF-L. As soluções de calibração de 5000 pg/ml e 50 pg/ml servem de pontos âncora e a quantificação deve ser feita no intervalo de 125-2500 pg/ml da curva de calibração, tendo em consideração o fator de diluição (2) da amostra, o que corresponde a 250 – 5000 pg/ml de NF-L na amostra original. A extrapolação para além da curva não é permitida, com a implicação de que as amostras fora da curva têm de ser diluídas e reanalisadas.

15. Limitações de utilização

Devem ser tidos em consideração os seguintes critérios para amostras clínicas:

- Em caso de qualquer procedimento de diagnóstico, os resultados deste ensaio devem ser interpretados juntamente com outros dados clínicos.
- Não compare os resultados deste ensaio com os obtidos utilizando kits de outros fabricantes.
- Os níveis de NF-L são marcadamente elevados em DP atípica comparativamente a DP [6].
- Diferentes tipos de demência estão associados a diferentes níveis de NF-L [7].

Uma potencial interferência de anticorpos heterofílicos pode originar resultados erróneos. Os doentes que foram expostos regularmente a animais ou que receberam imunoterapia ou procedimentos de diagnóstico com imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas podem produzir anticorpos humanos anti-animal, por ex. HAMA, que interferem com este imunoensaio. Uma outra potencial fonte de interferência é se os doentes tiverem recebido tratamento com biotina. Deverá avaliar cuidadosamente os resultados de amostras com suspeita de presença deste tipo de interferências.

16. Desempenho clínico

Os níveis de NF-L no LCR foram analisados para 35 doenças neurológicas e psiquiátricas diferentes usando o kit ELISA NF-light® da UmanDiagnostics. O estudo meta baseou-se em 47 conjuntos de dados e incluiu dados de 10 059 indivíduos.

Os resultados mostraram que os níveis de NF-L eram elevados comparativamente aos controlos saudáveis, para a maioria das doenças. Os níveis mais elevados de NF-L foram observados em indivíduos seropositivos para o VIH com défice cognitivo, em doentes com ELA, demência frontotemporal e doença de Huntington [8]. Outros estudos demonstraram ainda a utilidade clínica do NF-L no diagnóstico da ELA [9], demências [10], EM [11] e DP [12].

Os níveis dos controlos saudáveis dependem da idade e do sexo.

Em controlos saudáveis, sabe-se que os níveis de NF-L no LCR aumentam com a idade devido à degradação neuronal. A experiência baseada em análises clínicas de rotina, desde o desenvolvimento inicial do produto resultou nos seguintes níveis de corte:

Idade	Valor de referência	
Adultos	< 30 anos	< 380 pg/ml
	30 – < 40 anos	< 560 pg/ml
	40 – < 60 anos	< 890 pg/ml
	≥ 60 anos	< 1850 pg/ml

Os resultados apenas são válidos se o ensaio tiver sido executado de acordo com as instruções de utilização e estes devem ser correlacionados com outras observações clínicas e exames de diagnóstico. O utilizador deve aderir rigorosamente às regras de GLP (Boas Práticas de Laboratório) ou outras normas/leis aplicáveis.

17. Características de desempenho

Rastreabilidade da Solução de calibração

O ensaio é padronizado usando amostras internas de controlo de qualidade de líquido cefalorraquidiano de doentes (amostras agregadas). Não está disponível no mercado nenhum método de referência ou material de referência padrão. Apresenta-se de seguida a variação típica, de lote para lote, para a absorvância e as amostras de CQ.

Lote do kit	Abs 5000 pg/ml (UA)	Conc. Amostra de CQ 1 (pg/ml)	Conc. Amostra de CQ 2 (pg/ml)	Conc. Amostra de 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
Média:	3,23	2243	1439	2247
DP:	0,04	58	52	49
CV:	1,4%	2,6%	3,6%	2,2%

Especificidade Analítica

A interferência e a reatividade cruzada apresentadas na tabela abaixo foram determinadas de acordo com a diretriz EP07 do Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI) [13].

Substância	Concentração da substância	Viés devido à substância
Biotina	191 ng/ml	3,8%
Hemoglobina	27 ng/ml	6,4%
Bilirrubina direta	3 mg/dl	3,1%
Bilirrubina indireta	2 mg/ml	0,1%
Albumina	0,3 g/dl	4,6%
Neurofilamento médio	50 000 pg/ml	-0,7%
Neurofilamento pesado	50 000 pg/ml	0,5%
Tau	2500 pg/ml	0,7%

Sensibilidade Analítica

Limite do Branco (LoB) 16 pg/ml.

Limite de Detecção (LoD) 25 pg/ml

Limite de Quantificação (LoQ) 62 pg/ml.

O LoB e o LoD foram determinados conforme descrito na diretriz EP17-A2 do CLSI [14]. O LoQ foi determinado utilizando os resultados em branco obtidos durante a avaliação do LoB e calculado como $média_{branco} + 10 \times DP_{branco}$.

Precisão

Precisão intra-ensaios: 2,8% (intervalo de concentração 239 – 4223 pg/ml).

Precisão inter-ensaios: 6,0% (intervalo de concentração 242 – 4938 pg/ml).

Precisão inter-lotes: 1 de 5 amostras 19,2% (304 pg/ml), 4 de 5 amostras 4,7% (730 – 4753 pg/ml).

A precisão intra-ensaios foi determinada como a média de % CV de 20 medições replicadas de cinco amostras de LCR.

A precisão inter-ensaios foi determinada conforme descrito na diretriz EP05-A3 do CLSI [15]. As amostras inter-ensaios foram analisadas num desenho 5x2x2 com três lotes separados. Apresenta-se a média dos resultados.

A precisão inter-lotes foi determinada utilizando os resultados obtidos durante a avaliação inter-ensaios e foi calculada como a % CV para as respetivas amostras. A precisão inter-lotes máxima auto-permitida é $CV \leq 20\%$ para amostras < 500 pg/ml e $CV \leq 10\%$ para amostras ≥ 500 pg/ml.

Linearidade da diluição

Existe linearidade da diluição no intervalo de concentrações de 53-21000 pg/ml.

Paralelismo

A diluição de amostras de LCR segue as mesmas tendências da diluição de amostras enriquecidas. A diluição não afeta a determinação de concentrações de NFL endógeno no intervalo de concentrações investigado de 171-6900 pg/ml.

Recuperação

A recuperação no intervalo de concentrações de NFL investigado de 1700-6800 pg/ml está entre 88 e 108%.

Exatidão

Não foi possível comparar os resultados deste ensaio com qualquer outro método, visto que não estão disponíveis kits com marca CE para LCR ou material de referência padrão para NF-L.















18. Garantia

Os dados de desempenho aqui apresentados foram obtidos utilizando o procedimento de ensaio descrito. Qualquer alteração ou modificação do procedimento que não seja recomendada pela UmanDiagnostics AB pode afetar os resultados. Nesse caso, UmanDiagnostics AB exonera-se de quaisquer garantias, expressas, implícitas ou estabelecidas, incluindo as garantias implícitas de comercialização e adequação para utilização. Em tal eventualidade, UmanDiagnostics AB e os seus distribuidores autorizados não serão responsáveis por nenhum dano, seja direto, indireto, ou consequente.

19. Bibliografia

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 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 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. Símbolos usados

	Número de catálogo
	Prazo de validade
	Número de lote
	Contém o suficiente para <n> ensaios
	Controlo positivo
	Não reutilizar
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Ler as instruções de utilização
	Manter afastado da luz solar direta
	Temperatura limite
	Fabricante
	País do fabricante:
	Atenção!
	Nocivo



UmanDiagnostics AB
Tvistevägen 48C
907 36 Umeå, Sweden

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

Estão disponíveis instruções de utilização noutros idiomas, para transferência direta, no portal da empresa.
 umandiagnosics.com/products/ifu-ce