

NOTE D'INFORMATION

Objet : téléchargement notice sur le site <http://www.cisbio.com/ivd-pi>

Cher client,

Nous vous informons que la révision de notice indiquée dans le certificat d'analyse du kit utilisé ne peut pas être mise à disposition en raison du passage au nom Revvity. Ainsi vous devez utiliser la version de notice 04 de la Chromogranine A New Gen. ELISA (Ref 30208352) ci-après, qui correspond à la version de notice indiquée sur le certificat d'analyse de votre kit mais avec un branding Revvity.

Pour toute information complémentaire, nous vous remercions de contacter cisbio.iva@revvity.com

Le Service Affaires Réglementaires de Cisbio Bioassays

INFORMATION

Subject: Download notice from <http://www.cisbio.com/ivd-pi>

Dear customer

We would like to inform you that the revision of the package insert indicated in the certificate of analysis for the kit used cannot be made available due to the changeover to Revvity name. You must therefore use version 04 of the Chromogranin A New Gen. ELISA (Ref 30208352) hereafter, which correspond to the leaflet version indicated on the certificate of analysis for your kit but with the Revvity branding.

For any further information, please contact cisbio.iva@revvity.com

Cisbio Bioassays Regulatory Affairs Service

Cisbio Bioassays
Pascal Boiteux
Rég. Aff. 175
30200 Codolet - France
S. Ponsard
Regulatory Affairs Officer

Chromogranin A New Gen. ELISA

Il prodotto Chromogranin A New Gen. ELISA è un kit per la rilevazione enzimatica quantitativa della cromogranina A umana (CGA) su siero o su plasma EDTA negli adulti.

REF 30208352

 **12x8**



EU: **IVD**  



Cisbio Bioassays

Parc Marcel Boiteux – BP 84175
30200 Codolet, France



IBL International GmbH

Flughafenstrasse 52a
22335 Hamburg, Germany

Tel.: +49 (0) 40 53 28 91-
0

Fax: +49 (0) 40 53 28 91-
11

IBL@tecan.com

www.tecan.com/ibl

Always there for you

1. NOME E USO PREVISTO

Il prodotto **CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA** è un kit per la rilevazione enzimatica quantitativa della cromogranina A umana (CGA) su siero o su plasma EDTA negli adulti.

Il kit **CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA** è destinato a essere utilizzato come ausilio alla diagnosi nella determinazione della presenza e della progressione di neoplasie neuroendocrine (NNE) di tipo GEP (Gastro-Entero-Pancreatico), negli adulti.

Il kit è destinato all'uso professionale e all'uso manuale.

2. INTRODUZIONE

La CGA è una proteina idrofila e acida composta da 439 aminoacidi (49 kD) ed è presente nei granuli cromaffini delle cellule neuroendocrine. Appartiene alla famiglia delle granine. La CGA agisce come proormone. La proteolisi svolge un ruolo fondamentale nella sua fisiologia. Questa degradazione rilascia peptidi biologicamente attivi (vasostatina, cromostatina, pancreastatina, parastatina), che hanno diverse funzioni paracrine e autocrine. Tale proteolisi è tessuto-specifica, quindi la frammentazione della proteina sarà diversa in base alla sua localizzazione. Essa si sviluppa principalmente nella cellula, all'interno dei granuli cromaffini. In immunisto chimica, la presenza di CGA nelle cellule tumorali è suggestiva di tumore di origine neuroendocrina. La CGA circolante è presente in soggetti sani e i valori riscontrati sono indipendenti dall'età e dal sesso. La rilevanza della determinazione della CGA nei campioni di siero è stata dimostrata per i tumori endocrini, con elevazioni particolarmente significative nei tumori endocrini gastro-entero-epatici. Gli studi hanno dimostrato che i livelli circolanti di CGA erano associati a una differenziazione neuroendocrina e collegati alla massa tumorale, senza per questo sostituirsi a secrezioni più specifiche.

3. PRINCIPIO

Il kit **CHROMOGRANIN A** è un immunodosaggio di tipo ELISA. Un primo anticorpo monoclonale, immobilizzato sulla micropiastre, cattura le proteine CGA contenute nei calibratori e nei campioni. Dopo i lavaggi, le proteine fissate vengono riconosciute da un secondo anticorpo monoclonale coniugato all'HRP (Horse-Radish-Peroxidase, Perossidasi di Rafano). Dopo una seconda incubazione, i reagenti non fissati vengono eliminati mediante lavaggio. Viene quindi avviata la reazione colorimetrica con l'aggiunta di un substrato dell'HRP, il TMB (3, 3', 5, 5' Tetrametilbenzidina). Dopo l'arresto della reazione, la densità ottica (DO) di ciascun pozzetto viene letta a 450 nm. Le DO misurate sono proporzionali alla concentrazione di proteina CGA contenuta nei calibratori e nei campioni.

4. REAGENTI

Ogni kit contiene i reagenti sufficienti per 96 test (compresa la generazione della curva di calibrazione). La data di scadenza è indicata sull'etichetta esterna.

REAGENTI	SIMBOLI	QUANTITÀ	CONSERVAZIONE
MICROPIASTRA: Pronto all'uso. Anticorpo monoclonale di topo anti-CGA fissato al fondo del pozzetto, Albumina bovina.	MICROPLATE	1 piastra di 96 pozzetti	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura: le strisce non utilizzate possono essere conservate per 6 settimane nel sacchetto di plastica fornito, con un essiccante, adeguatamente sigillato, entro i limiti della data di scadenza.
CONIUGATO: Pronto all'uso Anticorpo monoclonale di topo anti-CGA legato all'HRP, immunoglobuline di topi non immunizzati, stabilizzanti e conservante.	CONJ	1 fialone 22mL	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura: il coniugato può essere conservato a 2-8°C per un periodo di 6 settimane, entro i limiti della data di scadenza.
CALIBRATORI: Liofilizzati. CGA umana ricombinante, siero umano, EDTA, conservante. 75 – 140 – 300 – 600 – 1000 ng/mL * Ricostituire con 0,25 mL di acqua distillata.	CAL	5 fialoni	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo la ricostituzione: non conservare per più di un'ora a temperatura ambiente, aliquotare e congelare a -20 °C per un periodo di 6 settimane, entro i limiti della data di scadenza.
CONTROLLI: Liofilizzati. CGA umana ricombinante, siero umano, EDTA, conservante.	CONTROL	2 fialoni	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo la ricostituzione: non conservare per più di un'ora a temperatura ambiente, aliquotare

REAGENTI	SIMBOLI	QUANTITÀ	CONSERVAZIONE
90 – 720 ng/mL ** Ricostituire con 0,25 mL di acqua distillata.			e congelare a -20 °C per un periodo di 6 settimane, entro i limiti della data di scadenza.
DIL/CAL0: Pronto all'uso. Questo reagente è utilizzato come tampone di incubazione, diluente e calibratore 0. Tampone, siero di manzo, sodio azide, EDTA.	DIL CAL 0	1 flacone 80 mL	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura: il diluente/CAL0 può essere conservato a 2-8°C per un periodo di 6 settimane, entro i limiti della data di scadenza.
TWEEN 20: Soluzione di lavaggio concentrata Diluire 9 mL di Tween 20 in 3 L di acqua distillata. Agitare delicatamente.	TWEEN 20	1 flacone 10 mL	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura: il Tween 20 può essere conservato a 2-8°C per un periodo di 6 settimane, entro limiti della data di scadenza.
SUBSTRATO: Pronto all'uso 3, 3', 5, 5' Tetrametilbenzidina: TMB	SUBS TMB	1 flacone 15 mL	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura: il TMB può essere conservato a 2-8°C per un periodo di 6 settimane, entro i limiti della data di scadenza.
SOLUZIONE DI ARRESTO: Pronto all'uso Acido solforico 0,5 M.	STOP SOLN	1 flacone 22 mL	Prima dell'apertura: 2-8 °C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura: la soluzione di arresto può essere conservata a 2-8°C per un periodo di 6 settimane, entro i limiti della data di scadenza.
FILM ADESIVO PER MICROPIASTRA		3	
SACCHETTO DI PLASTICA		1	

(*) I valori sopraindicati sono valori target, quelli reali sono riportati sulle etichette dei flaconi.

(**) I valori reali del limite di accettazione sono riportati sulle etichette dei flaconi.

5. PRECAUZIONI PER L'USO

5.1. Misure di sicurezza

- Le materie prime di origine umana contenute nei reagenti di questo kit sono state testate con kit approvati e sono risultate negative agli anticorpi anti-HIV 1, anti-HIV 2, anti-HCV e all'antigene HBs. Tuttavia, poiché è impossibile garantire in modo assoluto che tali prodotti non possano trasmettere l'epatite, il virus HIV o qualsiasi altra infezione virale, tutte le materie prime di origine umana, compresi i campioni da dosare, devono essere considerate come potenzialmente infetti.
- Non pipettare con la bocca.
- Non fumare, bere, mangiare nei locali in cui si manipolano i campioni o i reagenti del kit. Indossare guanti monouso durante la manipolazione dei reagenti o dei campioni del kit e, al termine, lavarsi accuratamente le mani. Evitare gli schizzi.
- Decontaminare e smaltire i campioni e tutto il materiale potenzialmente contaminato come se contenessero agenti infetti. Il miglior metodo di decontaminazione è la sterilizzazione in autoclave per almeno un'ora a 121,5 °C.
- La sodio azide può reagire con le tubazioni in piombo e rame formando azoturi metallici fortemente esplosivi.
- Quando si smaltiscono i rifiuti, diluirli abbondantemente per evitare la formazione di questi prodotti.



CAL **CONTROL** **CONJ**

AVVERTENZA

H317: Può provocare una reazione allergica cutanea

STOP **SOLN**

Non classificato come pericoloso ma soluzione con PH acido

DIL	CAL	0
-----	-----	---

Contiene sodio azide (<0,1%)

5.2. Precauzioni per la manipolazione

- Non utilizzare i componenti del kit oltre la data di scadenza.
- Non utilizzare insieme reagenti di lotti diversi.
- Evitare qualsiasi contaminazione microbica dei reagenti e dell'acqua. Rispettare i tempi di incubazione.

6. PRELIEVO DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

6.1 Fase preanalitica

Il dosaggio viene effettuato direttamente su siero o plasma EDTA. Se il dosaggio viene effettuato entro le 4 ore, i campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C). Se il dosaggio viene effettuato entro le 48 ore, dopo il prelievo i campioni devono essere conservati a 2-8 °C. Se il dosaggio viene effettuato oltre le 48 ore, i campioni devono essere divisi in parti aliquote che devono essere conservate congelate (-20 °C) fino a 10 mesi.

Diluzione: Se si sospettano livelli elevati di CGA, la diluizione deve essere effettuata utilizzando il tampone diluente fornito con il kit. Si raccomanda di effettuare le diluizioni in provette in plastica monouso.

6.2 Prediluizione di campioni, controlli e calibratori (1/51)

- **Tutti i campioni, i controlli e i calibratori devono essere prediluiti 51 volte** nel diluente

DIL	CAL
-----	-----

 0 fornito nel kit prima di essere testati. Mescolare delicatamente la miscela utilizzando un agitatore tipo Vortex.

7. PROCEDURA DI DOSAGGIO

7.1 Materiale necessario

- Micropipette di precisione o materiale simile con puntale monouso che consenta l'erogazione di 20, 50, 100, 200 e 1000 µL. La loro calibrazione deve essere verificata regolarmente.
- Acqua distillata.
- Provette in plastica monouso.
- Agitatore tipo Vortex.
- Lavatore per micropiastra (facoltativo).
- Agitatore per micropiastre.
- Lettore di micropiastre, in grado di misurare l'assorbanza a 450 nm. Facoltativamente, il lettore può essere dotato di un filtro in grado di leggere l'assorbanza a una lunghezza d'onda compresa tra 610 nm e 650 nm (si raccomanda 620 nm). Questa seconda lettura permette di correggere le imperfezioni della micropiastra.

7.2 Protocollo

- Tutti i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (18-25 °C) almeno 30 minuti prima del loro utilizzo. I reagenti vengono pipettati e dispensati nei pozzetti a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Ogni calibratore, controllo o campione deve essere testato in duplicato.
- Ricostituire i flaconi dei calibratori e dei controlli. Controllare attentamente che tutto il prodotto liofilizzato sia dissolto e utilizzarlo entro un'ora dalla ricostituzione.

7.2.1 Preparazione della soluzione di lavaggio | | |----------| | TWEEN 20 | |----------|

- Per ottenere risultati affidabili e riproducibili, si raccomanda di eseguire le fasi di lavaggio come indicato; il volume residuo di soluzione di lavaggio deve essere il più basso possibile. Si raccomanda l'uso di un lavatore per micropiastre.
 - Per preparare la soluzione di lavaggio, diluire 9 mL di Tween 20

TWEEN 20

 in 3 L di acqua distillata. Mescolare lentamente.

7.2.2 Istruzioni - Rispettare l'ordine di aggiunta dei reagenti

Vedere l'ultima pagina per la scheda del protocollo di laboratorio. Prima di utilizzare la scheda del protocollo di laboratorio è necessario leggere completamente il foglietto illustrativo nei dettagli.

1. Preparare e identificare un numero sufficiente di provette per eseguire una prediluizione di campioni, calibratori e controlli
2. Determinare il numero di strisce per microtitolazione necessarie per il dosaggio. Rimuovere le strisce inutilizzate dal supporto del telaio e conservarle a 2-8 °C nel sacchetto adesivo, adeguatamente sigillato, con un essiccante.
3. **Prediluire i calibratori, i campioni e i controlli in provette di plastica secondo un rapporto 1:51**
 - a. Dispensare 1 mL di diluente [DIL | CAL] 0 nelle provette di plastica
 - b. Aggiungere 20 µL di ciascun calibratore, controllo o campione e mescolare delicatamente con un agitatore tipo Vortex
4. Dispensare 200 µL di calibratori prediluiti [CAL], campioni o controlli [CONTROL] in un rapporto 1/51 nel DIL/CAL0 [DIL | CAL] 0 in ogni pozzetto.
5. Coprire con il film adesivo, agitare per **1 ora a 700 rpm** a temperatura ambiente (**18-25 °C**).
6. Lavare i pozzetti nel modo seguente:
 - a. Rimuovere il contenuto dei pozzetti
 - b. Dispensare 300 µL di soluzione di lavaggio [TWEEN 20] preparata come descritto nel capitolo 7.2.1
 - c. Ripetere i punti a. e b. altre 2 volte per un totale di 3 cicli di lavaggio.
 - d. Terminare con un'aspirazione. Il volume residuo di soluzione di lavaggio deve essere il più ridotto possibile. È possibile picchiare delicatamente la piastra capovolta per rimuovere il liquido residuo.
7. Dispensare **200 µL** di coniugato HRP [CONJ] in tutti i pozzetti.
8. Coprire con il film adesivo e **incubare per 2 ore +/- 5'** a temperatura ambiente (18-25 °C) agitando a **700 rpm**.
9. Lavare i pozzetti come sopraindicato, quindi:
10. Dispensare 100 µL di TMB [SUBS | TMB] in tutti i pozzetti. Coprire con il film adesivo. Non è necessaria l'incubazione al buio.
11. Lasciare che la reazione colorimetrica si sviluppi per **10 minuti esatti** a temperatura ambiente (18-25 °C), **agitando a 700 rpm**.
12. Arrestare la reazione aggiungendo 50 µL di soluzione di arresto [STOP | SOLN] in tutti i pozzetti.
 - Leggere l'assorbanza a 450 nm. Eseguire una seconda lettura (opzionale) dell'assorbanza a una lunghezza d'onda compresa tra 610 nm e 650 nm.

8. CONTROLLO QUALITÀ

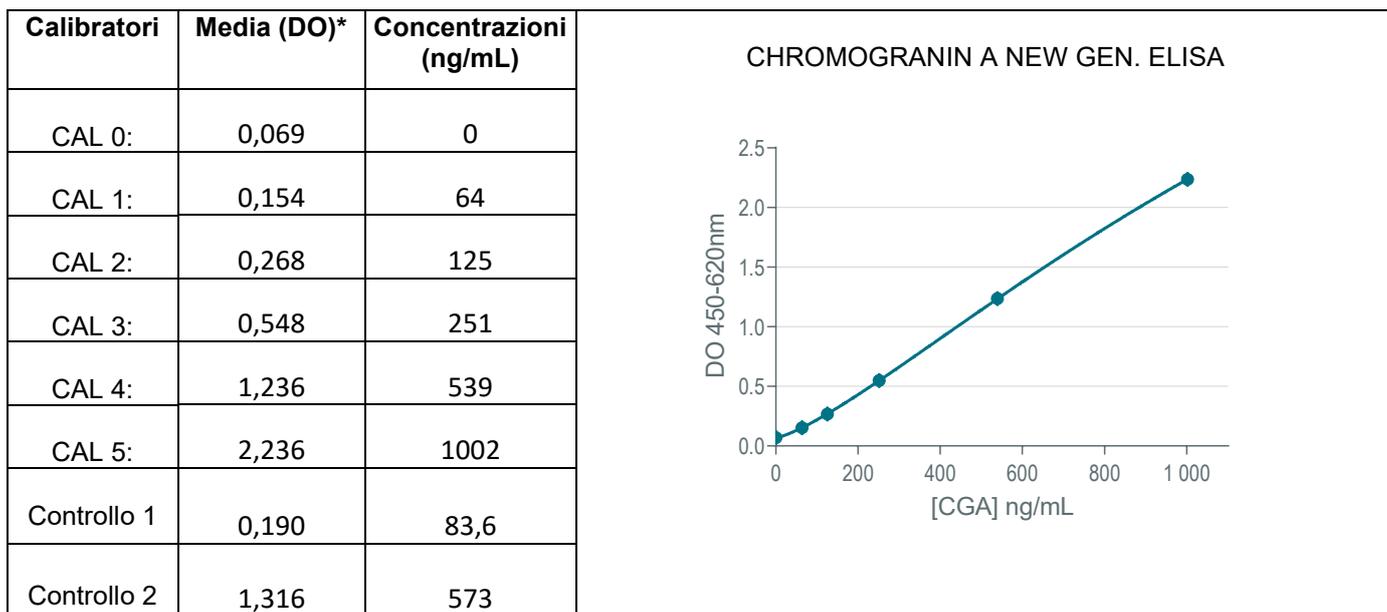
Le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP) richiedono l'impiego di campioni di controllo per ciascuna serie di dosaggi al fine di accertare la qualità dei risultati ottenuti. Tutti i campioni devono essere trattati allo stesso modo e si raccomanda di analizzare i risultati utilizzando metodi statistici idonei.

9. RISULTATI

1. Correzione opzionale DO*: sottrazione letture a da 620 nm dalle letture a 450 nm.
2. Per ogni duplicato, calcolare l'assorbanza media (DO) di calibratori, controlli e campioni.
3. Costruire una curva di taratura calibrazione tracciando i valori DO medi (corretti*) a 450 nm dei calibratori (asse y) in funzione della loro concentrazione (asse x) indicata sul flacone.
4. Per le curve di taratura si raccomanda il modello matematico di fitting con logistica 4PL e peso $1/y^2$. Altre funzioni di riduzione dei dati possono dare risultati leggermente diversi.

Leggere la concentrazione dei campioni dalla curva. Il rapporto di prediluizione di 1:51 è già calcolato nelle concentrazioni dei calibratori.

*Esempio di dati di dosaggio: solo a **titolo illustrativo**; non deve in nessun caso essere sostituito ai risultati ottenuti in laboratorio.*



10. LIMITI DELLA PROCEDURA

- I campioni che presentano torbidità, emolisi, iperlipemia o che contengono fibrina possono dare risultati imprecisi.
- Non estrapolare i valori dei campioni oltre l'ultimo standard. Diluire i campioni ad alta concentrazione e ridosarli.
- Non usare il kit CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA per la determinazione della CGA circolante in pazienti con trattamenti in corso a base di farmaci inibitori della pompa protonica o in pazienti con funzione renale ridotta o con gastrite atrofica. Questi pazienti hanno livelli fisiologicamente elevati di CGA circolante non collegati alla presenza di un tumore neuroendocrino.
- Non interpretare i risultati in pazienti in terapia con analoghi della somatostatina; questi pazienti possono presentare risultati falsamente bassi.

11. CARATTERISTICHE SPECIFICHE DEL DOSAGGIO

11.1 Imprecisione

Campioni	n	Concentrazione Media (ng/mL)	Intra-serie (CV%)
1	34	81,6	6,43
2	36	122	4,68
3	31	182	4,13
4	35	407	3,19
5	36	445	3,98
6	35	632	4,73

Campioni	n	Concentrazione Media (ng/mL)	Inter-serie (CV%)
1	28	51,3	11,5
2	28	187	6,4
3	28	442	6,8
4	20	697	7,0

11.2 Test di recupero

Quantità note di CGA sono state aggiunte a sieri umani. Le percentuali di recupero nei campioni variavano tra il 90% e il 110%.

11.3 Test di diluizione

I campioni ad elevata concentrazione sono stati diluiti. Le percentuali di recupero ottenute erano comprese tra l'80% e il 120%.

11.4 Specificità

Non è stata osservata alcuna interferenza quando i campioni di siero sono stati testati con una delle seguenti sostanze:

- Glugacone (fino a 3000 ng/mL)
- Gastrina (fino a 3000 ng/mL)
- Cromogranina B (fino a 3000 ng/mL)
- NSE (fino a 3000 ng/mL)
- Polipeptide pancreatico (fino a 3000 ng/mL)

11.5 Campo di misura

I campioni devono essere misurati nel campo compreso tra il limite di rilevamento e la massima concentrazione dell'intervallo di calibrazione, ovvero tra 30,6 e 1000 ng/mL.

11.6 Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento (LOD o sensibilità analitica) del kit CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA è definito come la minima concentrazione rilevabile diversa da zero con una probabilità del 95% calcolata aggiungendo 2 deviazioni standard al valore medio di 30 analisi replicate del calibratore zero (CAL0). È stata misurata a 16,9 ng/mL.

La sensibilità funzionale è definita come la concentrazione misurata per profilo di imprecisione dato un CV pari al 20%. Viene stimata a 30,6 ng/mL.

11.7. Effetto gancio

Assenza di effetto gancio fino a 1.000.000 ng/mL.

11.8. Interferenza

- Quando si segue il protocollo di dosaggio fornito nelle istruzioni per l'uso, non viene misurata alcuna interferenza con la biotina per concentrazioni comprese tra 0 e 600 ng/mL.
- NOTA: I risultati hanno mostrato che una concentrazione di biotina a 1200 ng/mL ha causato una leggera interferenza (-14% bias massimo) con il kit CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA.
- Non è stata osservata alcuna interferenza con **la bilirubina e l'emoglobina** misurate fino alle rispettive concentrazioni di 0,15 mg/mL e 2 mg/mL.
- Nessuna interferenza è stata osservata quando i campioni di siero sono stati integrati con trigliceridi da campione umano iperlipidemico e testati (743,4 mg/dL di TG totali).

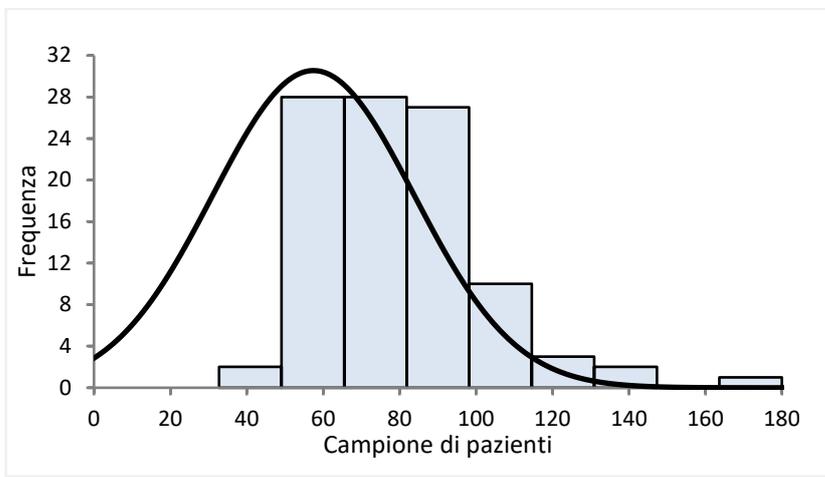
ATTENZIONE: L'immunodosaggio è protetto contro potenziali interferenze dovute ad **anticorpi eterofili** come HAMA e fattori reumatoidi (RF) grazie all'aggiunta di una sostanza protettiva (immunoglobuline di topo non specifiche). Tuttavia, non è possibile escludere che non ci sarà mai un falso risultato positivo o negativo dovuto alla presenza di anticorpi eterofili e fattori reumatoidi nei campioni dei pazienti.

12. VALORI NORMALI ATTESI

Si raccomanda che ogni laboratorio determini il proprio intervallo di valori normali a seconda del tipo di campione comunemente utilizzato. La cromogranina A è una proteina legata al calcio e i suoi livelli circolanti sono influenzati dalla concentrazione di Ca⁺⁺. I valori umani normali riscontrati possono differire a seconda che vengano analizzati sieri raccolti su provette per la raccolta di sangue secco o plasmici EDTA.

I valori presentati di seguito sono forniti solo a titolo indicativo e sono stati ottenuti su campioni di siero con una popolazione di 101 soggetti presumibilmente sani.

Per la distribuzione dei valori normali presentati di seguito, il 95° percentile si trova a 101 ng/mL.



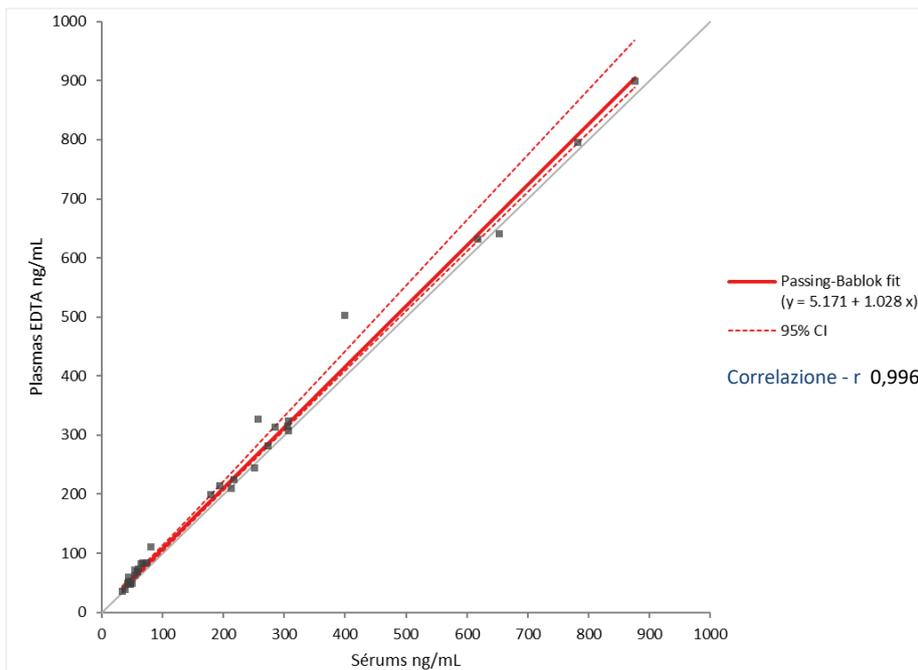
Valori normali su campioni di plasma EDTA:

La correlazione siero/plasma presentata qui di seguito deve essere utilizzata per determinare la concentrazione plasmatica di CGA.

L'equazione della correlazione è la seguente:

$$[\text{Campione di plasma}] = 1,028 \times [\text{Campione di siero}] + 5,171$$

Per estrapolare i valori sul plasma EDTA, questa equazione deve essere applicata ai valori normali trovati sui campioni di siero,



13. BIBLIOGRAFIA

Zhang C. et al,

Serum chromogranin A for the diagnosis of gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms and its association with tumour expression.

Oncology Letters 17: 1497-1504, 2019

Jun E et al.

Diagnostic value of chromogranin A in pancreatic neuroendocrine tumors depends on tumor size: A prospective observational study from a single institute.

Surgery. 2017 Jul;162(1):120-30

Rogowski W et al.

Baseline chromogranin A and its dynamics are prognostic markers in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors.

Future Oncol. 2017;13(12):1069-79

Cheng Y et al.

Serum chromogranin A levels for the diagnosis and follow-up of well-differentiated non-functioning neuroendocrine tumors.

Tumour biology. 2016; 37(3):2863-9

d'Herbomez M et al.

Biomarkers of neuroendocrine tumors.

Ann Biol Clin. 2016; 74(6):669-79.

Erickson JA et al.

A chromogranin A ELISA absent of an apparent high-dose hook effect observed in other chromogranin A ELISAs.

Clin Chim Acta. 2016; 452:120-3

Gut P et al.

Chromogranin A - unspecific neuroendocrine marker. Clinical utility and potential diagnostic pitfalls.

Arch Medical Sci: AMS. 2016; 12(1):1-9

Kim M et al.

The Role of Plasma Chromogranin A as Assessment of Treatment Response in Non-functioning Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors.

Cancer Res treat. 2016; 48(1):153-61

Lyubimova NV et al.

Chromogranin As a Biochemical Marker of Neuroendocrine Tumors.

Bull Exp Biol Med. 2016; 160(5):702-4

Shanahan MA et al.

Chromogranin A predicts survival for resected pancreatic neuroendocrine tumors.

J Surg Res. 2016; 201(1):38-43

Glinicki P et al.

Comparison of chromogranin A (CgA) levels in serum and plasma (EDTA2K) and the respective reference ranges in healthy males.

Endokrynol Pol. 2015; 66(1):53-6.

Hallet J et al.

Exploring the rising incidence of neuroendocrine tumors: a population-based analysis of epidemiology, metastatic presentation, and outcomes.

Cancer. 2015; 121(4):589-97

Han X et al.

The value of serum chromogranin A as a predictor of tumor burden, therapeutic response, and nomogram-based survival in well-moderate nonfunctional pancreatic neuroendocrine tumors with liver metastases.

Eur J Gastroenterol Hepatol. 2015; 27(5):527-35.

Kim M et al.

The Role of Plasma Chromogranin A as Assessment of Treatment Response in Non-functioning Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors.

Cancer Res Treat. 2016; 48(1):153-61

Attwood SE et al.

Long-term safety of proton pump inhibitor therapy assessed under controlled, randomised clinical trial conditions: data from the SOPRAN and LOTUS studies.

Aliment Pharmacol Ther. 2015; 41(11):1162-74.

Rehfeld JF.

Chromogranin A in gastrinomas: Promises and pitfalls.

Clin Chim Acta. 2015; 15;446:15-20.

P Glinicki et al.

Chromogranin A (CgA): structure, biological function, pre-analytical, analytical, and clinical aspects of its measurement in blood

Postepy Nauk Medycznych. 2014; XXVII(12):847-51.

Piotr Glinicki et al.

Comparison of chromogranin A levels in serum and plasma (EDTA2K) and the respective reference ranges in healthy males

Endocrine Abstracts. 2014; (35):532

Hijioka M et al.

Serum chromogranin A is a useful marker for Japanese patients with pancreatic neuroendocrine tumors.

Cancer Sci. 2014; 105(11):1464-71.

Modlin IM et al.

Neuroendocrine tumor biomarkers: current status and perspectives.

Neuroendocrinology. 2014; 100(4):265-77.

Onal IK et al.

Chromogranin A as a marker of disease activity in inflammatory bowel disease.

Scand J Gastroenterol. 2014; 49(12):1501-2.

Pedersen L et al.

Preanalytical factors of importance for measurement of Chromogranin A.

Clin Chim Acta. 2014; 436:41-4.

Chromogranin A New Gen. ELISA

SCHEMA PROTOCOLLO DI LABORATORIO

Non usare questa scheda senza aver letto tutto il foglietto illustrativo.

➡ **Prediluire** i calibratori, i campioni e i controlli in provette di plastica a 1:51.

TECAN.



Prediluizione 1:51

1. **DISPENSARE** 1 mL di diluente nelle provette di plastica

DIL CAL 0

2. **AGGIUNGERE** 20 µL di ogni calibratore, controllo o campione e agitare delicatamente con un agitatore tipo Vortex

CAL CONTROL

3. **DISPENSARE** i campioni nella micropiastra

CAL CONTROL

↓ Dispensare 200 µL di **calibratori, campioni o controlli prediluiti a 1/51** nel DIL/CAL0 in ogni pozzetto (distribuzione in duplicato).

+ 200 µL



4. **AGITAZIONE**

↓ Coprire con film adesivo e incubare per 2 ore +/-5' a temperatura ambiente (18-25 °C)

↻ 700 rpm 1



5. **LAVARE I POZZETTI** (vedere § 7.2.1)

TWEEN 20

Preparare la soluzione di lavaggio diluendo 9 mL di Tween 20 in 3 L di acqua distillata. Rimuovere il contenuto dei pozzetti.

Dispensare 300 µL di soluzione di lavaggio preparata in ogni pozzetto.

Ripetere i passaggi altre 2 volte per un totale di 3 cicli di lavaggio.

Terminare con un'aspirazione. Il volume residuo della soluzione di lavaggio deve essere il più ridotto possibile. È possibile picchiettare delicatamente la piastra capovolta per rimuovere il liquido residuo.

3 x 0,7 ml



6. **DISPENSARE IL CONIUGATO**

CONJ

Dispensare 200 µL di coniugato HRP in tutti i pozzetti

+ 200 µL



7. **INCUBARE**

Coprire con film adesivo e incubare per 2 ore +/-5' a temperatura ambiente (18-25 °C) **agitando a 700 rpm.**

↻ 700 rpm

2 ore +/-



8. **LAVARE I POZZETTI** (vedere § 7.2.1)

TWEEN 20

Preparare la soluzione di lavaggio diluendo 9 mL di Tween 20 in 3 L di acqua distillata. Rimuovere il contenuto dei pozzetti.

Dispensare 300 µL di soluzione di lavaggio preparata in ogni pozzetto.

Ripetere i passaggi altre 2 volte per un totale di 3 cicli di lavaggio.

Terminare con un'aspirazione. Il volume residuo della soluzione di lavaggio deve essere il più ridotto possibile. È possibile picchiettare delicatamente la piastra capovolta per rimuovere il liquido residuo.

3 x 0,7 ml



9. **DISPENSARE IL SUBSTRATO**

SUBS TMB

↓ Dispensare 100 µL di TMB in tutti i pozzetti. Coprire con il film adesivo. Non è necessaria l'incubazione al buio. Lasciare sviluppare la reazione colorimetrica per **10 min esatti** a temperatura ambiente (18-25 °C) **agitando 700 rpm**

+ 100 µL

↻ 700 rpm

10 min



10. **DISPENSARE LA SOLUZIONE DI ARRESTO**

STOP SOLN

↓ Arrestare la reazione aggiungendo 50 µL di soluzione di arresto in tutti i pozzetti.

+ 50 µL



11. **LEGGERE**

↑ Leggere l'assorbanza a **450 nm**. Eseguire una seconda lettura (opzionale) dell'assorbanza ad una lunghezza d'onda di 620 nm (tra 610 e 650 nm). Utilizzare un fit **logistico bilanciato a 4 parametri** per l'interpolazione dei dati.

450 nm



Cisbio Bioassays - Parc Marcel Boiteux - BP 84175 - 30200 Codolet / Francia
Telefono: +33 (0) 4 66 79 68 32 - Fax: +33 (0) 4 66 79 67 50 - E-mail: Cisbio.iva@revvity.com



IBL International GmbH - Flughafenstrasse 52a - 22335 Hamburg, Germany
Phone : +49 (0) 40 53 28 91-0 - Fax: +49 (0) 40 53 28 91-11 - E-mail: IBL@tecan.com; www.tecan.com/ibl



FRA

Modifications par rapport à la version précédente :
Mise à jour de l'adresse email de l'assistance "in vitro".

ENG

Changes from the previous version:
Update of the IVA email address.

DEU

Änderungen gegenüber der Vorgängerversion:
Aktualisierte E-Mail-Adresse für "In-vitro"-Support

ITA

Modifiche rispetto alla versione precedente:
Aggiornamento dell'indirizzo e-mail del supporto in vitro

SPA

Cambios desde la versión anterior:
Dirección de correo electrónico de asistencia in vitro actualizada

	FRA	ENG	DEU	ITA	SPA
	Explication des symboles	Explanation of symbols	Erläuterung der Symbole	Spiegazione dei simboli	Significado de los símbolos
	Limite de température	Temperature limitation	Temperaturbegrenzung	Limiti di temperatura	Limitación de temperatura
LOT	Code du lot	Batch code	Chargencode	codice lotto	Código de lote
	Utiliser jusqu'au	Use by	Verwendbar bis	utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Consulter la notice d'utilisation	Consult instructions for use	Das Handbuch zu Rate ziehen	Consultare le istruzioni per l'uso	Consúltense las instrucciones de uso
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro	In vitro medical device	In-VitroDiagnostische Anwendung	Dispositivo Diagnostico In Vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricant	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante
	Distributeur	Distributor	Verteiler	Distributore	Distribuidor
REF	Référence du catalogue	Catalogue number	Katalog Nr.	N. catalogo	Número de catálogo
	Suffisant pour	Sufficient for	Ausreichend für	Sufficiente per	Válido para
	Conserver à l'abri de la lumière du soleil	Keep away from sunlight	Vor Sonnenlicht schützen	Conservare al riparo dalla luce solare	Manténgase fuera de la luz del sol
	Risques biologiques	Biological Risks	Biogefährdung	Rischio biologico	Riesgos biológicos
CONJ	Conjugué	Conjugate	Komplex	Coniugato	Conjugado
CAL	Calibrateur	Calibrator	Kalibrator	Calibratore	Calibrador
CONTROL	Contrôle	Control	Kontrolle	Controllo	Control
TWEEN 20	Solution concentrée	Concentrated solution	Konzentrierte Lösung	Soluzione concentrata	Solución concentrada
MICROPLATE	Microplaque	Microplate	Mikrotiterplatte	Micropiastra	Microplaca
DIL CAL	Diluant	Diluent	Verdünnungs-mittel	Diluyente	Diluyente
SUBS TMB	Substrat	Substrate	Substrat	Sustrato	Substrato
STOP SOLN	Solution d'arrêt	Stop solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada