



## Neurofilament (pNf-H)-ELISA



- Nachweis von pNf-H (phosphorylierte schwere Kette des Neurofilaments) in Liquor oder Serum
- Gebrauchsfertige Reagenzien
- Inkubationszeit nur 135 Minuten / gleiche Abarbeitung für Liquor und Serum
- Farbumschlag nach Zugabe von Kalibratoren und Proben

### Technische Daten

<b>Beschichtung</b>	Polyklonaler Anti-pNf-H-Antikörper
<b>Kalibrierung</b>	Quantitativ, in Nanogramm pro Milliliter (ng/ml) 6 Kalibratoren, feste Sollwerte
<b>Probenverdünnung</b>	Liquor, Serum; 25 µl; unverdünnt
<b>Reagenzien</b>	Gebrauchsfertig, mit Ausnahme des Waschpuffers (10x), farbcodierte Lösungen
<b>Testablauf</b>	120 min / 15 min (Proben-/ Substrat-Inkubation), Raumtemperatur mit Schütteln, voll automatisierbar
<b>Messung</b>	450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
<b>Packungsformat</b>	96 einzeln abbrechbare Reaktionsgefäße inkl. aller Reagenzien
<b>Bestell-Nr.</b>	<b>EQ 6561-9601</b>

### Klinische Bedeutung

Motoneuronale Erkrankungen (MND) gehören zur Gruppe der neurodegenerativen Erkrankungen, die durch Degeneration der oberen und unteren Motoneurone charakterisiert ist. Die Prävalenz der amyotrophen Lateralsklerose (ALS), auch bekannt als Lou-Gehrig-Krankheit, beträgt 2/100.000. ALS ist somit die häufigste MND vor der primären Lateralsklerose, der progressiven, muskulären Atrophie und der Pseudobulbärparalyse. Trotz intensiver Forschung ist die grundlegende Ursache dieser Erkrankungen noch nicht bekannt. MND beginnen oft mit geringen, unspezifischen Symptomen wie Muskelschwäche oder Krämpfen in Armen und Beinen bzw. Schluck- und Sprachbeschwerden, in Abhängigkeit von der betroffenen Körperregion. Im Krankheitsverlauf breiten sich diese Symptome über den ganzen Körper aus und nehmen an Stärke zu bis hin zum Verlust der Selbstständigkeit und des Kommunikationsvermögens des Patienten. Häufig führt etwa 2 bis 4 Jahre nach Krankheitsbeginn respiratorisches Versagen zum Tod des Patienten. Nur 5 bis 10% der Patienten überleben länger als 10 Jahre nach Auftreten der ersten Symptome.

### Stellenwert

Die ALS-Diagnostik basiert auf der Beurteilung klinischer Symptome und der Elektromyographie (EMG). Zwischen dem Auftreten der ersten Symptome und der Diagnose liegen derzeit durchschnittlich mehr als 12 Monate. Es werden daher dringend Methoden für eine frühere Diagnostik benötigt, zum Beispiel bildgebende Verfahren oder biochemische Labortests. Diagnostische Tests werden auch zur Differenzierung von ALS gegenüber MND-Mimics, wie Polyneuropathie, Myopathie und sporadischer Einschlusskörpermyositis, benötigt. Aktuelle Publikationen zeigen, dass erhöhte Werte für die phosphorylierte schwere Kette des Neurofilaments („phosphorylated neurofilament heavy chain“, pNf-H) im Liquor oder Serum zur Diagnose, Differenzialdiagnose und Prognose bei MND eingesetzt werden könnten. Es wird empfohlen, diesen Marker in die MND-Routinediagnostik aufzunehmen.



## Nachweisempfindlichkeit

Die untere Nachweisgrenze ist definiert als der Mittelwert einer analytfreien Probe plus der dreifachen Standardabweichung und gibt die geringste eindeutig erfassbare pNf-H-Konzentration an. Die untere Nachweisgrenze des Neurofilament (pNf-H)-ELISA aus 4 verschiedenen Läufen liegt im Mittel bei 0,027 ng/ml. Die funktionelle Sensitivität, definiert als die niedrigste Konzentration einer Liquor-Probe mit einem Variationskoeffizienten <20%, wurde mit 0,117 ng/ml bestimmt.

## Linearität

Zur Bestimmung der Linearität des Neurofilament (pNf-H)-ELISA wurden drei Liquorproben (3,2–11,4ng/ml) und drei Serumproben (2,1–12,6ng/ml) in neun Schritten bis zu einer Endverdünnung von 1:10 mit Probenpuffer verdünnt. Für die Liquorproben lag die Wiederfindung im Bereich von 88 bis 119% mit einem mittleren Korrelationskoeffizienten von  $r=0,995$ . Für die Serumproben lag die Wiederfindung im Bereich von 84 bis 124% mit einem mittleren Korrelationskoeffizienten von  $r=0,983$ .

## Reproduzierbarkeit

Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Intra-Assay-, Inter-Assay- und Inter-Lot-Variationskoeffizienten mit je 3 Proben ermittelt.

Liquor			Intra-Assay-Präzision, n=20			Inter-Assay-Präzision, n=10 x 3			Inter-Lot-Präzision, n=3x4x2		
Nr.	Mittelwert (ng/ml)	VK (%)	Nr.	Mittelwert (ng/ml)	VK (%)	Nr.	Mittelwert (ng/ml)	VK (%)			
1	0,8	3,4	1	0,8	4,5	1	0,8	9,0			
2	5,5	3,1	2	5,2	7,7	2	5,0	6,1			
3	7,9	3,7	3	7,9	7,1	3	7,7	5,0			

Serum			Intra-Assay-Präzision, n=20			Inter-Assay-Präzision, n=10 x 3			Inter-Lot-Präzision, n=3x4x2		
Nr.	Mittelwert (ng/ml)	VK (%)	Nr.	Mittelwert (ng/ml)	VK (%)	Nr.	Mittelwert (ng/ml)	VK (%)			
1	0,6	2,6	1	0,7	4,5	1	0,7	11,6			
2	2,1	3,1	2	2,5	8,5	2	0,8	10,9			
3	3,3	2,5	3	2,9	11,0	3	2,9	12,2			

## Erwartungswerte

Abb. 1: Klinisch charakterisierte Liquorproben von 80 Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS), 21 Patienten mit einer anderen neurologischen Erkrankung (DC) und 3 gesunde Kontrollpersonen (HC) wurden mit dem Neurofilament (pNf-H)-ELISA untersucht. Der Median aller ALS-Patienten lag bei 2,12 ng/ml, wohingegen die beiden Kontrollkollektive Median-Werte von 0,43 ng/ml (DC) bzw. 0,17 ng/ml (HC) aufwiesen.

Abb. 2: Klinisch charakterisierte Serumproben von 20 Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS), 29 Patienten mit einer anderen neurologischen Erkrankung (DC) und 14 gesunde Kontrollpersonen (HC) wurden mit dem Neurofilament (pNf-H)-ELISA untersucht. Der Median aller ALS-Patienten lag bei 0,57 ng/ml, wohingegen die beiden Kontrollkollektive Werte von 0,02 ng/ml aufwiesen.

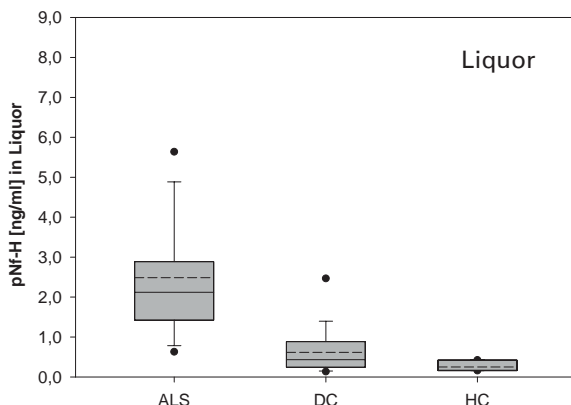


Abb. 1

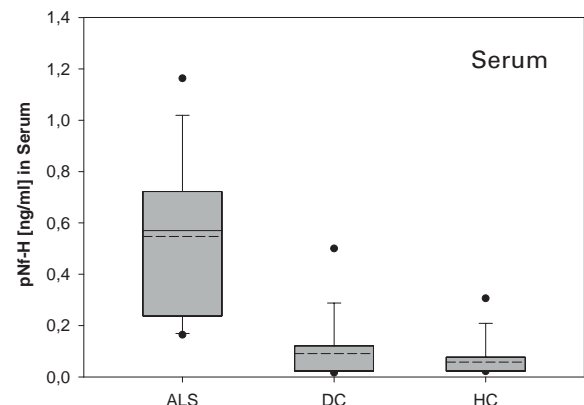


Abb. 2