

## 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](mailto: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](mailto:cisbio.iva@revvity.com)

Cisbio Bioassays Regulatory Affairs Service

Cisbio Bioassays  
Paris-Montparnasse Boiteux  
Rég. B. 175  
30200 Codelat - France  
*S. Ponsard*  
Regulatory Affairs Officer

# Chromogranin A New Gen. ELISA

Le kit Chromogranin A New Gen. ELISA est une trousse pour le dosage enzymatique quantitatif de la chromogranine A humaine (CGA) dans le sérum ou le plasma EDTA chez l'adulte.

**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. NOM ET INDICATION

Le kit **CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA** est une trousse pour le dosage enzymatique quantitatif de la chromogranine A humaine (CGA) dans le sérum ou le plasma EDTA chez l'adulte.

Le kit **CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA** est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic dans la détermination de la présence et de l'évolution de néoplasmes neuroendocrines (NNE) de type GEP (Gastro-Entéro-Pancréatiques) chez le sujet adulte.

La trousse est destinée à un usage professionnel et à une utilisation manuelle.

## 2. INTRODUCTION

La CGA est une protéine hydrophile et acide de 439 aa (49 kD) présente dans les granules chromaffines des cellules neuroendocrines. Elle fait partie de la famille des granines.

La CGA agit comme une pro-hormone. En effet, sa protéolyse constitue un élément clé de sa physiologie. Cette dégradation libère des peptides biologiquement actifs (vasostatines, chromostatine, pancréastatine, parastatine) qui possèdent des fonctions paracrines et autocrines différentes. Cette protéolyse est tissu-spécifique et, suivant sa localisation, la fragmentation de la protéine sera différente. Elle a lieu principalement dans la cellule, à l'intérieur des granules chromaffines. En immunohistochimie, la présence de CGA dans les cellules tumorales fait suspecter une origine neuroendocrine de la tumeur. La CGA circulante existe chez les sujets sains et les valeurs obtenues sont indépendantes de l'âge et du sexe. L'intérêt du dosage sérique de la CGA a été démontré pour les cancers endocrines, avec des élévations de taux particulièrement significatives dans les tumeurs endocrines gastro-entéro-hépatiques. Des études ont montré que les taux de CGA circulante étaient associés à une différenciation neuroendocrine et reliés à la masse tumorale, sans pour autant se substituer à des sécrétions plus spécifiques.

## 3. PRINCIPE

La trousse CHROMOGRANINE A est un immunodosage de type ELISA. Un premier anticorps monoclonal, immobilisé sur la microplaque, capture les protéines CGA contenues dans les calibrateurs et les échantillons. Après lavages, les protéines fixées sont reconnues par un second anticorps monoclonal conjugué à l'HRP (Horse-Radish-Peroxidase). Après une seconde incubation, les réactifs non fixés sont éliminés par lavage, puis la réaction colorimétrique est démarrée par addition d'un substrat de l'HRP, le TMB (3, 3', 5, 5' Tetramethyl benzidine). Après arrêt de la réaction, la densité optique (DO) de chaque puits est lue à 450 nm. Les DO mesurées sont proportionnelles à la concentration de CGA contenue dans les calibrateurs et les échantillons.

## 4. RÉACTIFS

Chaque trousse contient les réactifs suffisants pour 96 tests (incluant la génération de la courbe de calibration). La date de péremption est indiquée sur l'étiquette extérieure.

REACTIFS	SYMBOLES	QUANTITE	CONSERVATION
<b>MICROPLAQUE</b> : Prête à l'emploi. Anticorps monoclonal de souris anti-CGA fixé au fond du puits, Albumine bovine.	<b>MICROPLATE</b>	1 plaque de 96 puits	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, les barrettes non utilisées, doivent être stockées dans le sachet plastique fourni, avec un agent desséchant, et correctement scellé pendant 6 semaines, dans la limite de la date de péremption.
<b>CONJUGUE</b> : Prêt à l'emploi Anticorps monoclonal de souris anti-CGA couplé à l'HRP, Immunoglobulines de souris non immunisées, stabilisateurs, conservateur.	<b>CONJ</b>	1 flacon de 22 mL	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, le conjugué peut être conservé pendant 6 semaines à 2-8°C, dans la limite de la date de péremption.

<b>CALIBRATEURS</b> : Lyophilisés. CGA humaine recombinante, sérum humain, EDTA, conservateur. 75 – 140 – 300 – 600 – 1000 ng /mL * Reconstituer avec 0,25 mL d'eau distillée	<b>CAL</b>	5 flacons	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après reconstitution, ne pas conserver plus d'une heure à température ambiante, aliquoter et congeler à - 20°C pour une durée de 6 semaines, dans la limite de la date de péremption.
<b>CONTROLES</b> : Lyophilisés. CGA humaine recombinante, sérum humain, EDTA, conservateur. 90 - 720 ng/mL ** Reconstituer avec 0,25 mL d'eau distillée	<b>CONTROL</b>	2 flacons	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après reconstitution, ne pas conserver plus d'une heure à température ambiante, aliquoter et congeler à - 20°C pour une durée de 6 semaines, dans la limite de la date de péremption.
<b>DIL/CAL0</b> : Prêt à l'emploi. Ce réactif sert de tampon d'incubation, de diluant et de calibrateur 0. Tampon, sérum de bœuf, azoture de sodium, EDTA.	<b>DIL CAL 0</b>	1 flacon de 80 mL	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, le Diluant/CAL 0 peut être conservé pendant 6 semaines à 2-8°C, dans la limite de la date de péremption
<b>TWEEN 20</b> : Solution de lavage concentrée Diluer 9 mL de tween 20 dans 3 litres d'eau distillée. Agiter doucement	<b>TWEEN 20</b>	1 flacon de 10 mL	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, le TWEEN peut être conservé pendant 6 semaines à 2-8°C, dans la limite de la date de péremption
<b>SUBSTRAT</b> : Prêt à l'emploi 3, 3', 5, 5' Tétraméthyl benzidine : TMB	<b>SUBS TMB</b>	1 flacon de 15 mL	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, le TMB peut être conservé pendant 6 semaines à 2-8°C, dans la limite de la date de péremption
<b>SOLUTION D'ARRET</b> : Prête à l'emploi. Acide sulfurique 0,5 M.	<b>STOP SOLN</b>	1 flacon de 22 mL	Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, la solution d'arrêt peut être conservée pendant 6 semaines à 2-8°C, dans la limite de la date de péremption
<b>FILM ADHESIF POUR MICROPLAQUE</b>		3	
<b>SACHET PLASTIQUE</b>		1	

(\*) Les valeurs indiquées ci-dessus sont les valeurs cibles, les valeurs réelles sont indiquées sur les étiquettes des flacons.

(\*\*) Les valeurs réelles de limite d'acceptation sont indiquées sur les étiquettes des flacons.

## 5. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

### 5.1. Mesures de sécurité

- Les matières premières d'origine humaine contenues dans les réactifs de cette trousse ont été testées avec des trusses agréées et trouvées négatives en ce qui concerne les anticorps anti-HIV 1, anti-HIV 2, anti-HCV et l'antigène HBs. Cependant aucune méthode d'analyse ne permet à ce jour de garantir totalement qu'une matière première d'origine humaine soit incapable de transmettre l'hépatite, le virus HIV, ou toute autre infection virale. Aussi faut-il considérer toute matière première d'origine humaine, y compris les échantillons à doser, comme potentiellement infectieuse.
- Ne pas effectuer les pipetages à la bouche.
- Ne pas fumer, boire ou manger dans les locaux où l'on manipule les échantillons ou les réactifs. Porter des gants à usage unique pendant la manipulation des réactifs ou des échantillons et se laver soigneusement les mains après. Eviter de provoquer des éclaboussures.
- Eliminer les échantillons et décontaminer tout le matériel susceptible d'avoir été contaminé comme s'ils contenaient des agents infectieux. La meilleure méthode de décontamination est l'autoclavage pendant au moins une heure à 121,5°C.
- L'azoture de sodium peut réagir avec les canalisations de plomb et de cuivre pour former des azotures de métaux fortement explosifs.
- Lors de l'évacuation des déchets, les diluer abondamment pour éviter la formation de ces produits.



CAL

CONTROL

CONJ

**AVERTISSEMENT**

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

STOP

SOLN

Non classé dangereux mais solution avec PH acide

DIL

CAL

0

Contient du sodium azide (&lt;0.1%)

## 5.2. Précautions de manipulation

- Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption.
- Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents.
- Eviter toute contamination microbienne des réactifs et de l'eau. Respecter les temps d'incubations.

## 6. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

---

### 6.1. Pré-analyse

Le dosage s'effectue directement sur sérum ou sur plasma EDTA. Pour un dosage dans les 4 heures, les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18-25°C). Pour un dosage jusqu'à 48 heures, les échantillons doivent être conservés à 2-8°C dès le prélèvement. Au-delà de 48 heures, ils doivent être divisés en aliquots qui seront conservés congelés (-20°C) pour une durée allant jusqu'à 10 mois.

**Dilutions :** Dans le cas de suspicion de taux élevés de CGA, les dilutions s'effectuent avec le tampon diluant fourni dans la trousse. Il est recommandé d'effectuer les dilutions dans des tubes en plastique jetables.

### 6.2. Pré-dilution des échantillons, des contrôles et des calibrateurs (1/51)

- Tous les échantillons ainsi que les contrôles et les calibrateurs du kit doivent être prédilués 51 fois dans le diluant 

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

 0 fourni dans le kit avant dosage. Mélanger délicatement à l'aide d'un Vortex.

## 7. PROCÉDURE DU TEST

---

### 7.1. Matériel requis

- Pipettes de précision ou tout équipement similaire avec des embouts jetables pour la distribution de 20, 50, 100, 200 et 1 000 µL. L'étalonnage de ces éléments doit être régulièrement contrôlé.
- Eau distillée.
- Tubes en plastique jetables.
- Mélangeur Vortex.
- Laveur de microplaque (en option).

- Agitateur de microplaques.
- Lecteur de microplaque, pouvant mesurer l'absorbance à 450 nm. En option, le lecteur peut être équipé d'un filtre capable de lire l'absorbance à une longueur d'onde comprise entre 610 et 650 nm (longueur de 620 nm recommandée). Cette deuxième lecture permet de corriger les imperfections de la microplaque.

## 7.2. Protocole

- Tous les réactifs doivent être portés à température ambiante (entre 18 °C et 25 °C) au moins 30 minutes avant leur utilisation. Les réactifs sont collectés et répartis dans les puits à température ambiante (entre 18 °C et 25 °C).
- Chaque calibrateur, contrôle ou échantillon doit être testé deux fois.
- Reconstituer les flacons des calibrateurs et des contrôles. Veiller à vérifier que tout le lyophilisat soit dissous et utiliser le réactif dans l'heure suivant la reconstitution.

### 7.2.1. Préparation de la solution de lavage **TWEEN 20**

- Pour obtenir des résultats fiables et reproductibles, il est conseillé d'exécuter les étapes de lavage en respectant les instructions : le volume résiduel de solution de lavage doit être le plus faible possible. Il est conseillé d'utiliser un laveur de microplaque.
- Pour préparer la solution de lavage, diluer 9 mL de Tween 20 **TWEEN 20** dans 3L d'eau distillée. Agiter doucement.

### 7.2.2. Instructions - Respecter l'ordre d'ajout des réactifs

*Voir la dernière page pour la fiche de protocole du laboratoire. Il est nécessaire de lire l'intégralité de la notice avant d'utiliser la fiche de protocole du laboratoire.*

1. Préparer et numéroter une quantité suffisante de tubes à essai pour effectuer une pré-dilution des échantillons, des calibrateurs et des contrôles.
2. Déterminer le nombre de barrettes de micropuits nécessaires pour le test. Retirer les barrettes inutilisées du support et les stocker entre 2 °C et 8 °C dans le sachet à fermeture adhésive correctement fermé avec un agent desséchant.
3. **Prédiluer les calibrateurs, les échantillons et les contrôles dans des tubes en plastique selon un rapport de 1:51.**
  - a. Distribuer 1 mL de diluant **DIL CAL** 0 dans les tubes plastiques.
  - b. Ajouter 20 µL de chaque calibrateur, contrôle ou échantillon et mélanger délicatement à l'aide d'un mélangeur de type Vortex
4. Distribuer 200 µL de calibrateur **CAL**, d'échantillon ou de contrôle **CONTROL** préalablement dilué au 1/51 dans le tampon de dilution **DIL CAL** 0 dans tous les puits.
5. Couvrir avec le film adhésif, **agiter 1h à 700 rpm** à température ambiante (**18-25°C**).
6. Laver les puits en respectant la procédure suivante :
  - a. Aspirer le contenu des puits
  - b. Distribuer 300µL de solution de lavage **TWEEN 20** dans chaque puits, préparée selon les instructions de la section 7.2.1.
  - c. Renouveler cette opération deux fois encore pour un total de 3 cycles de lavage.
  - d. Terminer par une aspiration. Le volume résiduel de solution de lavage doit être le plus faible possible. Il est possible de retourner la plaque et la tapoter doucement sur du papier absorbant pour éliminer tout liquide restant à l'intérieur des puits.
7. Distribuer **200 µL** de conjugué HRP **CONJ** dans tous les puits.
8. Couvrir avec le film adhésif et **incuber 2h +/- 5'** à température ambiante (**18 - 25°C**) **sous agitation à 700 rpm**.
9. Laver les puits comme indiqué au point 6 puis,
10. Distribuer 100 µL de TMB **SUBS TMB** dans tous les puits. Couvrir avec le film adhésif. L'incubation à l'obscurité n'est pas nécessaire.
11. Laisser la réaction colorimétrique se développer **pendant 10 min précises** à température ambiante (18 – 25°C), **sous agitation (700 rpm)**.
12. Arrêter la réaction par addition de **50 µL** de solution d'arrêt **STOP SOLN** dans tous les puits.

➤ Lire l'absorbance à 450 nm. Faire une seconde lecture (optionnelle) de l'absorbance à une longueur d'onde comprise entre 610 nm et 650 nm.

## 8. CONTRÔLE QUALITÉ

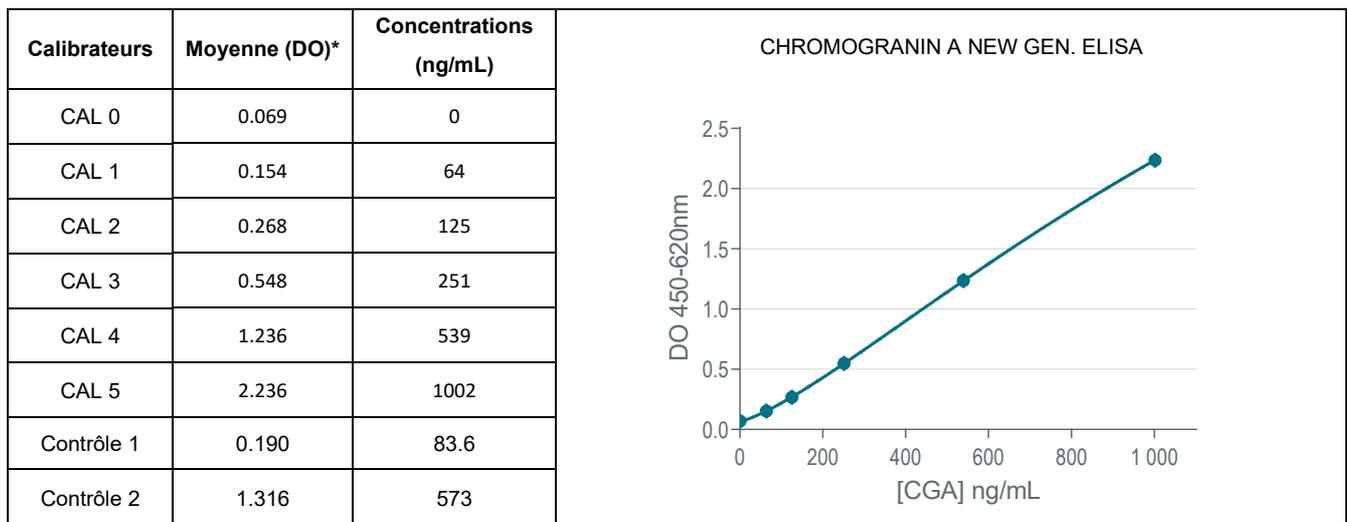
Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) exigent que des échantillons de contrôle qualité soient utilisés dans chaque série de tests afin de contrôler la qualité des résultats obtenus. Tous les échantillons doivent être traités de façon identique. Il est en outre recommandé d'effectuer une analyse des résultats en utilisant les méthodes statistiques appropriées.

## 9. RÉSULTATS

1. Correction de DO optionnelle\* : soustraire la lecture à 620 nm de la lecture à 450 nm.
2. Pour chaque duplicat, calculer l'absorbance moyenne (DO) des calibrateurs, des contrôles et des échantillons.
3. Construire une courbe de calibration en déterminant les valeurs de DO moyenne (corrigée\*) à 450 nm des calibrateurs (axe y) en fonction de la concentration (axe x) indiquée sur le flacon.
4. Il est conseillé d'utiliser le modèle mathématique de lissage **4 paramètres logistique pondéré (4-PL pondéré  $1/y^2$ )** pour calculer les courbes de calibration. D'autres fonctions de modélisation des données peuvent donner des résultats légèrement différents.

Lire les valeurs des échantillons à partir de la courbe. Le rapport de prédilution 1:51 est déjà calculé dans les concentrations de calibrateurs.

Exemple de données de test : à des fins d'illustration uniquement. Ne doit en aucun cas se substituer aux résultats obtenus en laboratoire.



## 10. LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Les échantillons présentant une turbidité, une hémolyse, une hyperlipémie ou contenant de la fibrine peuvent donner des résultats inexacts.
- Ne pas extrapoler les valeurs d'échantillons au-delà du dernier calibrateur. Diluer les échantillons concernés et relancer le test.
- Ne pas utiliser le kit CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA pour doser la CGA circulante chez les patients prenant un traitement à base d'inhibiteur de la pompe à protons ou chez les patients atteints de dysfonction rénale ou de gastrite atrophique. Ces patients présentent des niveaux physiologiquement élevés de CGA circulante sans que cela ne soit lié à la présence d'une tumeur neuroendocrine.
- Ne pas interpréter les résultats obtenus chez des patients sous traitement à base d'analogues de la somatostatine, ces patients peuvent présenter des résultats faussement abaissés.

## 11. PERFORMANCES ANALYTIQUES

### 11.1 Imprécision

Echantillons	n	Concentration Moyenne (ng/mL)	Intra-série (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

Echantillons	n	Concentration Moyenne (ng/mL)	Inter-séries (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 de recouvrement

Des quantités connues de CGA ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement dans les échantillons s'échelonnent entre 90 et 110 %.

### 11.3 Test de dilution

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués. Les pourcentages de récupération obtenus sont compris entre 80% et 120%.

### 11.4 Spécificité

Aucune interférence n'a été observée lorsque les échantillons sériques ont été surchargés avec l'une des substances suivantes :

- Glucagon (jusqu'à 3000ng/mL)
- Gastrine (jusqu'à 3000ng/mL)
- Chromogranine B (jusqu'à 3000ng/mL)
- NSE (jusqu'à 3000ng/mL)
- Pancréatique polypeptide (jusqu'à 3000ng/mL)

### 11.5 Plage de mesure

Les échantillons doivent être mesurés dans la plage comprise entre la limite de quantification et la plus haute concentration de la gamme de calibration soit 30.6 et 1000 ng/mL.

### 11.6. Limite de detection

La limite de détection (LOD ou sensibilité analytique) du kit CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA est définie comme la plus basse concentration détectable qui soit discriminable de 0 avec une probabilité à 95 %, calculée en ajoutant 2 écarts-types à la moyenne de 30 analyses répétées du calibrateur 0 (CAL0). Elle a été mesurée à 16.9 ng/mL.

La sensibilité fonctionnelle est définie comme étant la concentration mesurée par profil d'imprécision à un CV égal à 20 %. Elle est estimée à 30.6 ng/mL.

### 11.7. Effet crochet

Il n'y a pas d'effet crochet jusqu'à 1.000.000 ng/mL.

### 11.8. Interférences

- En suivant le protocole de test décrit dans les instructions d'utilisation, aucune interférence de la biotine n'a été mesurée pour des taux allant de 0 à 600 ng/mL.  
REMARQUE : Les résultats ont montré qu'une concentration de biotine à 1200ng/ml provoquait une légère interférence (-14 % de biais maximum) avec le kit CHROMOGRANIN A NEW GEN. ELISA.
- Aucune interférence à la bilirubine et à l'hémoglobine mesurées jusqu'à des concentrations respectives égales à 0.15mg/mL, 2mg/mL, n'a été observée.
- Aucune interférence n'a été observée lorsque des échantillons sériques ont été testés avec des Triglycérides d'échantillons humains hyperlipidémiques (743,4 mg/dL TG total)

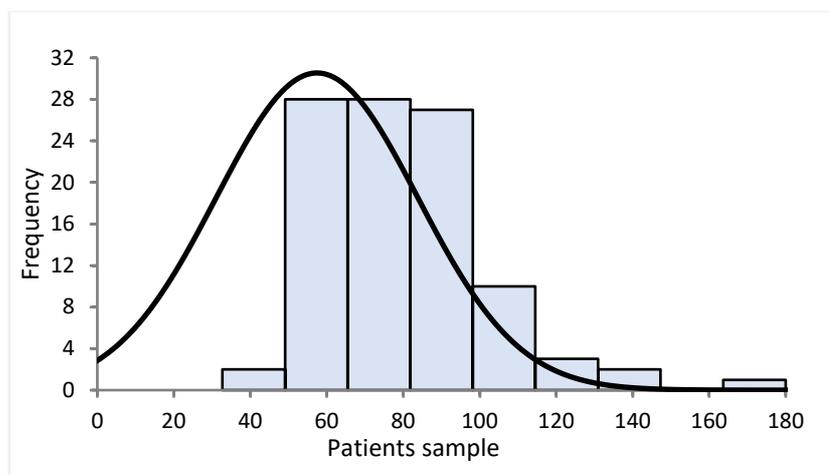
**MISE EN GARDE** : le dosage immunologique est protégé contre les interférences potentielles avec les anticorps hétérophiles tels que les HAMA (anticorps humains anti-murins) et les facteurs rhumatoïdes (FR) par l'ajout d'une protection de type immunoglobulines de souris non spécifiques. Néanmoins, nous ne pouvons garantir l'absence totale de résultats « faux positifs ou négatifs » du fait de la présence d'anticorps hétérophiles ou de facteurs rhumatoïdes dans les échantillons des patients.

## 12. VALEURS NORMALES ATTENDUES

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales en fonction du type de prélèvement couramment utilisé. La chromogranine A est une protéine fixant le calcium et ses taux circulants sont influencés par la concentration de Ca<sup>++</sup>. Les valeurs normales retrouvées sont différentes selon que l'on dose des sérums prélevés sur tube sec ou des plasmas EDTA.

Les valeurs ci-dessous, sont données à titre indicatif et ont été obtenues sur échantillons de sérum avec une population de 101 sujets présumés normaux.

Pour la distribution des valeurs normales présentée ci-dessous, **le 95e percentile se situe à 101ng/mL.**

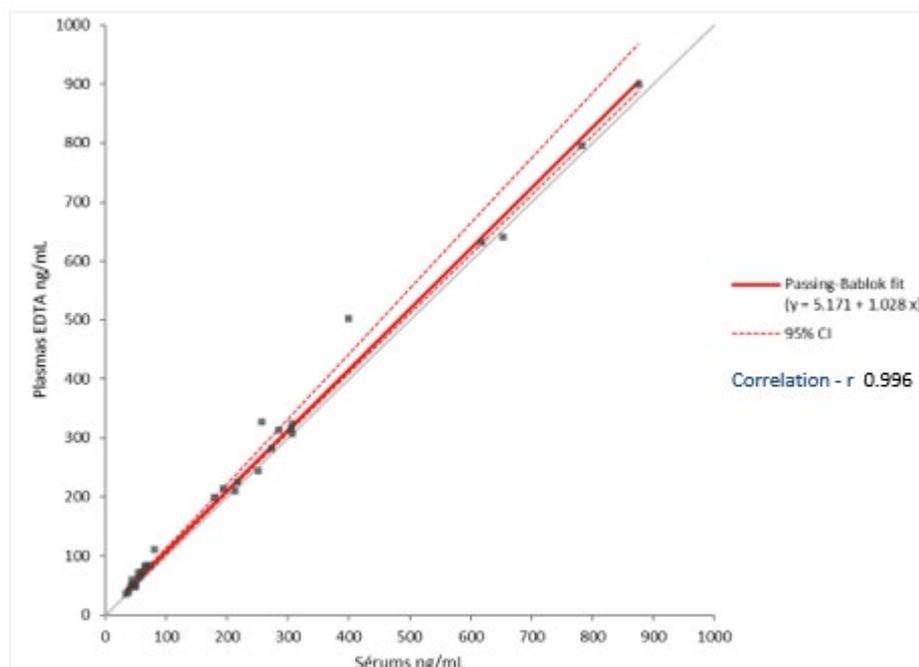


### - Valeurs normales pour des échantillons de plasma EDTA :

Les valeurs sont déterminées en fonction de la corrélation sérum plasma ci-dessous.

L'équation de la corrélation est la suivante : [échantillon plasma] = 1.028 x [échantillon sérum] + 5.171

Cette équation doit être appliquée aux valeurs normales trouvées sur échantillons sériques, pour en extrapoler les valeurs sur plasma EDTA.



## 13. BIBLIOGRAPHIE

---

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

## FICHE DE PROTOCOLE DE LABORATOIRE

Ne pas utiliser cette fiche sans avoir lu l'intégralité de la notice.

↪ **Prédiluer** les calibrateurs, les échantillons et les contrôles dans des tubes selon un rapport 1:51.

**1. DISTRIBUER** 1mL de diluant dans les tubes DIL CAL 0

**2. AJOUTER** 20µL de chaque calibrateur, contrôle ou échantillon et mélanger délicatement à l'aide d'un mélangeur de type vortex. CAL CONTROL

**3. DISTRIBUER LES ECHANTILLONS DANS LA MICROPLAQUE** CAL CONTROL  
↓ Distribuer 200µL de **calibrateur, d'échantillon ou de contrôle préalablement dilué au 1:51** dans le tampon de dilution dans tous les puits (distribution en duplicat).

**4. AGITATION**  
↓ Couvrir avec le film adhésif, **agiter 1H à 700 rpm** à température ambiante (18- 25°C).

**5. LAVER LES PUIITS (voir § 7.2.1)** TWEEN 20  
Préparer la solution de lavage en diluant 9mL de Tween 20 dans 3L d'eau distillée.  
Aspirer le contenu des puits.  
Distribuer 300µL de solution de lavage dans chaque puits.  
Renouveler cette opération deux fois encore pour un total de trois cycles de lavage.  
Terminer par une aspiration. Le volume résiduel de solution de lavage doit être le plus faible possible. Il est possible de retourner la plaque et la tapoter doucement sur du papier absorbant pour éliminer tout liquide restant à l'intérieur des puits.

**6. DISTRIBUER LE CONJUGUE** CONJ  
↓ Distribuer 200µL de conjugué HRP dans tous les puits.

**7. INCUBER**  
Couvrir avec le film adhésif et incuber **2h +/-5'** à température ambiante (18-25°C) **sous agitation à 700 rpm**.

**8. LAVER LES PUIITS (voir § 7.2.1)** TWEEN 20  
Préparer la solution de lavage en diluant 9mL de Tween 20 dans 3L d'eau distillée.  
Aspirer le contenu des puits.  
Distribuer 300µL de solution de lavage dans chaque puits.  
Renouveler cette opération deux fois encore pour un total de trois cycles de lavage.  
Terminer par une aspiration. Le volume résiduel de solution de lavage doit être le plus faible possible. Il est possible de retourner la plaque et la tapoter doucement sur du papier absorbant pour éliminer tout liquide restant à l'intérieur des puits.

**9. DISTRIBUER LE SUBSTRAT** SUBS TMB  
↓ Distribuer 100µL de TMB dans tous les puits. Couvrir avec le film adhésif. L'incubation à l'obscurité n'est pas nécessaire. Laisser la réaction colorimétrique se développer **pendant 10 min précises** à température ambiante (18-25°C), **sous agitation à 700 rpm**.

**10. DISTRIBUER LA SOLUTION D'ARRET** STOP SOLN  
↓ Arrêter la réaction par addition de 50µL de solution d'arrêt dans tous les puits.

**11. LECTURE**  
🏠 Lire l'absorbance à **450nm**. Faire une seconde lecture (optionnelle) de l'absorbance à une longueur d'onde de 620nm (610 à 650nm).  
Utiliser le modèle de lissage à **4 paramètres logistique pondéré** pour le traitement des données.

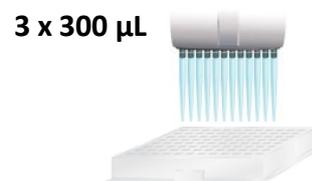
**TECAN.**



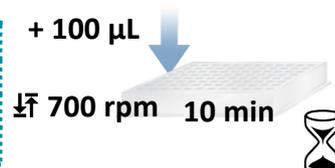
1:51 pre-dilution



↻ 700 rpm 1h



↻ 700 rpm 2h +/-5'



450 nm



Cisbio Bioassays - Parc Marcel Boiteux - BP 84175 - 30200 Codolet / France  
Phone: +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](mailto:IBL@tecan.com); [www.tecan.com/ibl](http://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
	<b>Explication des symboles</b>	<b>Explanation of symbols</b>	<b>Erläuterung der Symbole</b>	<b>Spiegazione dei simboli</b>	<b>Significado de los símbolos</b>
	Limite de température	Temperature limitation	Temperaturbegrenzung	Limiti di temperatura	Limitación de temperatura
<b>LOT</b>	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
<b>IVD</b>	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
<b>REF</b>	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
<b>CONJ</b>	Conjugué	Conjugate	Komplex	Coniugato	Conjugado
<b>CAL</b>	Calibrateur	Calibrator	Kalibrator	Calibratore	Calibrador
<b>CONTROL</b>	Contrôle	Control	Kontrolle	Controllo	Control
<b>TWEEN 20</b>	Solution concentrée	Concentrated solution	Konzentrierte Lösung	Soluzione concentrata	Solución concentrada
<b>MICROPLATE</b>	Microplaque	Microplate	Mikrotiterplatte	Micropiastra	Microplaca
<b>DIL</b> <b>CAL</b>	Diluant	Diluent	Verdünnungs-mittel	Diluyente	Diluyente
<b>SUBS</b> <b>TMB</b>	Substrat	Substrate	Substrat	Sustrato	Substrato
<b>STOP</b> <b>SOLN</b>	Solution d'arrêt	Stop solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada