



Cisbio Bioassays

Parc Marcel Boiteux - BP 84175 - 30200 Codolet / Franciaors;

Telefon: + 33 (0) 4 66 79 67 00

Fax: + 33 (0) 4 66 79 67 50

E-mail: Cisbio.iva@PERKINELMER.com



CGA-ELISA-NG



www.cisbio.com/ivd-pi

Használati útmutató - HUN



A dokumentum hivatkozási száma: 04 - 2023. Február

1. NÉV ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

A CGA-ELISA-NG készítmény egy készlet a humán kromogranin A (CGA) kvantitatív enzimatikus kimutatására, felnőttektől származó szérumból vagy EDTA-plazmából.

A CGA-ELISA-NG készlet a diagnózis segítésére szolgál a GEP (gasztroenteropankreatikus) típusú neuroendokrin daganatok (NNE) jelenlétének és progressziójának meghatározásához felnőtteknél.

A készlet professzionális használatra készült, és kizárólag in vitro diagnosztikai alkalmazásra szolgál.

2. BEVEZETÉS

A CGA egy 439 aa (49 kD) hidrofil és savas fehérje, amely a neuroendokrin sejtek kromaffin granulumaiban található. A granin család része. A CGA prohormonként viselkedik. Fiziológiai hatásának kulcseleme a molekula proteolízise. Ezen bomlás során szabadulnak fel a különböző parakrin és autokrin funkciót ellátó, biológiailag aktív peptidek (vazosztatinok, kromosztatin, pankreasztatin, parasztatin). Ez a proteolízis szövetspecifikus, és a fehérje fragmentálódása a fehérje helyétől függően eltérő lesz. Elsősorban a sejtben, a kromaffin szemcsék belsejében zajlik. Az immunhisztokémiában a CGA jelenléte a daganatos sejtekben a daganat neuroendokrin eredetére utal. A CGA az egészséges emberek esetében a keringésben van jelen, és szintje az életkortól és a nemtől független. A szérummintákból történő CGA-meghatározás jelentőségét az endokrin daganatok esetében bizonyították, különösen jelentős emelkedésekkel a gasztroentero-hepatikus endokrin tumorok esetében. Vizsgálatok igazolták, hogy a keringő CGA-szintek összefüggésbe hozhatók a neuroendokrin differenciálódással és a tumor tömegével, anélkül azonban, hogy specifikusabb szekrétumokat helyettesítenének.

3. ALAPELV

A CHROMOGRANIN A készlet egy ELISA típusú immunoassay. A mikrotitráló lemezre kötött első monoklonális antitest megköti a kalibrátorokban és a mintákban található CGA-fehérjéket. A mosás után a megkötött fehérjéket egy második, HRP-vel (torma-peroxidáz) konjugált monoklonális antitest ismeri fel. A második inkubáció után a nem kötött reagenseket mosással eltávolítják. Ezután a kolorimetriás reakciót egy HRP-szubsztrát, TMB (3, 3', 5, 5' tetrametil-benzidin) hozzáadásával indítják el. A reakció leállítását után az egyes mérőhelyek optikai denzitását (OD) 450 nm-en olvassák le. A mért OD-értékek arányosak a kalibrátorokban és a mintákban lévő CGA-koncentrációval.

4. REAGENSEK

Minden készlet 96 teszthez elegendő reagenst tartalmaz (beleértve a kalibrációs görbe elkészítését is). A lejárat idő a külső címkén olvasható.

REAGENSEK	SZIMBÓLUMOK	MENNYISÉG	TÁROLÁS
MIKROTITRÁLÓ LEMEZ: Használatra kész. A mérőcella aljához kötött anti-CGA monoklonális antitest, Szarvasmarha albumin.		1 lemez 96 mérőcellával	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárat dátumig. Felbontás után: a fel nem használt csíkok 6 hétig tárolhatók a mellékelt műanyag tasakban, szárítószerrel, megfelelően lezárva, a lejárat időn belül.

REAGENSEK	SZIMBÓLUMOK	MENNYISÉG	TÁROLÁS
KONJUGÁTUM: Használatra kész Anti-CGA monoklonális egér antitest HRP-hez kötve, Nem immunizált egér immunglobulinok, stabilizátorok és tartósítószer.	CONJ	1 injekciós üveg 22 ml	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Felbontás után: a konjugátum 2–8 °C-on 6 hétig tárolható a lejárati időn belül.
KALIBRÁTOROK: Liofilizált. Rekombináns, humán CGA, humán szérum, EDTA, tartósítószer. 75 – 140 – 300 – 600 – 1000 ng/ml * 0,25 ml desztillált vízben kell feloldani.	CAL	5 injekciós üveg	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Feloldás után: ne tárolja egy óránál tovább szobahőmérsékleten, ossza alikvotokra és fagyassza le - 20 °C-on 6 hétig, a lejárati időn belül.
KONTROLLOK: Liofilizált. Rekombináns, humán CGA, humán szérum, EDTA, tartósítószer. 90 – 720 ng/ml ** 0,25 ml desztillált vízben kell feloldani.	CONTROL	2 injekciós üveg	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Feloldás után: ne tárolja egy óránál tovább szobahőmérsékleten, ossza alikvotokra és fagyassza le - 20 °C-on 6 hétig, a lejárati időn belül.
DIL/CALO: Használatra kész. Ez a reagens inkubációs pufferként, hígítóként és kalibrátor0-ként használatos. Puffer, szarvasmarha szérum, nátrium-azid, EDTA.	DIL CAL 0	1 injekciós üveg 80 ml	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Felbontás után: a hígítószer/CAL0 2–8 °C-on 6 hétig tárolható a lejárati időn belül.
TWEEN 20: Koncentrált mosóoldat Hígítson 9 ml Tween 20 oldatot 3 l desztillált vízben. Óvatosan rázza össze.	TWEEN 20	1 injekciós üveg 10 ml	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Felbontás után: a Tween 20 2–8 °C-on 6 hétig tárolható a lejárati időn belül.
SZUBSZTRÁT: Használatra kész 3, 3', 5, 5' tetrametil-benzidin: TMB	SUBS TMB	1 injekciós üveg 15 ml	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Felbontás után: a TMB 2–8 °C-on 6 hétig tárolható a lejárati időn belül.
LEÁLLÍTÓ OLDAT: Használatra kész 0,5 M kénsav.	STOP SOLN	1 injekciós üveg 22 ml	Felbontás előtt: 2–8 °C-on a lejárati dátumig. Felbontás után: a leállító oldat 2–8 °C-on 6 hétig tárolható a lejárati időn belül.
RAGASZTÓFÓLIA MIKROTITRÁLÓ LEMEZHEZ		3	
MÚANYAG TASAK		1	

(*)A fent megadott értékek csak célértékek, a tényleges értékek az injekciós üveg címkéjén szerepelnek.

(**) A tényleges elfogadási határértékek az injekciós üveg címkéjén szerepelnek.

5. ÓVINTÉZKEDÉSEK HASZNÁLATKOR

5.1. Biztonsági intézkedések

- A jelen készletben található reagensek által tartalmazott emberi eredetű alapanyagokat engedélyezett készletekkel tesztelték, és anti-HIV 1, anti-HIV2, anti-HCV antitestekre és a HBs antigénre negatívnak találták. Nem lehetséges azonban teljes biztonsággal garantálni azt, hogy ezek a termékek nem képesek átvinni át a hepatitist, a HIV vírust vagy más vírusfertőzéseket; minden emberi eredetű alapanyagot, beleértve a mérendő mintákat is potenciálisan fertőző anyagként kell kezelni.
- Szájjal nem szabad pipetázni.
- Tilos a dohányzás, az étel- és italfogyasztás azokon a területeken, ahol a minták vagy a készlet reagenseinek a kezelése történik. A készlet reagenseinek vagy a mintáknak a kezelése során viseljen eldobható kesztyűt, és utána alaposan mosson kezét. Kerülje a kifröccsenést.
- Minden mintát és potenciálisan szennyezett anyagot úgy dekontamináljon és semmisítsen meg, mintha azok fertőző anyagokat tartalmaznának. A legjobb dekontaminálási módszer az autoklávozás 121,5 °C-on, legalább egy órán át.

- A nátrium-azid reakcióba léphet a rézből készült csővezetékekkel, és rendkívül robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet.
- A hulladékok ártalmatlanításakor alaposan higítsa fel, hogy megakadályozza az ilyen termékek képződését.



CAL CONTROL CONJ

FIGYELMEZTETÉS
H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki

STOP SOLN

Nem minősül veszélyesnek, de savas PH-értékű oldat

DIL CAL 0

Nátrium-azidot tartalmaz (<0,1%)

5.2. Óvintézkedések használat alatt

- Ne használja a készletben lévő alkotórészeket a lejáratási idő után.
- A különböző gyártásból származó reagenseket nem lehet összekeverni.
- Kerülje a reagensek és a víz mikrobiológiai szennyeződését. Tartsa be az inkubációs időket.

6. MINTAVÉTEL ÉS -ELŐKÉSZÍTÉS

6.1 Analitikai vizsgálat előtt

Az assay közvetlenül szérummal vagy EDTA-plazmával végzendő. A 4 órán belül elvégzett vizsgálatához a mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C) kell tárolni. A 48 órán belül elvégzett vizsgálatához a mintákat a mintavételt követően 2–8 °C-on kell tárolni. A 48 órán túli vizsgálatához a mintákat alikvotokra kell osztani, amelyeket fagyaszttva (-20 °C-on) kell tárolni, akár 10 hónapig.

Hígítás: Ha magas CGA-szint gyanúja merül fel, a készlethez mellékelt hígító pufferrel fel kell hígítani a mintát. A hígításokat eldobható műanyag csövekben ajánlott végezni.

6.2. A minták, kontrollok és kalibrátorok előhígítása (1/51)

- **Minden mintát, kontrollt és kalibrátort 51-szer kell előhígítani** a készletben lévő **DIL CAL 0** hígítóval a vizsgálat előtt. Óvatosan keverje össze a keveréket Vortex keverővel.

7. AZ ASSAY MENETE

7.1. Szükséges felszerelés

- Precíziós mikropipetták vagy hasonló berendezések eldobható hegyekkel 20, 50, 100, 200 és 1000 µl a beméréshez. Ezek kalibrálását rendszeresen ellenőrizni kell.
- Desztillált víz.
- Eldobható műanyag csövek.
- Vortex keverő.
- Mikrotitráló lemezmosó (opcionális).
- Mikrolemeszázógép
- Mikrotitráló lemezolvasó, amely képes az abszorbancia mérésére 450 nm-en. Opcionálisan az olvasó felszerelhető egy olyan szűrővel, amely képes az abszorbanciát 610 nm és 650 nm közötti hullámhosszon (ajánlott 620 nm) leolvasni. Ez a második leolvasás lehetővé teszi a mikrotitráló lemez hibáinak kijavítását.

7.2. Protokoll

- A felhasználás előtt minden reagenst legalább 30 percig hagyni kell szobahőmérsékletre (18–25 °C) melegedni. A reagenseket szobahőmérsékleten (18–25 °C) pipettázza és adagolja a mérőcellákba.
- Minden kalibrátort, kontrollt vagy mintát két párhuzamosban kell vizsgálni.
- Oldja fel az injekciós üvegekben lévő kalibrátorokat és kontrollokat. Gondosan ellenőrizze, hogy a fagyasztva szárított termék teljes egészében feloldódott-e, és a feloldást követő egy órán belül használja fel.

7.2.1. A mosóoldat elkészítése **TWEEN 20**

- A megbízható és reprodukálható eredmények elérése érdekében ajánlott a mosási lépéseket a megadott módon elvégezni; a maradék mosóoldat mennyiségének a lehető legkisebbnek kell lennie. Mikrotitráló lemezmosó használata ajánlott.
 - A mosóoldat elkészítéséhez hígítson fel 9 ml Tween 20-at **TWEEN 20** 3 l desztillált vízben. Lassan keverje össze.

7.2.2. Utasítások - Kövesse a reagensek hozzáadásának sorrendjét

A laboratóriumi protokollkártyát lásd az utolsó oldalon. A laboratóriumi protokollkártya használata előtt végig és részletesen el kell olvasni a termékhez mellékelt tájékoztatót.

1. Készítsen elő és azonosítson kellő számú kémcsövet a minták, kalibrátorok és kontrollok előhígításának elvégzéséhez
2. Határozza meg a vizsgálathoz szükséges mikrotitráló csíkok számát. Vegye ki a fel nem használt csíkokat a kerettartóból, és tárolja őket 2–8 °C-on a visszazárható tasakban, szárítószerrel megfelelően lezárva.
3. **A kalibrátorokat, a mintákat és a kontrollokat műanyag csövekben 1:51 arányban hígítsa elő**
 - a. Adagoljon 1 ml **DIL** **CAL** 0 hígítót a műanyag csövekbe
 - b. Adjon hozzá 20–20 µl-t a kalibrálószerből, a kontrollból vagy a mintából, és óvatosan keverje össze vortex típusú keverővel
4. Adagoljon 200 µl előhígított **CAL** kalibrátort, mintát vagy **CONTROL** kontrollt 1/51 arányban a DIL/CAL0 **DIL** **CAL** 0-hoz minden egyes mérőcellába.
5. Fedje le a ragasztófoliával, és **1 órán át 700 fordulat/perc fordulatszám**on kevertesse szobahőmérsékleten (18–25 °C).
6. Mossa ki a mérőcellákat az alábbiak szerint:
 - a. Távolítsa el a mérőcellák tartalmát
 - b. Adagoljon 300 µl mosóoldatot **TWEEN 20**, amelyet a 7.2.1. fejezetben leírtak szerint készített el
 - c. Ismétlje meg az a. és b. lépést még 2-szer, összesen 3 mosási ciklusig.
 - d. Befejezésül szívja le a folyadékot. A maradék mosóoldat mennyiségének a lehető legalacsonyabbnak kell lennie. A maradék folyadék eltávolítása érdekében fejfelé fordítva meg lehet ütögetni a lemezt.
7. Adagoljon **200 µl** HRP konjugátumot **CONJ** az összes mérőcellába.
8. Fedje le a ragasztófoliával, és **inkubálja 2 óra +/- 5 percig** szobahőmérsékleten (18–25 °C) **700 fordulat/perc fordulatszám**on **történő kevertetés** mellett.
9. Ezután mossa ki a mérőcellákat a fentiek szerint:
10. Adagoljon 100 µl TMB-t **SUBS** **TMB** minden mérőcellába. Fedje le a ragasztófoliával. Sötétben történő inkubálás nem szükséges.
11. Hagyja a kolorimetriás reakciót lezajlani **pontosan 10 percig** szobahőmérsékleten (18–25 °C), **kevertetés mellett (700 rpm)**.
12. Állítsa le a reakciót oly módon, hogy 50 µl leállító oldatot **STOP** **SOLN** bemér az összes mérőcellába.
 - Olvassa le az abszorbanciát 450 nm-en. Végezze el az abszorbancia második leolvasását (opcionális) 610 nm és 650 nm közötti hullámhosszon.

8. MINŐSÉGELLENŐRZÉS

A helyes laboratóriumi gyakorlat (GLP) előírásai szerint minden méréssorozatban minőségellenőrző mintákat is kell tesztelni, ezzel ellenőrizve a kapott eredmények minőségét. Minden mintát azonos módon kell kezelni, és az eredmények elemzését a megfelelő statisztikai

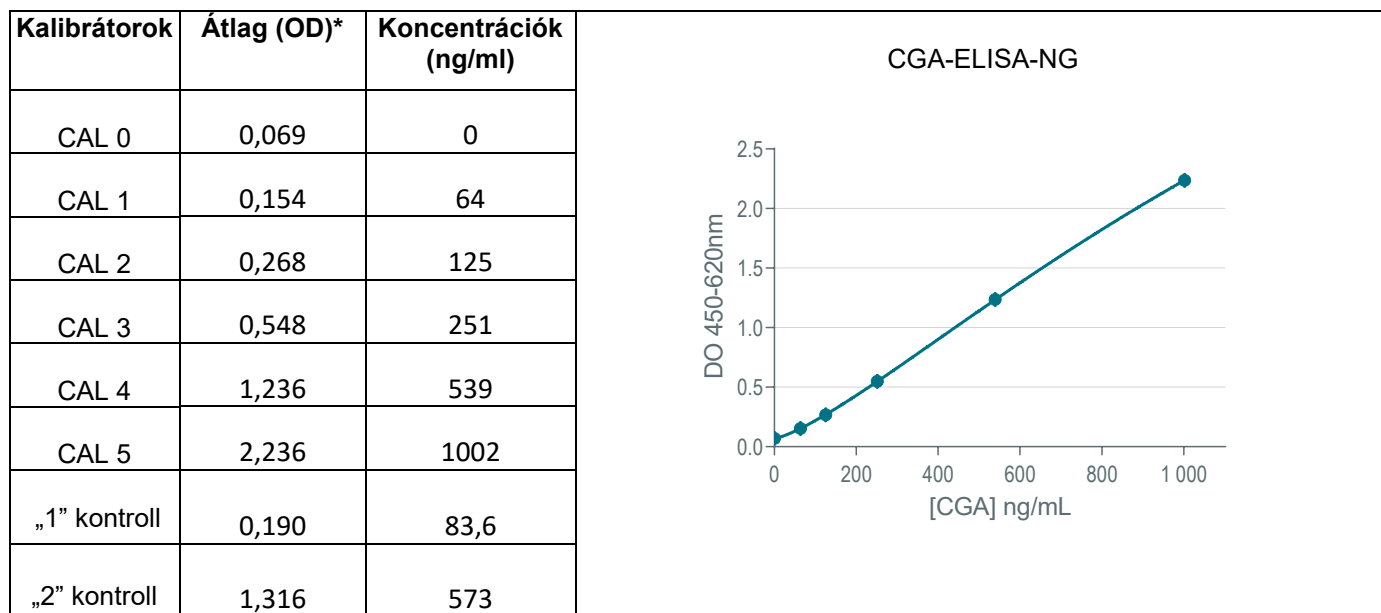
módszerekkel javasolt elvégezni.

9. EREDMÉNYEK

1. Opcionális OD korrekció*: vonja ki a 620 nm leolvasott értéket a 450 nm-en leolvasott értékből.
2. Minden egyes párhuzamos esetében számítsa ki a kalibrátorok, a kontrollok és a minták átlagos abszorbanciáját (OD).
3. Készítsen kalibrációs görbét a kalibrátorok (korrigált*) 450 nm-en mért átlagos OD-értékeinek (y-tengely) és az injekciós üvegen feltüntetett koncentrációjuknak (x-tengely) ábrázolásával.
4. A kalibrációs görbékhez a négyparaméteres logisztikai 4PL matematikai illesztési modell ajánlott $1/y^2$ súlyozással. Más adatredukciós funkciók ettől kissé eltérő eredményeket adhatnak.

Olvassa le a minták koncentrációját a görbéről. Az 1:51 előhígítási arány már bele van számítva a kalibrátorkoncentrációkba.

Példa az assay adatokra: csak illusztrációként szolgál, és semmilyen körülmények között nem helyettesíti a laboratóriumban kapott eredményeket.



10. AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

- A zavaros, hemolizált, hiperlipémiás vagy fibrin tartalmozó minták pontatlan eredményeket adhatnak.
- A mintaértékeket ne extrapolálja az utolsó standard értékén túli tartományba. Hígítsa fel a magas koncentrációjú mintákat, és végezze el újra a vizsgálatot.
- Ne használja a CGA-ELISA-NG készletet a keringő CGA meghatározására olyan betegeknél, akik protonpumpa-gátló gyógyszereken alapuló kezelésben részesülnek, illetve csökkent vesefunkciójú vagy atrófiás gastritiszben szenvedő betegeknél. Ezeknél a betegeknél a keringő CGA fiziológiailag emelkedett szintje nem függ össze neuroendokrin tumor jelenlétével.
- Ne értelmezze az eredményeket szomatostatint-analóg terápiaiban részesülő betegek esetében, ezeknél a betegeknél előfordulhat, hogy tévesen alacsony eredményeket kapnak.

11. TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

11.1 Pontatlanság

Minták	n	Koncentráció Átlag (ng/ml)	Sorozatban belül (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

Minták	n	Koncentráció Átlag (ng/ml)	Sorozatok között (CV%)
1	28	51,3	11,5
2	28	187	6,4
3	28	442	6,8
4	20	697	7,0

6	35	632	4,73
---	----	-----	------

11.2. Visszanyerési vizsgálat

Ismert mennyiségű humán CGA-t adtak hozzá humán szérumokhoz. A mintákban lévő anyag százalékos visszanyerési arányai 90–110% közötti tartományban voltak.

11.3. Hígítási vizsgálat

A magas koncentrációjú mintákat hígították. A kapott visszanyerési arányok 80% és 120% között voltak.

11.4. Specifititás

A szérumminták vizsgálatakor nem észleltek interferenciát a következő anyagokkal:

- Glükagon (3000 ng/ml koncentrációig)
- Gasztrin (3000 ng/ml koncentrációig)
- Kromogranin B (3000 ng/ml koncentrációig)
- NSE (3000 ng/ml koncentrációig)
- Hasnyálmirigy-polipeptid (3000 ng/ml koncentrációig)

11.5. Mérési tartomány

A mintákat a mennyiségi határérték és a kalibrációs tartomány legmagasabb koncentrációja közötti tartományban kell mérni, azaz 30,6 és 1000 ng/ml között.

11.6. Kimutatási határ

A CGA-ELISA-NG készlet kimutatási határa (LOD vagy analitikai érzékenység) definíció szerint az a legalacsonyabb kimutatható koncentráció, amely 95%-os valószínűséggel eltér a nullától, és amelyet úgy számítanak ki, hogy a nulla kalibrátor (CAL0) 30 ismétléses analizésének átlagértékéhez 2-szeres szórásnyi értéket adnak hozzá. A mért érték 16,9 ng/ml volt.

A funkcionális érzékenység definíció szerint az a koncentráció, amelyet a pontatlansági profil 20%-os CV mellett mér. Becslések szerint 30,6 ng/ml.

11.7. Hook-effektus

1 000 000 ng/ml koncentrációig nincs Hook-effektus.

11.8. Interferencia

- A használati útmutatóban megadott vizsgálati protokoll betartása esetén a 0 és 600 ng/ml közötti koncentrációban nem mérhető interferencia a biotinnal.
- MEGJEGYZÉS: Az eredmények azt mutatták, hogy a biotin 1200 ng/ml-es koncentrációja enyhe interferenciát okozott (-14%-os maximális torzítás) a CGA-ELISA-NG készlet esetében.
- A 0,15 mg/ml, 2 mg/ml koncentrációig mért **bilirubin és hemoglobin** esetében nem észleltek interferenciát.
- Nem észleltek interferenciát, amikor a szérummintákat hiperlipidémiás emberi mintából származó trigliceridekkel egészítették ki és vizsgálták (743,4 mg/dl összes TG).

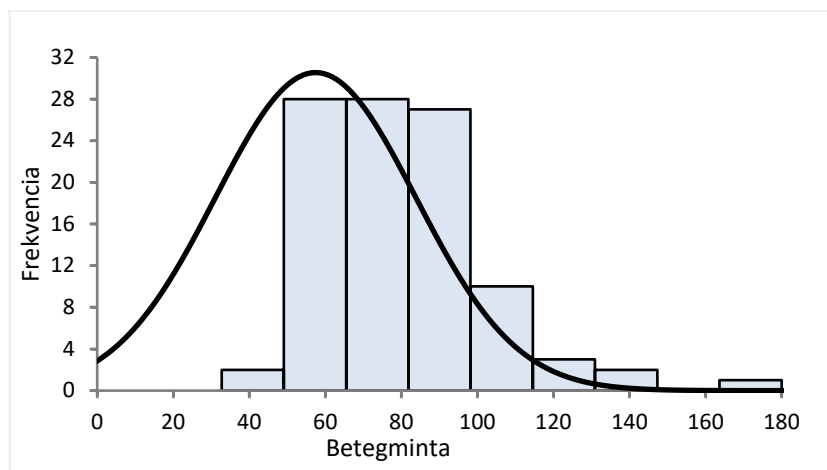
VIGYÁZAT: Az immunoassay védett a **heterofil antitestek**, mint például a HAMA és a reumafaktorok (RF) esetleges interferenciájával szemben egy védelem (nem specifikus egér immunglobulinok) hozzáadásával. Mindazonáltal nem garantálható, hogy a heterofil antitestek és reumafaktorok jelenléte miatt a betegmintáknál soha nem fordul elő hamis pozitív vagy negatív eredmény.

12. VÁRHATÓ NORMÁL ÉRTÉKEK

Minden laboratórium számára ajánlott, hogy határozza meg a saját normálérték-tartományát az általánosan használt mintatípustól függően. A kromogranin A kalciumkötő fehérje, és keringési szintjét a Ca⁺⁺ koncentráció befolyásolja. A talált humán normál értékek eltérhetnek attól függően, hogy száraz vérvételi csövekből vagy EDTA-plazmákból gyűjtött szérumokat vizsgálnak.

Az alábbiakban bemutatott értékek csak tájékoztató jellegűek, és 101 feltételezeten egészséges személyből álló populáció szérummintáival kaptuk őket.

Az alábbiakban bemutatott normálérték-eloszlás esetében a 95. percentilis 101 ng/ml-nél található.



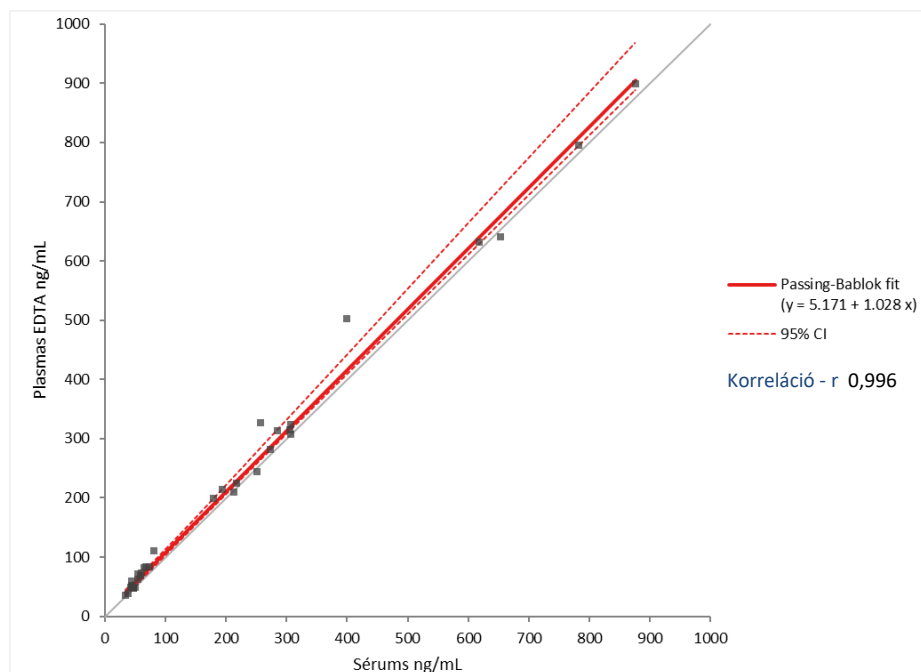
Normál értékek EDTA-plazmaminták esetén:

A CGA plazmakoncentrációjának meghatározásához az alábbiakban bemutatott szérum/plazma korrelációt kell használni.

A korrelációt leíró egyenlet a következő:

$$[\text{Plazmaminta}] = 1,028 \times [\text{Szérumminta}] + 5,171$$

Az EDTA-plazmára vonatkozó értékek extrapolálásához ezt az egyenletet kell alkalmazni a szérummintákon talált normál értékekre,



13. BIBLIOGRÁFIA

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.

**LABORATÓRIUMI PROTOKOLLKÁRTYA**

Ne használja ezt a kártyát a termékhez mellékelte teljes tájékoztató elolvasása nélkül.

➔ **A kalibrátorokat, a mintákat és a kontrollokat műanyag csövekben 1:51 arányban hígítsa elő.**

1:51 arányú

1. MÉRJEN BE 1 ml hígítószert a műanyag csövekbe

DIL CAL 0

2. ADJON HOZZÁ 20 µl-t minden kalibrátorból, kontrollból vagy mintából, és óvatosan keverje össze vortex típusú keverővel

CAL CONTROL

3. MÉRJE BE A MINTÁKAT A MIKROTITRÁLÓ LEMEZRE

CAL CONTROL

↓ Mérjen be 200 µl **előhígított kalibrátort, mintát vagy kontrollt 1/51 arányban** a DIL/CAL0-ba minden egyes mérőcellába (Bemérés egy párhuzamosban).

+ 200 µl

**4. KEVERTETÉS**↓ Fedje le a ragasztófoliával, és **1 órán át 700 fordulat/perc fordulatszámon kevertesse** szobahőmérsékleten (**18–25 °C**).

↻ 700

1

**5. MOSSA KI A MÉRŐCELLÁKAT** (lásd 7.2.1. pont)

TWEEN 20

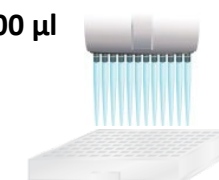
Készítse el a mosóoldatot oly módon, hogy 9 ml Tween 20-at felhígít 3 liter desztillált vízben. Távolítsa el a mérőcellák tartalmát.

Mérjen be 300 µl előkészített mosóoldatot minden egyes mérőcellába

Ismételje meg a lépéseket még 2-szer, összesen 3 mosási ciklusig

Befejezésül szívja le a folyadékot. A maradék mosóoldat mennyiségének a lehető legalacsonyabbnak kell lennie. A maradék folyadék eltávolítása érdekében fejjel lefelé fordítva meg lehet ütögetni a lemezt.

3 x 300 µl

**6. MÉRJE BE A KONJUGÁTUMOT**

CONJ

Mérjen be 200 µl HRP konjugátumot az összes mérőcellába

+ 200 µl

**7. INKUBÁLJA**Fedje le a ragasztófoliával, és inkubálja **2 órán (+/-5 perc) át** szobahőmérsékleten (18–25 °C) **700 fordulat/perc fordulatszámon történő kevertetés mellett.**

↻ 700

2 óra +/-

**8. MOSSA KI A MÉRŐCELLÁKAT** (lásd 7.2.1. pont)

TWEEN 20

Készítse el a mosóoldatot oly módon, hogy 9 ml Tween 20-at felhígít 3 liter desztillált vízben. Távolítsa el a mérőcellák tartalmát.

Mérjen be 300 µl előkészített mosóoldatot minden egyes mérőcellába.

Ismételje meg a lépéseket még 2-szer, összesen 3 mosási ciklusig.

Befejezésül szívja le a folyadékot. A maradék mosóoldat mennyiségének a lehető legalacsonyabbnak kell lennie. A maradék folyadék eltávolítása érdekében fejjel lefelé fordítva meg lehet ütögetni a lemezt.

3 x 300 µl

**9. MÉRJE BE A SZUBSZTRÁTOT**

SUBS TMB

↓ Mérjen be 100 µl TMB-t minden mérőcellába. Fedje le a ragasztófoliával. Sötétben történő inkubálás nem szükséges. Hagyja a kolorimetriás reakciót lezajlani **pontosan 10 percre** szobahőmérsékleten (18–25 °C) **700 fordulat/perc fordulatszámon történő kevertetés mellett**

+ 100 µl

↻ 700

10

**10. MÉRJE BE A LEÁLLÍTÓ OLDATOT**

STOP SOLN

↓ Állítsa le a reakciót oly módon, hogy 50 µl leállító oldatot bemér az összes mérőcellába.

+ 50 µl

**11. OLVASSA LE**🏠 Olvassa le az abszorbanciát **450 nm-en**. Végezze el az abszorbancia második leolvasását (opcionális) 620 nm-es hullámhosszon (610 és 650 nm között).**Kiegyensúlyozott 4 paraméteres logisztikai** illesztéssel végezze el az adatok interpolálását.

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
LOT	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
IVD	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
REF	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
CONJ	Conjugué	Conjugate	Komplex	Coniugato	Conjugado	Kétfázisú elegy	Konjugát	Conjugado
CAL	Calibrateur	Calibrator	Kalibrator	Calibratore	Calibrador	Kalibrátor	Kalibrátor	Calibrador
CONTROL	Contrôle	Control	Kontrolle	Controllo	Control	Kontroll	Kontrola	Controle
TWEEN 20	Solution concentrée	Concentrated solution	Konzentrierte Lösung	Soluzione concentrata	Solución concentrada	Koncentrált oldat	Koncentrovaný roztok	Solução concentrada
MICROPLATE	Microplaque	Microplate	Mikrotiterplatte	Micropiastra	Microplaca	mikrolemez	Mikrotitrační destička	Microplaca
DIL CAL	Diluant	Diluent	Verdünnungsmittel	Diluyente	Diluyente	Hígítószer	ředidlo	Diluyente
SUBS TMB	Substrat	Substrate	Substrat	Sustrato	Substrato	Szubsztrátum	Substrát	Substrato
STOP SOLN	Solution d'arrêt	Stop solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada	Semlegesítő oldat	Zastavovací roztok	Solução de paragem