

## Une nouvelle version du kit ELISA CISBIO Chromogranine A (# : CGA-ELISA-NG)

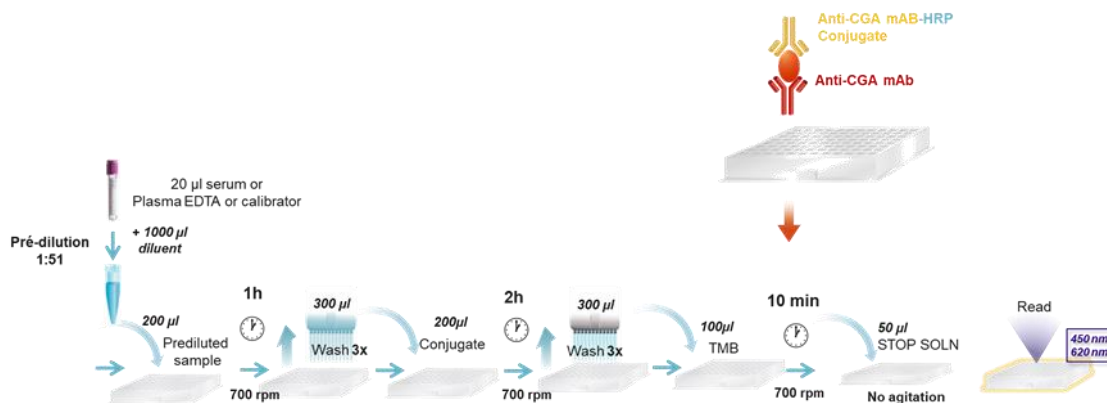
### Introduction

Mis au point au début des années 2000 par CISBIO, le dosage de la chromogranine A (CGA) utilisant la technologie RIA a constitué un marqueur de choix pour les tumeurs neuroendocrines (TNE). En 2008, pour suivre l'évolution des tests de laboratoire, un kit CGA ELISA a été ajouté à nos outils de diagnostic.

En 2022, une nouvelle version de ce kit est disponible (CGA-ELISA-NG) et améliore encore la qualité des tests pour ce marqueur tumoral. Cette version est désormais entièrement compatible avec la nouvelle réglementation européenne (IVDR 2017/746).

Tous les paramètres analytiques ont été optimisés pour répondre au mieux aux nouvelles exigences. Les temps d'incubation ont été réduits, les tests de dilution et de récupération ont été améliorés, la robustesse du kit a été optimisée. Les paragraphes suivants présentent ces améliorations.

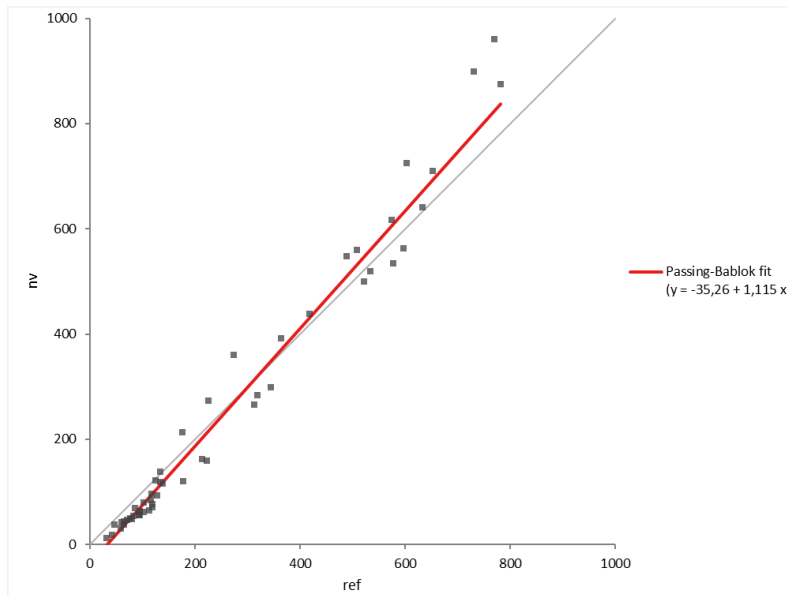
Le nouveau kit utilise les mêmes anticorps que les précédents afin de conserver la même spécificité. Les anticorps sont maintenant produits en culture cellulaire, ce qui réduit l'utilisation d'animaux.



### Corrélation entre CGA-RIA-CT et CGA-ELISA-NG:

L'expérience a été réalisée sur deux lots de CGA-ELISA-NG et deux lots de CGA-RIA-CT. 109 échantillons de sérum couvrant toute la gamme d'étalonnage ont été utilisés.

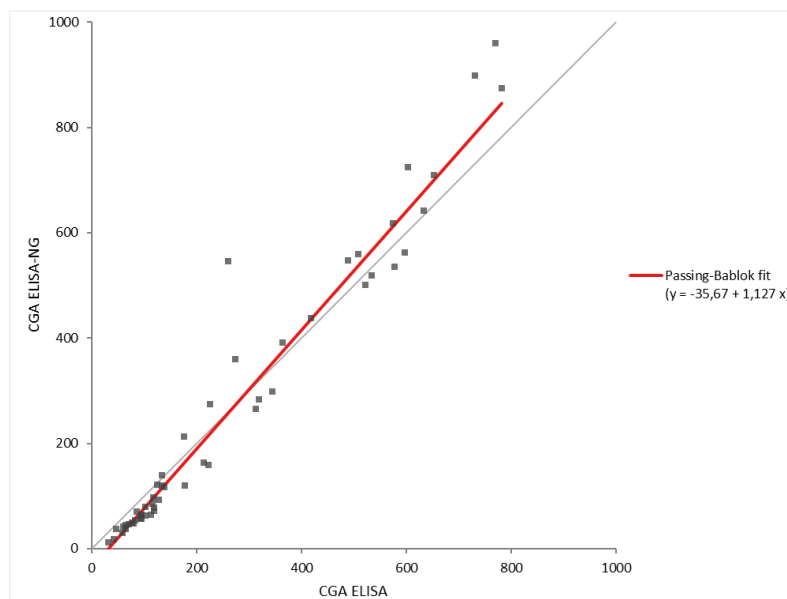
Les résultats ci-dessous montrent une bonne corrélation entre les kits avec une pente proche de 1,0, facilitant ainsi la transition entre le kit CGA-RIA-CT et notre nouveau kit CGA-ELISA-NG.



Correlation - r | 0,988

### **Corrélation entre CGA-ELISA et CGA-ELISA-NG:**

Une corrélation similaire a été effectuée en utilisant 53 échantillons couvrant toute la gamme de concentrations. Le petit écart sur la pente est lié à l'ajustement du nouveau kit pour obtenir des performances de dilution optimales le long de la courbe d'étalonnage. Néanmoins, la corrélation est bonne. Ici encore la transition entre le kit CGA-ELISA et CGA-ELISA-NG est facilitée.



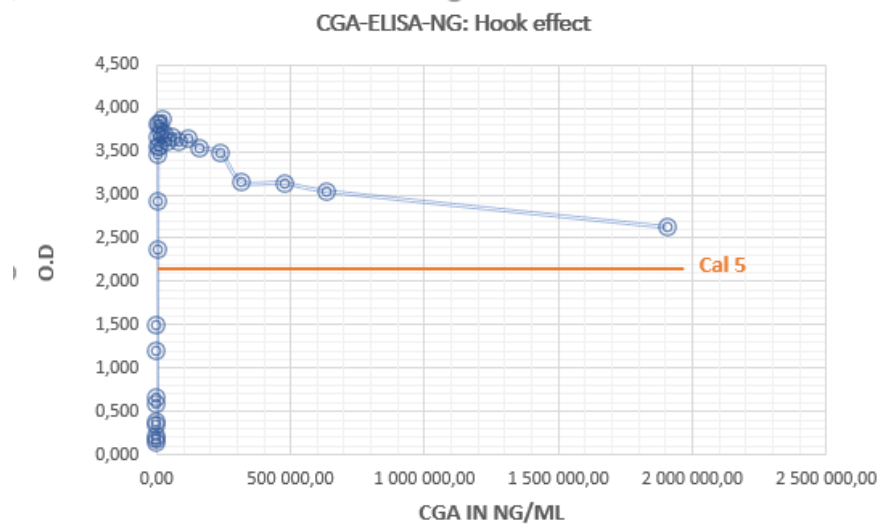
Correlation - r | 0,977

### **Caractéristiques analytiques essentielles du kit CGA-ELISA-NG :**

#### **Effet crochet:**

Dans cette expérience, l'antigène CGA est dilué dans du sérum humain normal pour couvrir une gamme de concentration de CGA allant de 2 millions de ng/mL à 0 ng/mL.

On peut voir sur le graphique ci-dessous que, jusqu'à 2 millions de ng/mL, aucun effet crochet n'apparaît ce qui rend ce kit parfaitement compatible avec des concentrations sériques très élevées de CGA évitant ainsi les problèmes de faux négatifs. De l'avis des cliniciens, les valeurs pathologiques les plus élevées que l'on peut rencontrer sont inférieures à un million de ng/mL (Dr L. Chardon HCL Lyon, France 2021 réunion interne).



#### Recouvrements et dilutions:

Afin de contrôler la similarité de la réponse du test entre l'antigène exogène et l'antigène sérique, des tests de récupération ont été réalisés. Les résultats montrent une parfaite similitude des dosages quelle que soit l'origine de l'antigène répondant ainsi aux normes internes de Cisbio en vigueur (90%-110%).

	Recoveries		
	[CGA] ng /mL	% Recovery Min	% Recovery Max
Sample 1	200	98,1%	105,2%
Sample 2	401	100,8%	106,2%
Sample 3	770	97,5%	100,1%
Sample 4	170	96,4%	105,2%

Comme les TNEs peuvent être associées à des concentrations sériques très élevées de CGA, les échantillons hors limites doivent être dilués. Pour s'assurer que les dilutions ne compromettent pas la précision des résultats fournis, des tests de dilution en cascade ont été réalisés (1/2 ; 1/4, 1/8, 1/16).

Les résultats ci-dessous montrent de très bonnes performances de dilution avec une récupération proche de 100%, une interpolation de la pente proche de 1,0 et un coefficient de corrélation également proche de 1,0.

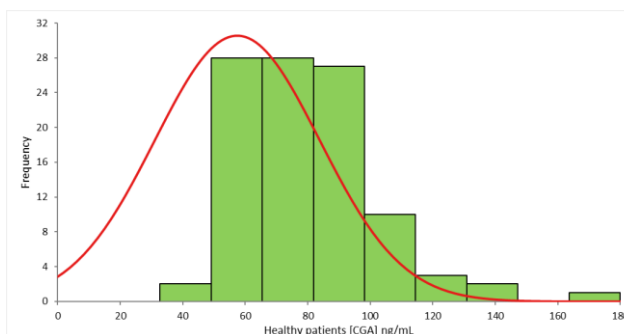
	Dilutions			
	[CGA] ng /mL	Average % Recovery	Interp. Slope	Correl Coef
Sample 1	615	93,8%	1,003	0,999
Sample 2	405	98,7%	1,006	1,000
Sample 3	845	96,0%	1,000	1,000
Sample 4	902	88,5%	0,999	0,999

### Ineterférences liées à la biotine:

En raison de la résurgence de taux sériques élevés de biotine liés à des traitements ou de compléments alimentaires, le kit a été évalué et aucune interférence significative jusqu'à des concentrations de biotine de 600 ng/mL n'a été montrée.

### Valeurs normales:

Sur la base d'une sérothèque de 101 échantillons sains, la distribution des valeurs normales est présentée ci-dessous. La valeur du 95e percentile, qui peut être considérée comme une valeur limite, est estimée à 101 ng/mL.



### *Validation Clinique du kit:*

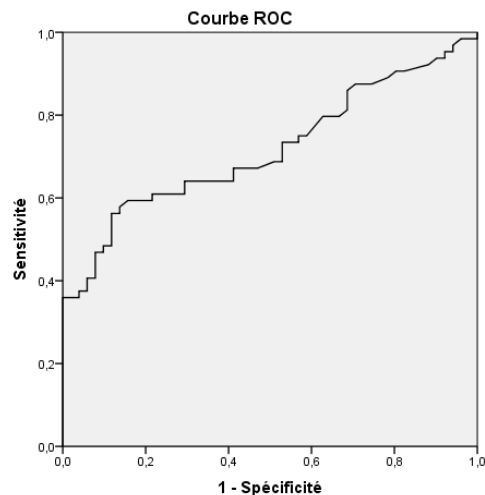
Une étude rétrospective a été réalisée en partenariat avec le laboratoire de biologie médicale des Hospices Civils de Lyon sous l'égide du Pr Thomas Walter, spécialiste des tumeurs neuroendocrines du système digestif (Rapport disponible sur demande).

Le tableau ci-dessous présente le type précis de populations étudiées (groupes positifs et négatifs) en fonction de la pathologie ou des traitements administrés.

Variables	NEN patients, n=229 n available	« Control », n=100 n available	p		
Female, n (%)	229	107 (47%)	100	52 (52%)	0.38
Age in years, median (range)	229	65 (19-93)	100	61 (18-85)	<0.001
Chronic gastritis, n (%)	229	3 (1%)	100	3 (3%)	0.29
Chronic congestive heart failure, n (%)	229	0 (0%)	100	1 (1%)	0.13
Renal deficiency, n (%)	222	39 (18%)	93	17 (18%)	0.88
Inflammatory syndrome, n (%)	147	57 (39%)	63	42 (67%)	<0.001
Concurrent PPI, n (%)	229	44 (19%)	100	40 (40%)	<0.001
MEN1 syndrome, n (%)	227	14 (6%)	100	0 (0%)	<0.001
Concurrent somatostatin analogs, n (%)	229	123 (54%)	100	0 (0%)	<0.001
Biological parameters, median (range)					
CRP in mg/mL	147	3 (1-162)	63	11 (1-130)	0.003
GFR (CKD-EPI) in mL/mn	221	88 (7 to>90)	92	>90 (8 to>90)	0.56
Median CgA by RIA in ng/mL (range)	229	176 (20-431,846)	23	102 (35-2,365)	0.58
Median CgA by ELISA (range)	229	155 (0-227,586)	100	82 (18-1,995)	0.09
CgA ELISA	229		100		<0.001
< 1 ULN ( $\leq 94$ ng/mL)		87 (38%)		56 (56%)	
1-2 ULN (95-188 ng/mL)		33 (14%)		20 (20%)	
> 2 ULN (>188 ng/mL)		109 (48%)		24 (24%)	

NEN, neuroendocrine neoplasm; GFR, glomerular filtration rate; CRP, C-reactive protein; CgA, chromogranin A; PPI, proton pump inhibitors.

A l'issue de cette étude, une courbe ROC a été réalisée en excluant les patients présentant au moins 1 facteur de risque faussement positif (insuffisance cardiaque, insuffisance rénale, IPP, gastrite chronique et NEM 1) et ceux sous traitements par analogues de la somatostatine (risque de faux négatif). Au total, 64 patients atteints de NEM et 51 témoins ont été pris en considération. D'autres paramètres classiques ont également été calculés (Spécificité, Sensibilité, AUC, PPV, NPV)



Les segments diagonaux sont générés par des liaisons.

- Power of the study: > 80%
- Significance of the study:  $p < 0,05$
- Specificity=0,78
- Sensitivity=0,61
- AUC=0,72 (0,62-0,81)
- PPV=0,59
- NPV=0,80

Ces données confirment les recommandations internationales démontrant l'intérêt du dosage de la CGA dans le suivi des GEP-NNE (biomarqueur pronostique et marqueur précoce de réponse à un traitement donné).

## **Bibliographie:**

Tsai et al,

**The prognostic and predictive role of CGA in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors- A single center experience**  
*Forntiers in oncology*, 11:article 741096, 2021

Weber et al,

**Antibody-free quantification of serum CGA by targeted mass spectrometry**  
*Clinical Chemistry* 67: 12, 1618-1627, 2021

Dam et al,

**Prospective study of CGA as a predictor of progression in patients with pancreatic, small intestine and unknown primary neuroendocrine tumors**  
*Neuroendocrinology* 110: 217-224, 2020

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.