



Cisbio Bioassays  
 Parc Marcel Boiteux – BP 84175 – 30200 Codolet / Francie  
 Tel.: + 33 (0) 4 66 79 67 00  
 Fax: + 33 (0) 4 66 79 67 50  
 E-mail: Cisbio.iva@PERKINELMER.com

REF

CGA-ELISA-NG



[www.cisbio.com/ivd-pi](http://www.cisbio.com/ivd-pi)

## Návod k použití – CZE



Reference dokumentu: 4. Únor 2023

### 1. NÁZEV A URČENÉ POUŽITÍ

Produkt CGA-ELISA-NG je tvořen soupravou pro kvantitativní enzymatickou detekci lidského chromograninu A (CGA) v séru nebo plazmě EDTA u dospělých osob.

Sada CGA-ELISA-NG je určena k použití jako diagnostická pomůcka při stanovení přítomnosti a progresu neuroendokrinních novotvarů (NNE) typu GEP (Gastro-EnteroPancreatic) u dospělých osob.

Souprava je určena pro profesionální účely a pro ruční použití.

### 2. ÚVOD

CGA je hydrofilní a kyselý protein o 439 aa (49 kD) přítomný v chromafinních granulích neuroendokrinních buněk. Patří do rodiny graninů. CGA působí jako prohormon. Jeho proteolýza je klíčovou složkou jeho fyziologie. Tato degradace uvolňuje biologicky aktivní peptidy (vazostatin, chromostatin, pankreastatin, parastatin), které mají různé parakrinní a autokrinní funkce. Tato proteolýza je tkáňově specifická a fragmentace proteinu se bude lišit v závislosti na jeho umístění. Primárně se odehrává v buňce, uvnitř chromafinních granulí. V imunohistochemii naznačuje přítomnost CGA v nádorových buňkách neuroendokrinní původ nádoru. U zdravých jedinců se vyskytují cirkulující CGA a získané hodnoty nezávisí na věku a pohlaví. Relevance stanovení CGA ve vzorcích séra byla prokázána pro endokrinní rakoviny se zvláště významným zvýšením u gastro-entero-hepatálních endokrinních nádorů. Studie prokázaly, že hladiny cirkulujícího CGA souvisely s neuroendokrinní diferenciací a byly spojeny s nádorovou hmotou, aniž by však nahrazovaly specifitější sekrece.

### 3. PRINCIP

Souprava CHROMOGRANIN A je imunoanalýza typu ELISA. První monoklonální protilátka imobilizovaná na mikrotitrační destičce zachycuje proteiny CGA obsažené v kalibrátorech a vzorcích. Po promytí jsou zachycené proteiny rozpoznány druhou monoklonální protilátkou konjugovanou s HRP (křenovou peroxidázou). Po druhé inkubaci se nenavázaná činidla odstraní promytím. Poté je kolorimetrická reakce zahájena přidáním HRP substrátu, TMB (3, 3', 5, 5' tetramethylbenzidin). Jakmile se reakce zastaví, odečte se optická hustota (OD) každé jamky při 450 nm. Naměřené hodnoty OD jsou úměrné koncentraci CGA obsažené v kalibrátorech a vzorcích.

### 4. ČINIDLA

Každá souprava obsahuje dostatek činidel pro 96 testů (včetně vytvoření kalibrační křivky). Datum ukončení použitelnosti je vyznačeno na vnějším štítku.

ČINIDLA	SYMBOLY	MNOŽSTVÍ	UCHOVÁVÁNÍ
<b>MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA:</b> Připravena k použití. Myší monoklonální protilátka anti-CGA umístěna na dno jamky,  Hovězí albumin.		1 destička s 96 jamkami	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti.  Po otevření: nepoužité proužky lze uchovávat po dobu 6 týdnů v dodaném plastovém řádně utěsněném sáčku s přiloženým vysoušedlem, a to do data ukončení použitelnosti.

ČINIDLA	SYMBOLY	MNOŽSTVÍ	UCHOVÁVÁNÍ
<b>KONJUGÁT:</b> Připraven k použití Myší monoklonální protilátka anti-CGA navázaná na HRP, Neimunizované myší imunoglobuliny, stabilizátory a konzervační látky.	<b>CONJ</b>	1 ampule 22 ml	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po otevření: konjugát lze uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu 6 týdnů do data ukončení použitelnosti.
<b>KALIBRÁTORY:</b> Lyofilizované. Rekombinantní lidský CGA, lidské sérum, EDTA, konzervační látka. 75–140–300–600–1000 ng/ml* Rekonstitujte s použitím 0,25 ml destilované vody.	<b>CAL</b>	5 ampulí	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po rekonstituci: neuchovávejte déle než jednu hodinu při pokojové teplotě, rozdělte do alikvotních dílů a zamrazte při -20 °C na dobu 6 týdnů, do data ukončení použitelnosti.
<b>KONTROLY:</b> Lyofilizované. Rekombinantní lidský CGA, lidské sérum, EDTA, konzervační látka. 90–720 ng/ml ** Rekonstitujte s použitím 0,25 ml destilované vody.	<b>CONTROL</b>	2 ampule	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po rekonstituci: neuchovávejte déle než jednu hodinu při pokojové teplotě, rozdělte do alikvotních dílů a zamrazte při -20 °C na dobu 6 týdnů, do data ukončení použitelnosti.
<b>DIL/CAL0:</b> Připraveno k použití. Toto činidlo se používá jako inkubační pufr, ředidlo a kalibrátor 0. Pufr, hovězí sérum, azid sodný, EDTA.	<b>DIL</b> <b>CAL</b> 0	1 ampule 80 ml	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po otevření: ředidlo/CAL0 lze uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu 6 týdnů do data ukončení použitelnosti.
<b>TWEEN 20:</b> Koncentrovaný promývací roztok Naředte 9 ml látky Tween 20 ve 3 l destilované vody. Zlehka protřepejte.	<b>TWEEN 20</b>	1 ampule 10 ml	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po otevření: Tween 20 lze uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu 6 týdnů do data ukončení použitelnosti.
<b>SUBSTRÁT:</b> Připraven k použití 3, 3', 5, 5' tetramethylbenzidin: TMB	<b>SUBS</b> <b>TMB</b>	1 ampule 15 ml	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po otevření: TMB lze uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu 6 týdnů do data ukončení použitelnosti.
<b>ROZTOK K ZASTAVENÍ REAKCE:</b> Připraven k použití 0,5 M kyselina sírová.	<b>STOP</b> <b>SOLN</b>	1 ampule 22 mL	Před otevřením: 2–8 °C do data ukončení použitelnosti. Po otevření: roztok k zastavení reakce lze uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu 6 týdnů do data ukončení použitelnosti.
<b>PŘILNAVÁ FÓLIE NA MIKROTITRAČNÍ DESTIČCE</b>		3	
<b>PLASTOVÝ SÁČEK</b>		1	

(\*Výše uvedené hodnoty jsou pouze cílové hodnoty. Skutečné hodnoty jsou uvedeny na štítcích na ampulích.

(\*\*) Skutečné mezní akceptovatelné hodnoty jsou uvedeny na štítcích na ampulích.

## 5. OPATŘENÍ PŘI POUŽÍVÁNÍ

### 5.1. Bezpečnostní opatření

- Surové materiály lidského původu obsažené v činidlech této soupravy byly testovány licencovanými soupravami a bylo zjištěno, že jsou negativní pro protilátky anti-HIV 1, anti-HIV 2, anti-HCV a antigen HBs. Nelze však důsledně zaručit, že tyto produkty nemohou přenášet hepatitidu, virus HIV nebo jakoukoli jinou virovou infekci; se všemi materiály lidského původu včetně vzorků, které se mají analyzovat, musí být zacházeno jako s potenciálně infekčními.
- Nepipetujte ústy.

- Nekuřte, nejezte ani nepijte v místech, kde se manipuluje se vzorky nebo soupravami činidel. Při manipulaci se soupravami činidel nebo vzorky používejte jednorázové rukavice a poté si důkladně umyjte ruce. Dávejte pozor, aby nedošlo k postříkání.
- Vzorky a veškeré potenciálně kontaminované materiály dekontaminujte a zlikvidujte, jako by obsahovaly infekční látky. Nejlepší metodou dekontaminace je autoklávování po dobu minimálně jedné hodiny při 121,5 °C.
- Azid sodný může reagovat s olověným nebo měděným potrubím a může dojít ke vzniku vysoce výbušných azidů kovů.
- Při likvidaci odpadu jej důkladně nařeďte, abyste zabránili vzniku takových produktů.



CAL CONTROL CONJ

**VAROVÁNÍ**  
**H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci**

STOP SOLN

**Není klasifikován jako nebezpečný, ale jako roztok s kyselým PH**

DIL CAL 0

**Obsahuje azid sodný (< 0,1 %)**

## 5.2. Opatření při manipulaci

- Komponenty soupravy nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.
- Nemíchejte činidla různých šarží.
- Vyvarujte se mikrobiální kontaminace činidel a vody. Dodržujte inkubační doby.

## 6. SHROMAŽĎOVÁNÍ A PŘÍPRAVA VZORKU

### 6.1 Předanalytický

Analýza se provádí přímo na séru nebo plazmě EDTA. Pro analýzu provedenou do 4 hodin musí být vzorky uchovávány při pokojové teplotě (18–25 °C). Pro analýzu provedenou do 48 hodin musí být vzorky po odběru uchovávány při teplotě 2–8 °C. Pro analýzu po době delší než 48 hodin by měly být vzorky rozděleny do alikvotních dílů, které musí být uchovávány zmrazené (-20 °C) po dobu až 10 měsíců.

**Ředění:** Pokud existuje podezření na vysoké hladiny CGA, je třeba provést ředění pomocí ředícího pufru dodávaného se soupravou. Ředění se doporučuje provádět v jednorázových plastových zkumavkách.

### 6.2 Předředění vzorků, kontrol a kalibrátorů (1/51)

- **Všechny vzorky, kontroly a kalibrátory musí být před testováním 51krát ředěny** v ředidle **DIL CAL** 0 dodaném v soupravě. Směs jemně promíchejte pomocí mixéru Vortex.

## 7. POSTUP ANALÝZY

### 7.1 Požadované vybavení

- Přesné mikropipety nebo podobné vybavení s jednorázovými špičkami pro distribuci objemů o 20, 50, 100, 200 a 1 000 µl. Jejich kalibrace musí být pravidelně kontrolována.
- Destilovaná voda.
- Jednorázové plastové zkumavky.
- Mixér Vortex.

- Promývačka mikrotitračních destiček (doplňkově).
- Míchačka mikrodestiček.
- Čtečka mikrotitračních destiček schopná měřit absorbancí při 450 nm. Volitelně může být čtečka vybavena filtrem schopným odečítat absorbancí při vlnové délce mezi 610 nm a 650 nm (doporučeno 620 nm). Tento druhý odečet umožňuje opravit nedokonalosti mikrotitrační destičky.

## 7.2 Protokol

- Všechna činidla musí být nejméně 30 minut před použitím zahřáta na pokojovou teplotu (18–25 °C). Činidla jsou pipetována a dávkována do jamek při pokojové teplotě (18–25 °C).
- Každý kalibrátor, kontrola nebo vzorek musí být testovány dvojmo.
- Rekonstituujte ampule s kalibrátory a kontrolami. Pečlivě zkontrolujte, zda je veškerý lyofilizovaný produkt rozpuštěný, a použijte jej do hodiny po rekonstituci.

### 7.2.1 Příprava mycího roztoku **TWEEN 20**

- Pro získání spolehlivých a reprodukovatelných výsledků se doporučuje, aby se mycí kroky prováděly v souladu s pokyny; zbytkový objem mycího roztoku musí být co nejmenší. Doporučuje se použití promývačky mikrotitračních destiček.
  - Na přípravu mycího roztoku naředěte 9 ml látky Tween 20 **TWEEN 20** ve 3 l destilované vody. Pomalu promíchejte.

### 7.2.2 Pokyny – Dodržujte pořadí přidávání činidel

**Karta laboratorního protokolu viz poslední strana. Před použitím karty laboratorního protokolu je nutné si podrobně přečíst příbalový leták.**

1. Připravte a označte dostatečný počet zkumavek pro provedení předběžného naředění vzorků, kalibrátorů a kontrol
2. Určete počet proužků s mikrotitračními jamkami potřebných pro analýzu. Vyjměte nepoužité proužky z držáku rámečku a uložte je při teplotě 2–8 °C v řádně uzavřeném sáčku s přiloženým vysoušedlem.
3. **V plastových zkumavkách předem naředěte kalibrátory, vzorky a kontroly v poměru 1:51**
  - a. Do plastových zkumavek nadávkujte 1 ml ředidla **DIL** **CAL** 0
  - b. Přidejte 20 µl každého kalibrátoru, kontroly nebo vzorku a jemně promíchejte mixérem Vortex
4. Nadávkujte 200 µl předem naředěných kalibrátorů **CAL**, vzorků nebo kontrol **CONTROL** do každé jamky v poměru 1/51 do **DIL/CAL** 0 **DIL** **CAL** 0.
5. Přikryjte je přilnavou fólií, míchejte po dobu **1 h při 700 ot./min.** při pokojové teplotě (**18–25 °C**).
6. Jamky propláchněte následujícím způsobem:
  - a. Z jamek odstraňte jejich obsah
  - b. Nadávkujte 300 µl mycího roztoku **TWEEN 20** připraveného dle popisu v kapitole 7.2.1
  - c. Znovu 2 krát zopakujte kroky a. a b., abyste dosáhli celkem 3 mycích cyklů.
  - d. Nakonec proveďte odsátí. Zbývajícího mycího roztoku musí být co nejmeně. Pro odstranění zbytkové tekutiny je možné destičku jemně poklepat dnem vzhůru.
7. Nadávkujte **200 µl** konjugátu HRP **CONJ** do jamek.
8. Přikryjte je přilnavou fólií a **inkubujte 2 h +/- 5 min.** při pokojové teplotě (18–25 °C) a při současném **promíchávání při rychlosti 700 ot./min.**
9. Jamky promyjte tak, jak je uvedeno výše, a pak:
10. Nadávkujte 100 µl TMB **SUBS** **TMB** do jamek. Přikryjte je přilnavou fólií. Inkubace za tmy není nutná.
11. Nechejte probíhat kalometrickou reakci **přesně 10 min.** při pokojové teplotě (18–25 °C) a při stálém **míchání (700 ot./min.)**.
12. Zastavte reakci přidáním 50 µl roztoku k zastavení reakce **STOP** **SOLN** do všech jamek.

- Odečtěte absorbanci při 450 nm. Proveďte druhý (nepovinný) odečet absorbance při vlnové délce mezi 610 nm a 650 nm.

## 8. KONTROLA JAKOSTI

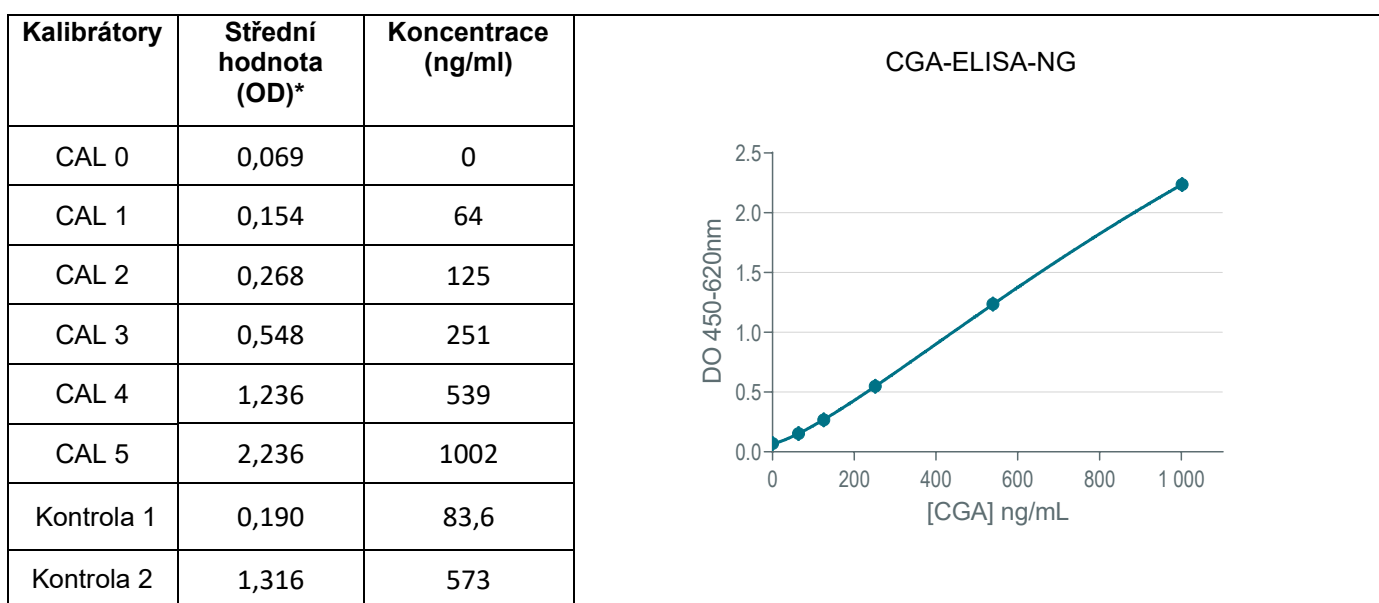
Správná laboratorní praxe (GLP) vyžaduje, aby byly vzorky kontroly jakosti použity v každé sérii analýz k ověření kvality získaných výsledků. Se všemi vzorky by mělo být zacházeno stejně a doporučuje se analýza výsledků pomocí vhodných statistických metod.

## 9. VÝSLEDKY

- Volitelná úprava OD: odečtěte načtené údaje při 620 nm od načtených údajů při 450 nm.
- Pro každý duplikát vypočítejte střední hodnotu absorbance (OD) kalibrátorů, kontrol a vzorků.
- Sestavte kalibrační křivku vynesením (korigovaných\*) středních hodnot OD kalibrátorů při 450 nm (osa y) vůči jejich koncentraci (osa x) uvedené na ampuli.
- Pro kalibrační křivky se doporučuje čtyřparametrový logistický 4PL matematický model s hmotností  $1/y^2$ . Jiné funkce redukce dat mohou poskytovat mírně odlišné výsledky.

Z křivky odečtěte koncentraci vzorků. Poměr předředění 1:51 je již vypočítán v koncentracích kalibrátoru.

*Příklad dat analýzy: pouze ilustrativní a za žádných okolností nesmí být nahrazovány výsledky získanými laboratorně.*



## 10. OMEZENÍ POSTUPU

- Vzorky vykazující zákal, hemolýzu, hyperlipémii nebo obsahující fibrin mohou poskytovat nepřesné výsledky.
- Neextrapolujte hodnoty vzorků nad rámec posledního standardu. Zřeďte vzorky s vysokou koncentrací a znovu otestujte.
- Nepoužívejte soupravu CGA-ELISA-NG pro určení cirkulace CGA u pacientů s probíhající léčbou na bázi léků inhibitorů protonové pumpy ani u pacientů se sníženou funkcí ledvin nebo s atrofickou gastritidou. Tito pacienti mají fyziologicky zvýšené hladiny cirkulujícího CGA nevázaných na přítomnost neuroendokrinního nádoru.
- Neinterpretujte výsledky u pacientů léčených analogy somatostatinu, tito pacienti mohou mít falešně nízké výsledky.

## 11. CHARAKTERISTIKY ÚČINKŮ

### 11.1 Nepřesnost

Vzorky	n	Koncentrace Střední hodnota (ng/ml)	V rámci sérií (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

Vzorky	n	Koncentrace Střední hodnota (ng/ml)	Mezi sériemi (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 výtěžnosti

K lidským sérum byla přidána známá množství CGA. Procenta výtěžnosti ve vzorcích se pohybovala od 90 do 110 %.

## 11.3 Zředovací test

Byly zředěny vzorky s vysokými koncentracemi. Získaná procenta výtěžnosti byla mezi 80 % a 120 %.

## 11.4 Specifičnost

Při testování vzorků séra s některou z následujících látek nebyla pozorována žádná interference:

- Glugakon (až 3 000 ng/ml)
- Gastrin (až 3 000 ng/ml)
- Chromogranin B (až 3 000 ng/ml)
- NSE (až 3 000 ng/ml)
- Pankreatický polypeptid (až 3 000 ng/ml)

## 11.5 Rozsah měření

Vzorky musí být měřeny v rozsahu mezi mezí stanovitelnosti a nejvyšší koncentrací kalibračního rozsahu, tj. mezi 30,6 a 1 000 ng/ml.

## 11.6 Mez detekce

Mez detekce (LOD nebo analytická citlivost) soupravy CGA-ELISA-NG je definována jako nejnižší detekovatelná koncentrace, která se liší od nuly s 95% pravděpodobností vypočítanou přičtením 2 směrodatných odchylek ke střední hodnotě 30 opakovaných analýz nulového kalibrátoru (CAL0). Bylo naměřeno 16,9 ng/ml.

Funkční citlivost je definována jako koncentrace měřená profilem nepřesnosti při CV rovném 20 %. Její hodnota se odhaduje na 30,6 ng/ml.

## 11.7. Hook effect

Až do 1 000 000 ng/ml se nevyskytuje žádný „hook effect“.

## 11.8. Interference

- Při dodržení protokolu analýzy uvedeného v návodu k použití není naměřena žádná interference s biotinem pro koncentraci v rozmezí od 0 do 600 ng/ml.
- POZNÁMKA: Výsledky ukázaly, že koncentrace biotinu při 1 200 ng/ml způsobila mírnou interferenci (-14% maximální odchylka) se soupravou CGA-ELISA-NG.
- Nebyla pozorována žádná interference s **bilirubinem a hemoglobinem** měřeným do příslušných koncentrací 0,15 mg/ml, 2 mg/ml.
- Nebyla pozorována žádná interference, když byly vzorky séra doplněny triglyceridy z hyperlipidemického lidského vzorku a testovány (743,4 mg/dl celkového TG).

**POZOR:** Imunoanalýza je chráněna proti potenciálním interferencím s **heterofilními protilátkami**, jako je HAMA a revmatoidní faktory (RF), přidáním ochrany (nespecifické myší imunoglobuliny). Nemůžeme však zaručit, že nikdy nedojde k falešně pozitivnímu nebo negativnímu výsledku kvůli přítomnosti heterofilních protilátek a revmatoidních faktorů ve vzorcích pacientů.

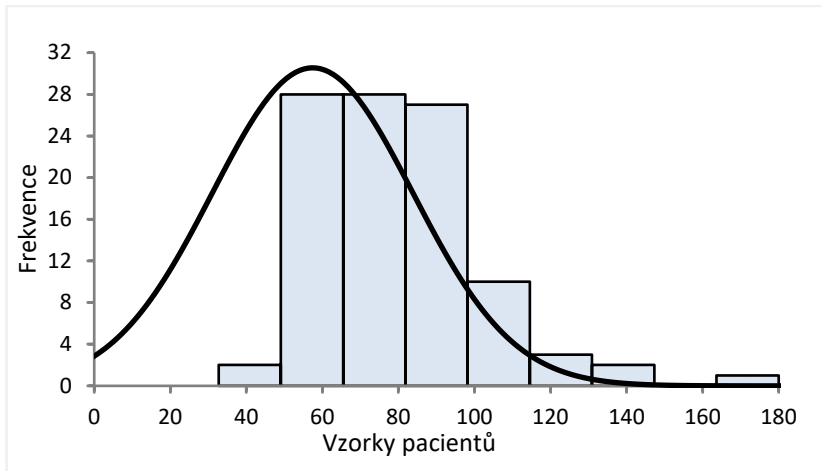
## 12. OČEKÁVANÉ NORMÁLNÍ HODNOTY

---

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vlastní rozmezí normálních hodnot v závislosti na typu běžně používaného vzorku. Chromogranin A je protein vázající vápník a jeho cirkulující hladiny jsou ovlivněny koncentrací Ca<sup>++</sup>. Zjištěné normální lidské hodnoty se mohou lišit v závislosti na tom, zda jsou testována séra odebraná do zkumavek pro odběr suché krve nebo do EDTA zkumavek na plazmu.

Hodnoty uvedené níže jsou uvedeny pouze jako indikace a byly získány ze vzorků séra u populace 101 předpokládaných zdravých subjektů.

Pro distribuci normálních hodnot uvedenou níže je 95. percentil umístěn na 101 ng/ml.



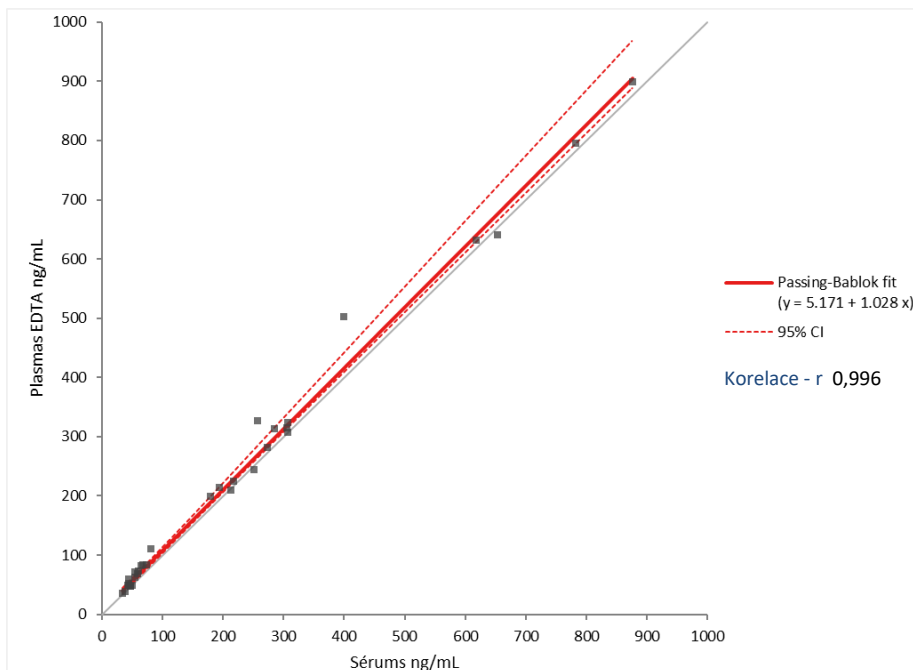
### **Normální hodnoty ve vzorcích plazmy EDTA:**

Ke stanovení plazmatické koncentrace CGA musí být použita níže uvedená korelace sérum/plazma.

Korelační rovnice:

$$[\text{Vzorek plazmy}] = 1,028 \times [\text{vzorek séra}] + 5,171$$

Pro extrapolaci hodnot na plazmě EDTA by tato rovnice měla být aplikována na normální hodnoty nalezené ve vzorcích séra,



## 13. BIBLIOGRAFIE

---

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.



## KARTA LABORATORNÍHO PROTOKOLU

Tuto kartu nepoužívejte, aniž byste si přečetli celý příbalový leták.

↪ V plastových zkuševkách předem naředěte kalibrátory, vzorky a kontroly v poměru 1:51.

Předředění 1:51

1. NADÁVKUJTE 1 ml ředidla do plastových zkuševek

DIL CAL 0

2. PŘIDEJTE 20 µl každého kalibrátoru, kontroly nebo vzorku a jemně promíchejte mixérem Vortex

CAL CONTROL

3. NADÁVKUJTE VZORKY DO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

CAL CONTROL

↘ Nadávkujte 200 µl předem naředěných kalibrátorů, vzorků nebo kontrol 1/51 do DIL/CAL0 do každé jamky (Duplicitní distribuce).

+ 200 µL



4. MÍCHÁNÍ

↘ Přikryjte je přilnavou fólií a míchejte 1 hod. při 700 ot./min. při pokojové teplotě (18–25 °C).

↘ 700

1h



5. JAMKY VYMYJTE (viz část 7.2.1)

TWEEN 20

Připravte mycí roztok zředěním 9 ml látky Tween 20 ve 3 l destilované vody.

Z jamek odstraňte jejich obsah.

Do každé jamky nadávkujte 300 µl připraveného mycího roztoku

Znovu 2krát zopakujte kroky, abyste dosáhli celkem 3 mycích cyklů

Nakonec proveďte odsátí. Zbývajících mycího roztoku musí být co nejméně. Pro odstranění zbytkové tekutiny je možné destičku jemně poklepat dnem vzhůru.

3 x 300 µl



6. NADÁVKUJTE KONJUGÁT

CONJ

Nadávkujte 200 µl konjugátu HRP do všech jamek

+ 200 µL



7. INKUBUJTE

Přikryjte přilnavou fólií a inkubujte 2 hod. +/- 5 min. při pokojové teplotě (18–25 °C) při současném míchání při 700 ot./min.

↘ 700

2 hod.



8. JAMKY VYMYJTE (viz část 7.2.1)

TWEEN 20

Připravte mycí roztok zředěním 9 ml látky Tween 20 ve 3 l destilované vody.

Z jamek odstraňte jejich obsah.

Do každé jamky nadávkujte 300 µl připraveného mycího roztoku.

Znovu 2 krát zopakujte kroky, abyste dosáhli celkem 3 mycích cyklů.

Nakonec proveďte odsátí. Zbývajících mycího roztoku musí být co nejméně. Pro odstranění zbytkové tekutiny je možné destičku jemně poklepat dnem vzhůru.

3 x 300 µl



9. NADÁVKUJTE SUBSTRÁT

SUBS TMB

↘ Nadávkujte 100 µl TMB do všech jamek. Přikryjte je přilnavou fólií. Inkubace za tmy není nutná.

Nechejte probíhat kalometrickou reakci přesně 10 min. při pokojové teplotě (18–25 °C) a při stálém míchání při 700 ot./min.

+ 100 µL



↘ 700

10 min



10. NADÁVKUJTE ROZTOK K ZASTAVENÍ REAKCE

STOP SOLN

↘ Zastavte reakci přidáním 50 µl roztoku k zastavení reakce do všech jamek.

+ 50 µL



11. ODEČET

↕ Odečtěte absorbanci při 450 nm. Proveďte druhý (nepovinný) odečet absorbance při vlnové délce 620 nm (mezi 610 a 650 nm).

Použijte vyváženou logistiku se 4 parametry vhodnou pro interpolaci dat.

450 nm





**FRA**

**Modifications par rapport à la version précédente :**  
Ajout du portugais

**ENG**

**Changes from the previous version:**  
Addition of Portuguese

**DEU**

**Änderungen gegenüber der Vorgängerversion:**  
Hinzufügen von Portugiesisch

**ITA**

**Modifiche rispetto alla versione precedente:**  
Aggiunta del portoghese

**SPA**

**Cambios desde la versión anterior:**  
Adición de portugués

**HUN**








**Változások az előző verzióhoz képest:**  
Portugál hozzáadása

**CES**

**Změny od předchozí verze:**  
Přidání portugalštiny

**POR**

**Alterações em relação à versão anterior:**  
Adição de português

	FRA	ENG	DEU	ITA	SPA	HUN	CES	POR
	Explication des symboles	Explanation of symbols	Erläuterung der Symbole	Spiegazione dei simboli	Significado de los símbolos	Jelmagyarázat	Vysvětlení symbolů	Significadodos símbolo
	Limite de température	Temperature limitation	Temperaturbegrenzung	Limiti di temperatura	Limitación de temperatura	Tárolási hőmérséklethatár	Mezní teplota skladování	Limite da temperatura de armazenagem
<b>LOT</b>	Code du lot	Batch code	Chargencode	codice lotto	Código de lote	Gyártási szám	Č. šarže	Lote
	Utiliser jusqu'au	Use by	Verwendbar bis	utilizzare entro	Fecha de caducidad	Felhasználható az alábbi dátumig :	Použitelné do	Utilizado por
	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	Olvassa el a használati utasítást	Přečtete si návod k použití	Consulte o manual de operações
<b>IVD</b>	Dispositif médical de diagnostic in vitro	In vitro medical device	In-VitroDiagnostis che Anwendung	Dispositivo Diagnostico In Vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	In vitro diagnosztika	Diagnostika in vitro	Dispositivo de diagnostico In Vitro
	Fabricant	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante	Gyártó	Vyrobil	Fabricado por
<b>REF</b>	Référence du catalogue	Catalogue number	Katalog Nr.	N. catalogo	Número de catálogo	Referenciakészítmény	Reference	Número do catalogo
	Suffisant pour	Sufficient for	Ausreichend für	Sufficiente per	Válido para	A kémcsövek száma	Počet zkumavek	Suficiente 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	Napfénytől védve tárolandó	Chraňte před slunečním světlem	Manter afastado da luz solar
	Risques biologiques	Biological Risks	Biogefährdung	Rischio biologico	Riesgos biológicos	Biológiai veszély	Biologické riziko	Riscos Biológicos
<b>CONJ</b>	Conjugué	Conjugate	Komplex	Coniugato	Conjugado	Kétfázisú elegy	Konjugát	Conjugado
<b>CAL</b>	Calibrateur	Calibrator	Kalibrator	Calibratore	Calibrador	Kalibrátor	Kalibrátor	Calibrador
<b>CONTROL</b>	Contrôle	Control	Kontrolle	Controllo	Control	Kontroll	Kontrola	Controle
<b>TWEEN 20</b>	Solution concentrée	Concentrated solution	Konzentrierte Lösung	Soluzione concentrata	Solución concentrada	Koncentrált oldat	Koncentrovaný roztok	Solução concentrada
<b>MICROPLATE</b>	Microplaque	Microplate	Mikrotiterplatte	Micropiastra	Microplaca	mikrolemez	Mikrotitrační destička	Microplaca
<b>DIL CAL</b>	Diluant	Diluent	Verdünnungsmittel	Diluyente	Diluyente	Hígítószer	ředidlo	Diluyente
<b>SUBS TMB</b>	Substrat	Substrate	Substrat	Sustrato	Substrato	Szubsztrátum	Substrát	Substrato
<b>STOP SOLN</b>	Solution d'arrêt	Stop solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada	Semlegesítő oldat	Zastavovací roztok	Solução de paragem