LDN®
IMMUNOASSAYS AND SERVICES
BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY
LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co. KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Instructions for use / Gebrauchsanweisung

Chromogranin A ELISA

REF **TM E-9000I**

2°C–8°C Σ 96 IVD CE 0483

Table of contents

1.	Introduction	4
1.1	Intended use and principle of the test	4
1.2	Clinical application	4
2.	Procedural cautions, guidelines, warnings and limitations	4
2.1	Procedural cautions, guidelines and warnings	4
2.2	Limitations	5
3.	Storage and stability	5
4.	Materials	6
4.1	Contents of the kit	6
4.2	Calibration and Controls	7
4.3	Additional materials required but not provided in the kit	7
4.4	Additional equipment required but not provided in the kit	7
5.	Sample collection, handling and storage	7
6.	Test procedure	7
6.1	Preparation of reagents and further notes	7
6.2	Preparation of samples – Dilution	8
6.3	Chromogranin A ELISA	8
7.	Calculation of results	8
7.1	Expected reference value	8
7.2	Typical standard curve	9
8.	Control samples	9
9.	Assay characteristics	9
9.1	Performance data	9
9.2	Metrological Traceability	10
10.	References/Literature	10
11.	Changes	11

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	12
1.1	Verwendungszweck und Testprinzip	12
1.2	Klinische Anwendung	12
2.	Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen	12
2.1	Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen	12
2.2	Grenzen des Tests	13
3.	Lagerung und Haltbarkeit	14
4.	Materialien	14
4.1	Reagenzien im Kit	14
4.2	Kalibratoren und Kontrollen	15
4.3	Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Materialien	15
4.4	Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Geräte	15
5.	Probensammlung, -behandlung und -lagerung	15
6.	Testdurchführung	15
6.1	Vorbereitung der Reagenzien und weitere Hinweise	15
6.2	Probenvorbereitung – Verdünnung	16
6.3	Chromogranin A ELISA	16
7.	Berechnung der Ergebnisse	16
7.1	Erwartete Referenzbereiche	16
7.2	Typische Standardkurve	17
8.	Kontrollproben	17
9.	Assaycharakteristika	17
9.1	Leistungsdaten	17
9.2	Metrologische Rückführbarkeit	18
10.	Referenzen/Literatur	18
11.	Änderungen	19

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

1. Introduction

1.1 Intended use and principle of the test

Enzyme immunoassay for the quantitative determination of Chromogranin A in serum. The determination of Chromogranin A helps in the detection of neuroendocrine tumors and is used to assess the course of the cancer treatment. The kit is intended for professional, manual use.
The quantitative determination of Chromogranin A (CgA) follows the basic principles of the enzyme immunoassay. First, the Chromogranin A in the samples, controls and standards binds to CgA-specific antibodies fixed to a 96 wells microtiter plate. After incubation and following washing steps, a sandwich is formed by adding CgA antibodies conjugated to horseradish peroxidase. After incubation the wells are washed thoroughly and the complex bound to the solid phase is detected by using TMB as a substrate resulting in a colour reaction. The reaction is monitored at a wavelength of 450 nm.
By means of a standard curve the CgA concentrations in the samples are determined.

1.2 Clinical application

Chromogranin A (CgA) is an acid glycoprotein with 439 amino acids that is present in the secretory dense core granules of most neuroendocrine cells [1]. The chromogranin family consists of at least three different water-soluble acidic glycoproteins (CgA, CgB, and secretogranin II, sometimes called Chromogranin C) [1].
Upon stimulation, CgA and other peptide hormones and neuropeptides are released. CgA is also secreted from neuroendocrine-derived tumors [1].
Neuroendocrine tumors (NETs), which originate from neuroendocrine cells, are found widely distributed throughout the body [2]. The most common sites of NET are the lung, stomach, appendix, cecum, duodenum, pancreas, jejunum/ileum, colon and rectum [3]. NET arising from the gastrointestinal tract are collectively known as gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NET) and account for approximately 2/3 of incident NET [3]. The annual incidence of NET is estimated as 2 – 5 cases per 100,000 population [2].
CgA is widely expressed throughout the neuroendocrine system and serves as a general biomarker for a wide variety of neuroendocrine tumors [3]. The determination of Chromogranin A helps in the detection of neuroendocrine tumors and is used to assess the course of cancer treatment [3-6].
Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone, even if these results are assessed in accordance with the quality criteria of the method. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of the patient.
Only in cases where the laboratory results are in an acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient, it can be used for therapeutic consequences.

2. Procedural cautions, guidelines, warnings and limitations

2.1 Procedural cautions, guidelines and warnings

(1) This kit is intended for professional use only. Users should have a thorough understanding of this protocol for the successful use of this kit. Only the test instruction provided with the kit is valid and must be used to run the assay. Reliable performance will only be attained by strict and careful adherence to the instructions provided.
(2) This assay was validated for a certain type of sample as indicated in Intended Use (please refer to Chapter 1). Any off-label use of this kit is in the responsibility of the user and the manufacturer cannot be held liable.
(3) The principles of Good Laboratory Practice (GLP) must be followed.
(4) In order to reduce exposure to potentially harmful substances, wear lab coats, disposable protective gloves and protective glasses where necessary.
(5) If serious incidents should occur in connection with this product, they should be reported to the manufacturer and the competent national authorities.
(6) All kit reagents and specimens should be brought to room temperature and mixed gently but thoroughly before use. For dilution or reconstitution purposes, use deionized, distilled, or ultra-pure water. Avoid repeated freezing and thawing of reagents and specimens.
(7) The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 – 8 °C in the sealed foil pouch with desiccant and used in the frame provided. Microtiter strips which are removed from the frame for usage should be marked accordingly to avoid any mix-up.
(8) Standards, Controls and specimen samples should be assayed in duplicate.
(9) Once the test has been started, all steps should be completed without interruption. Make sure that the required reagents, materials, and devices are prepared for use at the appropriate time.
(10) Incubation times do influence the results. All wells should be handled in the same order and time intervals.
(11) To avoid cross-contamination of reagents, use new disposable pipette tips for dispensing each reagent, sample, standard and control.
(12) A standard curve must be established for each run.
(13) The controls should be included in each run and fall within established confidence limits. The confidence limits are listed in the QC-Report provided with the kit.
(14) Do not mix kit components with different lot numbers within a test and do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

(15) For information about hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheet (SDS). The Safety Data Sheet for this product is made available directly on the website of the manufacturer or upon request.
(16) Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed of according to national regulations.
(17) The expected reference values reported in this test instruction are only indicative. It is recommended that each laboratory establishes its own reference intervals.
(18) In case of any severe damage to the test kit or components, the manufacturer has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components must not be used for a test run. They must be stored properly until the manufacturer decides what to do with them. If it is decided that they are no longer suitable for measurements, they must be disposed of in accordance with national regulations.
(19) The results obtained with this test kit should not be taken as the sole reason for any therapeutic consequence but must be correlated to other diagnostic tests and clinical observations.
(20) Reagents of this kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by approved procedures. All reagents however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.

2.2 Limitations

Diagnostic Limitations
Chromogranin A has limited sensitivity and specificity. A normal result does not exclude a neuroendocrine tumor; elevated levels may have other clinical causes. Results must be interpreted only within the clinical context and in combination with other diagnostic procedures.

Drug and food interference
Medications, particularly proton pump inhibitors (PPIs), can increase serum CgA levels. Therefore, discontinuation of PPI therapy several days to weeks before CgA determination is generally recommended. Additional medications, such as selective serotonin reuptake inhibitors, H2-receptor antagonists, and somatostatin analogues, may also affect CgA levels.
It is recommended to be fasting (overnight fasting) during sample collection to reduce potential effects from food intake.

Limitations related to oncological and non-oncological diseases
Elevated CgA concentrations can occur in both non-oncological diseases – such as cardiovascular, renal, inflammatory, and gastrointestinal diseases (e.g., hypertension, renal insufficiency, chronic atrophic gastritis) – and oncological diseases (e.g., prostate cancer, ovarian cancer).

Heterophile antibody interference
Patient samples may contain heterophile antibodies that can interfere with antibodies used in the test, potentially resulting in falsely elevated or decreased CgA concentrations. The possibility of such interference cannot be completely excluded.

Interfering substances and proper handling of specimens
Samples containing precipitates or fibrin strands might cause inaccurate results.
Biotin (up to 1,200 ng/ml), hemolytic samples (up to 1 mg/ml hemoglobin), icteric samples (up to 50 mg/dl bilirubin) and lipemic samples (up to 1,700 mg/dl triglycerides) have no influence on the assay results.
If the concentrations cannot be estimated and there are doubts as to whether the above limit values for hemolytic, icteric or lipemic samples are complied with, the samples should not be used in the assay.

High-Dose-Hook effect
No hook effect was observed in this test.

Comparability of Results
For follow-up measurement of Chromogranin A, results should only be compared when obtained using the same assay. Differences between assays (e.g., in antibody specificity, calibration or measurement principle) may lead to variability in reported values, which can result in misinterpretation of trends over time. The use of different assays within the monitoring of a single patient is therefore not recommended.

3. Storage and stability

Store kit and reagents at 2 – 8 °C until expiration date. Do not use kit and components beyond the expiry date indicated on the kit labels. Once opened, the reagents are stable for 2 months when stored at 2 – 8 °C. Once the resealable pouch of the ELISA plate has been opened, care should be taken to close it tightly again including the desiccant.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

4. Materials

The reagents provided in the kit are sufficient for 48 duplicate determinations (5 Standards, 2 Controls and 41 samples in duplicate determination).

4.1 Contents of the kit

BA E-0030	**WASH-CONC** **50x**	**Wash Buffer Concentrate** – concentrated 50x
Content:	Buffer with a non-ionic detergent and physiological pH	
Volume:	1 x 20 ml/vial, purple cap	
BA E-0055	**SUBSTRATE**	**Substrate** – ready to use
Content:	Chromogenic substrate containing 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, substrate buffer and hydrogen peroxide	
Volume:	1 x 12 ml/vial, black cap	
BA E-0080	**STOP-SOLN**	**Stop Solution** – ready to use
Content:	0.25 M sulfuric acid	
Volume:	1 x 12 ml/vial, grey cap	
TM E-9010	**CONJUGATE**	**Antibody Conjugate** – ready to use
Content:	Rabbit anti-chromogranin A antibody, conjugated with peroxidase	
Volume:	1 x 6 ml/vial, red cap	
Description:	Species is rabbit	
Hazard pictograms:	GHS07	
Signal word:	Warning	
Hazardous ingredients:	2-methyl-2H-isothiazol-3-one	
Hazard statements:	H317 May cause an allergic skin reaction.	
Precautionary statements:	P280 Wear protective gloves. P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water. P333+P313 If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. P501 Dispose of contents/container to an authorised waste collection point.	
TM E-9013	**ASSAY-BUFF**	**Assay Buffer** – ready to use
Content:	Buffer with proteins and non-mercury preservatives	
Volume:	1 x 50 ml/vial, blue cap	
Description:	Species of protein in the buffer is bovine	
TM E-9031	**96**	**Chromogranin A Microtiter Strips** – ready to use
Content:	1 x 96 well (12x8) goat anti-chromogranin A antibody precoated microwell plate in a resealable pouch with desiccant	
Description:	Species is goat	

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

4.2 Calibration and Controls

Standards and Controls – ready to use

Cat. no.	Component	Colour/Cap	Concentration [µg/l] CgA	Volume/Vial
TM E-9001	**STANDARD A**	white	0*	1 ml
TM E-9002	**STANDARD B**	yellow	30	1 ml
TM E-9003	**STANDARD C**	orange	110	1 ml
TM E-9004	**STANDARD D**	blue	450	1 ml
TM E-9005	**STANDARD E**	grey	900	1 ml
TM E-9051	**CONTROL 1**	green	Refer to QC-Report for expected value and acceptable range.	1 ml
TM E-9052	**CONTROL 2**	red		1 ml
Content:	Assay Buffer with a defined quantity of human Chromogranin A and stabilizing protein.			
Description:	Chromogranin A is derived from human, the stabilizing protein is from bovine origin.			
	* for calculating the results, a concentration of 0.001 µg/l must be assigned for Standard A (0 µg/l), which is necessary for the logarithmic presentation of the data (see chapter 7).			

4.3 Additional materials required but not provided in the kit

- Water (deionized, distilled, or ultra-pure)
- Absorbent material (paper towel)

4.4 Additional equipment required but not provided in the kit

- Calibrated precision pipettes to dispense volumes between 20 – 400 µl
- Disposable pipette tips
- Microtiter plate washing device (manual, semi-automated or automated)
- ELISA reader capable of reading absorbance at 450 nm and if possible 620 – 650 nm
- Microtiter plate shaker (shaking amplitude 3 mm; approx. 600 rpm)
- Vortex mixer
- Timer

5. Sample collection, handling and storage

Serum
Collect blood by venipuncture, allow to clot, and separate serum by centrifugation according to manufacturer's instructions. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.
When in doubt, it is recommended that hemolytic, icteric, and lipemic samples not be used in the assay (see 2.2).
Storage: Up to 2 days at 2 – 8 °C; storage for a longer period (up to 6 months) at -20 °C.
Repeated freezing and thawing should be avoided.

6. Test procedure

Allow all reagents and samples to reach room temperature and mix thoroughly by gentle inversion before use. Number the microwell plates (Microtiter Strips which are removed from the frame for usage should be marked accordingly to avoid any mix-up). Standards, Controls and specimen samples should be assayed in duplicate.
The binding of the antisera and of the enzyme conjugate and the activity of the enzyme are temperature dependent. The higher the temperature, the higher the absorption values will be. Varying incubation times will have similar influences on the absorbance. The optimal temperature during the enzyme immunoassay is between 20 – 25 °C.

⚠ *The use of a microtiter plate shaker with the following specifications is mandatory: shaking amplitude 3 mm; approx. 600 rpm. Shaking with differing settings might influence the results.*

6.1 Preparation of reagents and further notes

Wash Buffer
Dilute the 20 ml Wash Buffer Concentrate **WASH-CONC** **50X** with water to a final volume of 1000 ml.
Storage: 2 months at 2 – 8 °C

Chromogranin A Microtiter Strips
In rare cases residues of the blocking and stabilizing reagent can be seen in the wells as small, white dots or lines. These residues do not influence the quality of the product.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

6.2 Preparation of samples – Dilution

1.	Prior to use, the serum samples have to be diluted **1+20** with **ASSAY-BUFF** e. g. 20 µl of serum sample + 400 µl of **ASSAY-BUFF**.
	Serum samples which have been found off-curve should also be diluted accordingly with **ASSAY-BUFF** and re-assayed.

6.3 Chromogranin A ELISA

1.	Pipette **50 µl** of the **standards, controls** and **diluted samples** into the appropriate wells of the **Chromogranin A Microtiter Strips 96** and incubate **1 h** at **RT** (20 – 25 °C) on a **shaker** (approx. 600 rpm).
2.	Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate **4 times** by adding **300 µl** of **Wash Buffer, discarding** the content and **blotting dry each time** by tapping the inverted plate on absorbent material.
3.	Pipette **50 µl** of the **CONJUGATE** into all wells and incubate **1 h** at **RT** (20 – 25 °C) on a **shaker** (approx. 600 rpm).
4.	Discard or aspirate the content of the wells. Wash the plate **4 times** by adding **300 µl** of **Wash Buffer, discarding** the content and **blotting dry each time** by tapping the inverted plate on absorbent material.
5.	Pipette **100 µl** of the **SUBSTRATE** into all wells.
6. ⚠	Incubate for **25 ± 5 min** at **RT** (20 – 25 °C) on a **shaker** (approx. 600 rpm). ***Avoid exposure to direct sunlight!***
7.	Add **100 µl** of the **STOP-SOLN** to all wells and shake the microtiter plate shortly.
8.	**Read** the absorbance of the solution in the wells within 10 min, using a microtiter plate reader set to **450 nm** (if available a reference wavelength between 620 nm and 650 nm is recommended).

7. Calculation of results

Measuring range	**Chromogranin A in serum**
	2.3 – 900 µg/l

The standard curve, which can be used to determine the concentration of the unknown samples, is obtained by plotting the absorbance readings (calculate the mean absorbance) of the standards (linear, y-axis) against the corresponding standard concentrations (logarithmic, x-axis) using a concentration of 0.001 µg/l for Standard A (for calculating the results, a concentration of 0.001 µg/l must be assigned for Standard A (0 µg/l), which is necessary for the logarithmic presentation of the data. Use non-linear regression for curve fitting (e. g. 4-parameter, marquardt).

The concentrations of the samples and controls can be read directly from the standard curve.
Samples found with concentrations higher than the highest standard (Standard E) should be diluted accordingly with **ASSAY-BUFF** and must be re-assayed. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

7.1 Expected reference value

The values are based on the study by van Treijen, Korse [7] using the B·R·A·H·M·S Kryptor CgA II, which also served as a reference in the method comparison.

	Chromogranin A in serum
ULN (Upper Limit of Normal)	< 100 µg/l
Typical pathological range	Up to 143,500 µg/l

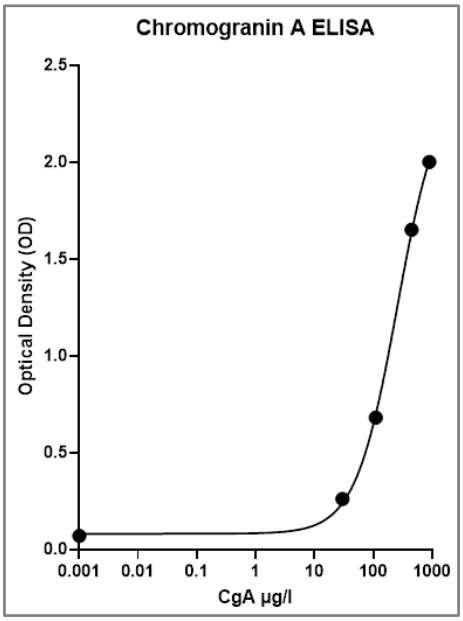
Interpretation of results

The measured concentration of CgA should always be interpreted in the context of the overall clinical picture and other diagnostic findings. Values above the upper limit of normal (ULN) may indicate a neuroendocrine tumor (NET) but must be evaluated considering the stated limitations. An elevated CgA value alone is not equivalent to a confirmed diagnosis; this must always be verified by further procedures (e.g., imaging, histopathology).
For monitoring, the dynamics of the measured values provide important indicators. While a continuous increase may suggest tumor progression, decreasing or stable values may signal a response to therapy. To ensure a reliable trend analysis and avoid method-dependent fluctuations between different assays, follow-up measurements should always be performed using the same assay system.

Please use only the valid version of the instructions for use provided with the kit

7.2 Typical standard curve

⚠ *Example: Do not use for calculation!*



8. Control samples

It is recommended to use control samples according to national regulations. Use controls at both normal and pathological levels. Commercially obtained control samples should be treated like unknown samples. Control samples should fall within established confidence limits. The confidence limits of the kit controls are indicated on the QC-Report.

9. Assay characteristics

9.1 Performance data

Analytical Sensitivity	
Limit of Blank (LOB)	0.9 µg/l
Limit of Detection (LOD)	1.4 µg/l
Limit of Quantification (LOQ)	2.3 µg/l

Precision					
Intra-Assay			**Inter-Assay**		
n = 12			n = 10		
Sample	Mean ± SD [µg/l]	CV [%]	Sample	Mean ± SD [µg/l]	CV [%]
1	43.6 ± 1.2	2.8	1	73.0 ± 3.8	5.2
2	73.5 ± 3.0	4.2	2	102 ± 3.5	3.5
3	103 ± 3.4	3.3	3	161 ± 5.7	3.6
4	161 ± 10.1	6.3	4	300 ± 16.0	5.3
5	283 ± 14.6	5.1			
6	502 ± 15.9	3.2			

Lot-to-Lot			
	Sample	Mean ± SD [µg/l]	CV [%]
Chromogranin A in serum (n = 3)	1	46.3 ± 2.3	5.1
	2	111 ± 7.2	6.5
	3	479 ± 61.8	12.9

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Recovery			
	Range [µg/l]	Mean [%]	Range [%]
Chromogranin A	43.6 – 502	102	100 – 104

Linearity			
	Serial Dilution up to	Mean [%]	Range [%]
Chromogranin A	1:64	92	91 – 96

The linearity within the measuring range was determined according to the CLSI standard CLSI EP06-Ed2. The linearity is given if the determined value does not deviate by more than 15% from the forecast value.

Linear range	**Chromogranin A in serum**
	22.8 – 749 µg/l

The method comparison was conducted according to the CLSI standard CLSI EP09c 3rd ed.

Method comparison Chromogranin A ELISA (y) vs. B·R·A·H·M·S CgA II KRYPTOR (x)	
Passing-Bablok	n = 205 clinical serum samples y = 0.23 + 0.95x Spearman correlation coefficient (r): 0.95 (95% CI: 0.94 to 0.97)

Diagnostic Performance (GEP-NET) The data are based on published studies [7, 8] that were conducted using the B·R·A·H·M·S Kryptor CgA II, which was also used as the reference method in the internal method comparison.		
Intended Use	Diagnostic sensitivity [%]	Diagnostic specificity [%]
Diagnostic aid [7]	56	83
Disease monitoring [8]	34	93

9.2 Metrological Traceability

The values assigned to the standards and controls of the Chromogranin A ELISA are traceable to the reference method B·R·A·H·M·S Kryptor CgA II.

Standards and Controls	Uncertainty [%]
	7.5

Chromogranin A ELISA	Expanded Uncertainty [%] k = 2*
	16.5

* This defines an interval about the measured result that will include the true value with a probability of 95%.

10. References/Literature

1. O'Toole, D., et al., *ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: biochemical markers.* Neuroendocrinology, 2009. **90**(2): p. 194-202.
2. Verbeek, W.H., C.M. Korse, and M.E. Tesselaar, *GEP-NETs UPDATE: Secreting gastro-enteropancreatic neuroendocrine tumours and biomarkers.* Eur J Endocrinol, 2016. **174**(1): p. R1-7.
3. Singh, S. and C. Law, *Chromogranin A: a sensitive biomarker for the detection and post-treatment monitoring of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors.* Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2012. **6**(3): p. 313-34.
4. Louthan, O., *Chromogranin a in physiology and oncology.* Folia Biol (Praha), 2011. **57**(5): p. 173-81.
5. Yang, X., et al., *Diagnostic value of circulating chromogranin a for neuroendocrine tumors: a systematic review and meta-analysis.* PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0124884.
6. Corti, A., F. Marcucci, and T. Bachetti, *Circulating chromogranin A and its fragments as diagnostic and prognostic disease markers.* Pflugers Arch, 2018. **470**(1): p. 199-210.
7. van Treijen, M.J.C., et al., *Blood Transcript Profiling for the Detection of Neuroendocrine Tumors: Results of a Large Independent Validation Study.* Front Endocrinol (Lausanne), 2018. **9**: p. 740.
8. Meng, Q.H., et al., *Circulating Chromogranin A as a Surveillance Biomarker in Patients with Carcinoids-The CASPAR Study.* Clin Cancer Res, 2024. **30**(24): p. 5559-5567.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

For updated literature or any other information please contact your local supplier.
The summary of safety and performance according to article 29 of regulation (EU) 2017/746 is available on EUDAMED.

11. Changes

Version	Release Date	Chapter	Change
1.0	2026-06-16	N/A	– Newly created from the analogue IVDD product TM E-9000

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Symbols:

	Storage temperature		Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Use-by date		Batch code		For in-vitro diagnostic use only!
	Consult instructions for use		Content		CE marking of conformity
	Caution		Catalogue number		Distributor
	Date of manufacture		Do not re-use		

1. Einleitung

1.1 Verwendungszweck und Testprinzip

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Chromogranin A in Serum. Die Bestimmung von Chromogranin A hilft bei der Erkennung neuroendokriner Tumore und wird zur Beurteilung des Verlaufs der Krebsbehandlung eingesetzt. Das Kit ist für den professionellen, manuellen Gebrauch vorgesehen.
Die Bestimmung des Chromogranin A (CgA) folgt den grundlegenden Prinzipien eines Enzymimmunoassays und basiert auf dem Mikrotiterplattenformat.
Das CgA in den Proben, Kontrollen und Standards bindet in einem ersten Inkubationsschritt an CgA-spezifische Antikörper, die an die Festphase der Mikrotiterplatte gebunden sind. Nach der Inkubation und dem Waschschritt werden Meerrettichperoxidase-konjugierte CgA-Antikörper dazugegeben und es bildet sich ein „Sandwich". Nach dieser Inkubation werden die Wells der Mikrotiterplatte gründlich gewaschen und der entstandene Komplex wird schließlich durch Zugabe eines Substrates (TMB) durch eine Farbreaktion nachgewiesen. Die Reaktion wird bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen.
Mit Hilfe einer Standardkurve wird die Konzentration des CgA in den Proben ermittelt.

1.2 Klinische Anwendung

Chromogranin A (CgA) ist ein saures Glykoprotein bestehend aus 439 Aminosäuren, das in den sekretorischen Granula mit Dichtekern der meisten neuroendokrinen Zellen vorhanden ist [1]. Die Chromogranin-Familie besteht aus mindestens drei verschiedenen wasserlöslichen sauren Glykoproteinen (CgA, CgB und Secretogranin II, manchmal auch Chromogranin C genannt) [1].
Nach Stimulation werden CgA und andere Peptidhormone und Neuropeptide freigesetzt [1]. CgA wird auch von Tumoren neuroendokrinen Ursprungs sezerniert [1].
Neuroendokrine Tumore (NETs), die von neuroendokrinen Zellen ausgehen, finden sich weit verbreitet im ganzen Körper [2]. Die häufigsten Lokalisationen von NET sind die Lunge, der Magen, Blinddarm und sein Wurmfortsatz, Zwölffingerdarm, die Bauchspeicheldrüse, der Leerdarm/Krummdarm, Dickdarm und Mastdarm [3]. Vom Gastrointestinaltrakt ausgehende NET werden als gastroenteropankreatische neuroendokrine Tumore (GEP-NET) bezeichnet und machen etwa 2/3 aller neu auftretenden Fälle von NET aus [3]. Die jährliche Inzidenz von NET wird auf 2 – 5 Fälle pro 100.000 Einwohner geschätzt [2].
CgA wird im gesamten neuroendokrinen System weitgehend exprimiert und dient als allgemeiner Biomarker für eine Vielzahl neuroendokriner Tumore [3]. Die Bestimmung von CgA hilft bei der Erkennung von neuroendokrinen Tumoren und wird zur Beurteilung des Verlaufs dieser Krebsbehandlung eingesetzt [3-6].
Therapeutische Konsequenzen dürfen niemals allein auf Grund von Laborwerten herangezogen werden, auch wenn diese Werte in Übereinstimmung mit den Qualitätskriterien der Methode beurteilt werden. Jedes Laborergebnis trägt immer nur zu einem Teil des klinischen Bildes bei.
Nur wenn die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem klinischen Gesamtbild stehen, dürfen daraus therapeutische Konsequenzen abgeleitet werden.

2. Verfahrenshinweise, Richtlinien, Warnungen und Anwendungsgrenzen

2.1 Verfahrenshinweise, Richtlinien und Warnungen

(1) Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt. Für eine erfolgreiche Anwendung dieses Kits benötigen die Anwender ein umfassendes Verständnis dieses Protokolls. Einzig die im Kit enthaltene Gebrauchsanweisung ist gültig und bei der Durchführung des Assays zu verwenden. Für eine zuverlässige Leistung müssen die mitgelieferten Anweisungen genau und sorgfältig befolgt werden.
(2) Dieser Assay wurde für die unter Verwendungszweck (siehe Kapitel 1) angegebene Probenart validiert. Jede nicht zugelassene Anwendung dieses Kits obliegt der Verantwortung des Anwenders und entbindet den Hersteller von jeglicher Haftung.
(3) Die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) sind zu befolgen.
(4) Geeignete persönliche Schutzausrüstung (Kittel, Einweghandschuhe und Schutzbrille) ist zu tragen, um die Exposition gegenüber potenziell gesundheitsgefährdenden Stoffen zu reduzieren.
(5) Falls in Zusammenhang mit diesem Produkt schwerwiegende Vorfälle auftreten sollten, sollen diese dem Hersteller und den zuständigen nationalen Behörden gemeldet werden.
(6) Alle Reagenzien des Kits sowie die Proben sollten vor der Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig, aber gründlich gemischt werden. Verwenden Sie für Verdünnungs- oder Rekonstitutionszwecke deionisiertes, destilliertes oder ultrareines Wasser. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Reagenzien und Proben vermeiden.
(7) Die Mikrotiterplatte verfügt über einzeln herausnehmbare und abbrechbare Streifen. Ungenutzte Wells müssen bei 2 – 8 °C mit Trockenmittelbeutel im verschlossenen Folienbeutel gelagert und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden. Die aus dem Rahmen entnommenen Mikrotiterstreifen müssen entsprechend gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden.
(8) Standards, Kontrollen und Proben sollten in Doppelbestimmung gemessen werden.
(9) Sobald der Test begonnen wurde, sollten alle Schritte ohne Unterbrechung ausgeführt werden. Es muss dafür gesorgt werden, dass die erforderlichen Reagenzien, Materialien und Geräte zur vorgesehenen Zeit einsatzbereit sind.
(10) Die Inkubationszeiten haben Einfluss auf die Ergebnisse. Alle Wells sollten in der gleichen Reihenfolge und zeitlichen Abfolge behandelt werden.

Please use only the valid version of the instructions for use provided with the kit

(11) Zur Vermeidung einer Kontamination der Reagenzien ist bei jeder Abgabe eines Reagenzes, einer Probe, eines Standards und einer Kontrolle eine neue Einwegpipettenspitze zu verwenden.
(12) Bei jeder Testanwendung muss eine Standardkurve erstellt werden.
(13) Bei jeder Testanwendung sollten Kontrollen mitgetestet werden, deren Werte innerhalb der bekannten Vertrauensgrenzen liegen müssen. Die gültigen Vertrauensgrenzen der Kitkontrollen können dem QC-Report entnommen werden, der dem Kit beiliegt.
(14) Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Chargenbezeichnungen nicht im selben Test verwenden. Reagenzien nach dem auf dem Kitetikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr benutzen.
(15) Für Informationen zu den im Kit enthaltenen gesundheitsgefährdenden Stoffen siehe das Sicherheitsdatenblatt (SDS). Das Sicherheitsdatenblatt dieses Produkts ist direkt auf der Webseite des Herstellers abrufbar oder auf Anfrage erhältlich.
(16) Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende, potenziell infektiöse Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.
(17) Die in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen erwarteten Referenzwerte dienen nur als Hinweis. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwertintervalle erstellt.
(18) Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss der Hersteller in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen sachgerecht gelagert werden, bis der Hersteller entscheidet, wie mit ihnen zu verfahren ist. Sollte entschieden werden, dass sie für Messungen nicht mehr geeignet sind, müssen sie entsprechend den nationalen Richtlinien entsorgt werden.
(19) Therapeutische Maßnahmen dürfen sich nicht allein auf die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse stützen, sondern müssen mit anderen diagnostischen Tests und klinischen Beobachtungen abgewogen werden.
(20) Die humanes Serum oder Plasma enthaltenden Reagenzien des Kits wurden mit geprüften Verfahren auf HIV I/II, HBsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Dennoch sollten sämtliche Reagenzien bei der Handhabung und Entsorgung als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandelt werden.

2.2 Grenzen des Tests

Diagnostische Limitationen
Chromogranin A besitzt eine eingeschränkte Sensitivität und Spezifität. Ein unauffälliger Befund schließt einen neuroendokrinen Tumor nicht aus; erhöhte Werte können andere klinische Ursachen haben. Ergebnisse sind nur im klinischen Gesamtkontext und in Kombination mit anderen diagnostischen Verfahren zu interpretieren.

Interferenzen durch Medikamente und Nahrung
Medikamente, insbesondere Protonenpumpenhemmer (PPIs), können den CgA-Wert im Blut erhöhen. Ein Absetzen der PPI-Therapie mehrere Tage bis Wochen vor der CgA-Bestimmung wird daher generell empfohlen. Auch andere Medikamente wie Serotonin-Wiederaufnahmehemmer, H2-Rezeptorantagonisten und Somatostatin-Analoga können den CgA-Wert beeinflussen.
Es wird empfohlen, bei der Probenabnahme nüchtern zu sein (Übernachtfasten), um potenzielle Effekte durch Nahrungsaufnahme zu reduzieren.

Limitationen im Zusammenhang mit onkologischen und nicht-onkologischen Erkrankungen
Erhöhte CgA-Konzentrationen können sowohl bei nicht-onkologischen Erkrankungen – wie kardiovaskulären, renalen, inflammatorischen und gastrointestinalen Erkrankungen (z. B. Hypertension, Niereninsuffizienz, chronische atrophische Gastritis) – als auch bei onkologischen Erkrankungen (z. B. Prostatakrebs, Eierstockkrebs) auftreten.

Interferenzen durch heterophile Antikörper
Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die mit den im Test eingesetzten Antikörpern interagieren und dadurch zu falsch hohen oder falsch niedrigen Konzentrationen führen können. Ein möglicher Einfluss kann nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Interferenzen und sachgemäßer Umgang mit Proben
Proben, die ein Präzipitat oder Fibrinfäden enthalten, können zu ungenauen Ergebnissen führen.
Biotin (bis zu 1.200 ng/ml), hämolytische Proben (bis zu 1 mg/ml Hämoglobin), ikterische Proben (bis zu 50 mg/dl Bilirubin) und lipämische Proben (bis zu 1.700 mg/dl Triglyceride) haben keinen Einfluss auf die Assayergebnisse.
Sollten die Konzentrationen nicht abzuschätzen sein und Zweifel bestehen, ob die oben genannten Grenzwerte für hämolytische, ikterische oder lipämische Proben eingehalten werden, sollten die Proben nicht im Assay eingesetzt werden.

High-Dose-Hook Effekt
Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test nicht auf.

Vergleichbarkeit der Ergebnisse
Für die Verlaufsmessung von Chromogranin A sollten Ergebnisse nur dann verglichen werden, wenn sie mit demselben Assay ermittelt wurden. Unterschiede zwischen Assays (z. B. in der Antikörperspezifität, Kalibrierung oder Messprinzip) können zu Schwankungen in den berichteten Werten führen, was zu einer Fehlinterpretation von Trends über die Zeit führen kann. Die Verwendung verschiedener Assays zur Überwachung eines einzelnen Patienten wird daher nicht empfohlen.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

3. Lagerung und Haltbarkeit

Das Kit muss bei 2 – 8 °C bis zum Verfalldatum gelagert werden. Das Kit und die Reagenzien dürfen nach Überschreiten des Verfalldatums nicht mehr verwendet werden. Einmal geöffnet sind die Reagenzien 2 Monate stabil, wenn sie bei 2 – 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel der ELISA-Platte sollte stets mit Trockenmittelbeutel sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

4. Materialien

Die Reagenzien dieses Kits reichen für 48 Doppelbestimmungen (5 Standards, 2 Kontrollen und 41 Proben in Doppelbestimmung).

4.1 Reagenzien im Kit

BA E-0030	**WASH-CONC** **50x**	**Waschpufferkonzentrat** – 50x konzentriert
Inhalt:	Puffer mit einem nicht-ionischen Detergenz und physiologischem pH	
Volumen:	1 x 20 ml/Fläschchen, Deckel lila	
BA E-0055	**SUBSTRATE**	**Substrat** – gebrauchsfertig
Inhalt:	Chromogenes Substrat mit 3,3‘,5,5‘-Tetramethylbenzidin, Substratpuffer und Wasserstoffperoxid	
Volumen:	1 x 12 ml/Fläschchen, Deckel schwarz	
BA E-0080	**STOP-SOLN**	**Stopplösung** – gebrauchsfertig
Inhalt:	0,25 M Schwefelsäure	
Volumen:	1 x 12 ml/Fläschchen, Deckel grau	
TM E-9010	**CONJUGATE**	**Antiserum Konjugat** – gebrauchsfertig
Inhalt:	Kaninchen anti-Chromogranin A Antikörper, konjugiert mit Peroxidase	
Volumen:	1 x 6 ml/Fläschchen, Deckel rot	
Beschreibung:	Spezies ist Kaninchen	
Gefahren-piktogramme:	GHS07	
Signalwort:	Achtung	
Gefährliche Inhaltsstoffe:	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on	
Gefahren-hinweise:	H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen.	
Sicherheits-hinweise:	P280 Schutzhandschuhe tragen. P302+P352 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen. P333+P313 Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. P501 Inhalt/Behälter autorisierter Abfallsammelstelle zuführen.	
TM E-9013	**ASSAY-BUFF**	**Assaypuffer** – gebrauchsfertig
Inhalt:	Puffer mit Proteinen und quecksilberfreien Konservierungsmitteln	
Volumen:	1 x 50 ml/Fläschchen, Deckel blau	
Beschreibung:	Spezies vom Protein in dem Puffer ist Rind	
TM E-9031	**96**	**Chromogranin A Mikrotiterstreifen** – gebrauchsfertig
Inhalt:	1 x 96 Wells (12x8) Ziege anti-Chromogranin A Antikörper vorbeschichtete Mikrotiterstreifen mit Trockenmittelbeutel in einem wiederverschließbaren Beutel	
Beschreibung:	Spezies ist Ziege	

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

4.2 Kalibratoren und Kontrollen

Standards und Kontrollen – gebrauchsfertig

Artikelnr.	Komponente	Deckel-farbe	Konzentration [µg/l] CgA	Volumen/ Fläschchen
TM E-9001	**STANDARD A**	weiß	0*	1 ml
TM E-9002	**STANDARD B**	gelb	30	1 ml
TM E-9003	**STANDARD C**	orange	110	1 ml
TM E-9004	**STANDARD D**	blau	450	1 ml
TM E-9005	**STANDARD E**	grau	900	1 ml
TM E-9051	**CONTROL 1**	grün	Die zu erwartenden Konzentrationen und Vertrauensbereiche sind auf dem QC-Report angegeben.	1 ml
TM E-9052	**CONTROL 2**	rot		1 ml

Inhalt: Assay-Puffer mit einer definierten Menge an humanem Chromogranin A und Stabilisierungsprotein.

Beschreibung: Das Chromogranin A ist humanen Ursprungs (Spezies Mensch), das Stabilisierungsprotein ist tierischen Ursprungs (Spezies Rind).

* Für die Berechnung der Ergebnisse muss Standard A (0 µg/l) eine Konzentration von 0,001 µg/l zugewiesen werden, die für die logarithmische Darstellung der Daten erforderlich ist (siehe Kapitel 7).

4.3 Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Materialien

- Wasser (deionisiert, destilliert oder ultra-pur)
- saugfähige Unterlage

4.4 Nicht im Kit enthaltene, aber zur Durchführung erforderliche Geräte

- Kalibrierte Präzisionspipetten zum Pipettieren von 20 – 400 µl
- Einweg-Pipettenspitzen
- Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten (manuell, halbautomatisch oder automatisch)
- Photometer mit 450 nm und, wenn möglich, 620 – 650 nm Filter zur Auswertung von Mikrotiterplatten
- Mikrotiterplattenschüttler (Schüttelamplitude 3 mm; ungefähr 600 rpm)
- Vortex-Mischer
- Laborwecker

5. Probensammlung, -behandlung und -lagerung

Serum
Blut durch Venenpunktion entnehmen, gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation (nach Angaben des Herstellers) abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.
Es wird im Zweifel empfohlen, hämolytische, ikterische und lipämische Proben nicht im Assay einzusetzen (siehe 2.2).
Lagerung: Bis zu 2 Tage bei 2 – 8 °C; für längere Zeit (bis zu 6 Monate) bei -20 °C.
Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden.

6. Testdurchführung

Vor dem Gebrauch müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht und vorsichtig durchmischt werden. Mikrotiterplatten müssen beschriftet werden (die aus dem Rahmen entnommenen Mikrotiterstreifen müssen entsprechend gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden). Standards, Kontrollen und Proben sollten in Doppelbestimmung gemessen werden.
Die Bindung des Antikörpers, Enzymkonjugats und die Aktivität des Enzyms sind temperaturabhängig. Je höher die Temperatur ist, desto größer werden die Absorptionswerte. Entsprechende Abweichungen ergeben sich ebenfalls durch die Inkubationszeiten. Die optimale Temperatur während des Enzymimmunoassays liegt zwischen 20 – 25 °C.

⚠ *Der verwendete Mikrotiterplattenschüttler muss folgende Spezifikationen haben: Schüttelamplitude 3 mm; ungefähr 600 rpm. Schütteln mit abweichenden Einstellungen kann die Ergebnisse beeinflussen.*

6.1 Vorbereitung der Reagenzien und weitere Hinweise

Waschpuffer
20 ml **WASH-CONC 50X** mit Wasser auf ein Endvolumen von 1000 ml verdünnen.
Lagerung: 2 Monate bei 2 – 8 °C

Chromogranin A Mikrotiterstreifen
Vereinzelt können Rückstände der Blockier- und Stabilisierlösung in den Wells zu sehen sein (kleine weiße Punkte oder Linien). Diese stellen keine Beeinträchtigung der Qualität des Produktes dar.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

6.2 Probenvorbereitung – Verdünnung

1.	Die Proben werden vor ihrer Verwendung im ELISA mit **ASSAY-BUFF** 1+20 verdünnt z. B. 20 µl Serum Probe + 400 µl **ASSAY-BUFF**.
	Proben, die oberhalb des Standardmessbereichs gefunden werden, müssen ebenfalls mit **ASSAY-BUFF** entsprechend verdünnt und erneut bestimmt werden.

6.3 Chromogranin A ELISA

1.	Jeweils **50 µl Standards**, **Kontrollen** und **vorverdünnte Proben** in die entsprechenden Wells der **Chromogranin A Mikrotiterstreifen** **96** pipettieren und **1 h** bei **RT** (20 – 25 °C) auf einem **Schüttler** (ca. 600 rpm) inkubieren.
2.	Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells **4-mal** gründlich mit **300 µl Waschpuffer** waschen, **ausleeren** und die Restflüssigkeit **jedes Mal** durch **Ausklopfen** auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
3.	**50 µl** **CONJUGATE** in alle Wells pipettieren und **1 h** bei **RT** (20 – 25 °C) auf einem **Schüttler** (ca. 600 rpm) inkubieren.
4.	Den Inhalt der Wells ausleeren oder absaugen. Die Wells **4-mal** gründlich mit **300 µl Waschpuffer** waschen, **ausleeren** und die Restflüssigkeit **jedes Mal** durch **Ausklopfen** auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
5.	**100 µl** **SUBSTRATE** in alle Wells pipettieren.
6. ⚠	Für **25 ± 5 Min** bei **RT** (20 – 25 °C) auf einem **Schüttler** (ca. 600 rpm) inkubieren. ***Direktes Sonnenlicht vermeiden!***
7.	**100 µl** **STOP-SOLN** in alle Wells pipettieren und die Miktrotiterplatte kurz schütteln.
8.	**Absorption** mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei **450 nm** innerhalb von 10 Min **messen** (falls vorhanden wird eine Referenzwellenlänge zwischen 620 und 650 nm empfohlen).

7. Berechnung der Ergebnisse

Messbereich	**Chromogranin A in Serum**
	2,3 – 900 µg/l

Die Standardkurve, mit deren Hilfe die Konzentration der unbekannten Proben ermittelt werden kann, wird durch Auftragen der gemessenen Standardabsorptionen (Berechnung der mittleren Absorption, linearer Maßstab auf der y-Achse) gegen die entsprechenden Standardkonzentrationen (logarithmischer Maßstab auf der x-Achse) mit einer Konzentration von 0,001 µg/l für Standard A erstellt (für die Berechnung der Ergebnisse muss Standard A (0 µg/l) eine Konzentration von 0,001 µg/l zugewiesen werden, die für die logarithmische Darstellung der Daten erforderlich ist). Für die Auswertung wird eine nicht-lineare Regression (z. B.: 4-parameter, marquardt) verwendet.

Die Konzentrationen der Proben und Kontrollen können direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, deren Konzentrationen oberhalb des höchsten Standards (Standard E) gefunden werden, müssen entsprechend mit Assaypuffer **ASSAY-BUFF** verdünnt und nochmals bestimmt werden. Bei der Berechnung der Konzentrationen muss dieser Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.

7.1 Erwartete Referenzbereiche

Die Werte basieren auf der Studie von van Treijen, Korse [7] mit dem B·R·A·H·M·S Kryptor CgA II, der auch als Referenz im Methodenvergleich diente.

	Chromogranin A in Serum
ULN (Upper Limit of Normal)	< 100 µg/l
Typischer pathologischer Bereich	Bis zu 143.500 µg/l

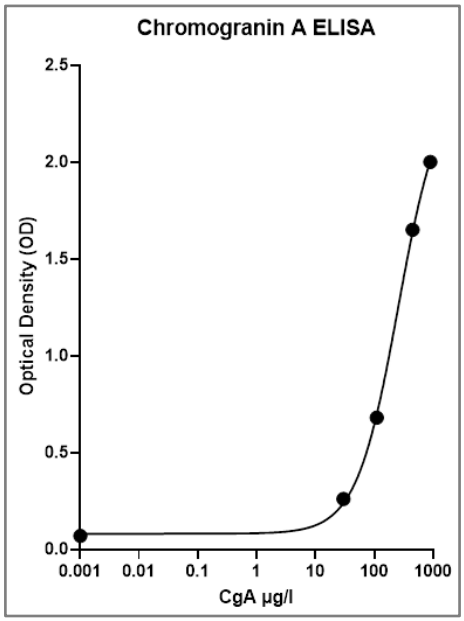
Interpretation der Ergebnisse

Die gemessene Konzentration von CgA sollte stets im Zusammenhang mit dem klinischen Gesamtbild sowie weiteren diagnostischen Befunden beurteilt werden. Werte oberhalb der oberen Normgrenze (ULN) können auf einen neuroendokrinen Tumor (NET) hindeuten, sind jedoch unter Berücksichtigung der genannten Limitationen zu bewerten. Ein erhöhter CgA-Wert allein ist nicht gleichbedeutend mit einer gesicherten Diagnose; diese muss stets durch weiterführende Verfahren (z. B. Bildgebung, Histopathologie) bestätigt werden. Zur Verlaufskontrolle liefert die Dynamik der Messwerte wichtige Hinweise. Während ein kontinuierlicher Anstieg auf eine Tumorprogression hindeuten kann, können sinkende oder stabile Werte ein Therapieansprechen signalisieren. Um eine verlässliche Trendanalyse zu gewährleisten und methodenbedingte Schwankungen zwischen verschiedenen Assays zu vermeiden, sollten Folgemessungen stets mit demselben Testsystem durchgeführt werden.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

7.2 Typische Standardkurve

⚠ *Beispiel: Bitte nicht für die Auswertung verwenden!*



8. Kontrollproben

Es wird empfohlen, Kontrollproben gemäß den nationalen Vorschriften zu verwenden. Verwenden Sie Kontrollen im normalen und pathologischen Bereich. Kommerzielle Kontrollproben müssen dabei wie die unbekannten Proben behandelt werden. Kontrollproben sollten innerhalb der festgelegten Vertrauensbereiche liegen. Die Vertrauensbereiche der Kitkontrollen sind im QC-Report angegeben.

9. Assaycharakteristika

9.1 Leistungsdaten

Analytische Sensitivität	
Limit of Blank (LOB)	0,9 µg/l
Limit of Detection (LOD)	1,4 µg/l
Limit of Quantification (LOQ)	2,3 µg/l

Präzision					
Intra-Assay			**Inter-Assay**		
n = 12			n = 10		
Probe	Mittelwert ± SD [µg/l]	CV [%]	Probe	Mittelwert ± SD [µg/l]	CV [%]
1	43,6 ± 1,2	2,8	1	73,0 ± 3,8	5,2
2	73,5 ± 3,0	4,2	2	102 ± 3,5	3,5
3	103 ± 3,4	3,3	3	161 ± 5,7	3,6
4	161 ± 10,1	6,3	4	300 ± 16,0	5,3
5	283 ± 14,6	5,1			
6	502 ± 15,9	3,2			

Lot-zu-Lot			
	Probe	Mittelwert ± SD [µg/l]	CV [%]
Chromogranin A in serum (n = 3)	1	46,3 ± 2,3	5,1
	2	111 ± 7,2	6,5
	3	479 ± 61,8	12,9

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Wiederfindung			
	Bereich [µg/l]	Mittelwert [%]	Bereich [%]
Chromogranin A	43,6 – 502	102	100 – 104

Linearität			
	Serielle Verdünnung bis	Mittelwert [%]	Bereich [%]
Chromogranin A	1:64	92	91 – 96

Die Linearität innerhalb des Messbereichs wurde bestimmt nach dem CLSI Standard CLSI EP06-Ed2. Die Linearität ist gegeben, wenn der ermittelte Wert um nicht mehr als 15% vom Vorhersagewert abweicht.

Linearer Bereich	**Chromogranin A in Serum**
	22,8 – 749 µg/l

Der Methodenvergleich wurde nach dem CLSI Standard CLSI EP09c 3rd ed. durchgeführt und ausgewertet.

Methodenvergleich Chromogranin A ELISA (y) vs. B·R·A·H·M·S CgA II KRYPTOR (x)	
Passing-Bablok	n = 205 klinische Serumproben y = 0,23 + 0,95x Spearman-Korrelationskoeffizient (r): 0,95 (95% KI: 0,94 bis 0,97)

Diagnostische Leistung (GEP-NET) Die Daten basieren auf publizierten Studien [7, 8], die unter Verwendung des B·R·A·H·M·S Kryptor CgA II durchgeführt wurden, welcher zudem im internen Methodenvergleich als Referenzmethode eingesetzt wurde.		
Verwendungszweck	Diagnostische Sensitivität [%]	Diagnostische Spezifität [%]
Diagnosehilfe [7]	56	83
Verlaufskontrolle [8]	34	93

9.2 Metrologische Rückführbarkeit

Die zugeordneten Werte der Standards und Kontrollen vom Chromogranin A ELISA sind auf die B·R·A·H·M·S Kryptor CgA II Methode rückführbar.

Standards und Kontrollen	Unsicherheit [%]
	7,5

Chromogranin A ELISA	Erweiterte Unsicherheit [%] k = 2*
	16,5

* Damit wird ein Intervall um das gemessene Ergebnis definiert, das den wahren Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% einschließt.

10. Referenzen/Literatur

1. O'Toole, D., et al., *ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: biochemical markers.* Neuroendocrinology, 2009. **90**(2): p. 194-202.
2. Verbeek, W.H., C.M. Korse, and M.E. Tesselaar, *GEP-NETs UPDATE: Secreting gastro-enteropancreatic neuroendocrine tumours and biomarkers.* Eur J Endocrinol, 2016. **174**(1): p. R1-7.
3. Singh, S. and C. Law, *Chromogranin A: a sensitive biomarker for the detection and post-treatment monitoring of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors.* Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2012. **6**(3): p. 313-34.
4. Louthan, O., *Chromogranin a in physiology and oncology.* Folia Biol (Praha), 2011. **57**(5): p. 173-81.
5. Yang, X., et al., *Diagnostic value of circulating chromogranin a for neuroendocrine tumors: a systematic review and meta-analysis.* PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0124884.
6. Corti, A., F. Marcucci, and T. Bachetti, *Circulating chromogranin A and its fragments as diagnostic and prognostic disease markers.* Pflugers Arch, 2018. **470**(1): p. 199-210.
7. van Treijen, M.J.C., et al., *Blood Transcript Profiling for the Detection of Neuroendocrine Tumors: Results of a Large Independent Validation Study.* Front Endocrinol (Lausanne), 2018. **9**: p. 740.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

8. Meng, Q.H., et al., *Circulating Chromogranin A as a Surveillance Biomarker in Patients with Carcinoids-The CASPAR Study.* Clin Cancer Res, 2024. **30**(24): p. 5559-5567.

Aktuelle Literatur oder weitere Informationen zum Test werden Ihnen auf Anfrage von Ihrem Anbieter gerne zur Verfügung gestellt.
Der Kurzbericht über Sicherheit und Leistung gemäß Artikel 29 der Verordnung (EU) 2017/746 ist in EUDAMED verfügbar.

11. Änderungen

Version	Freigabedatum	Kapitel	Änderung
1.0	2026-06-16	N/A	– Neu erstellt aus dem analogen IVDD-Produkt TM E-9000

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Teste
	Verwendbar bis	LOT	Chargennummer	IVD	In vitro Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten	CONT	Inhalt		CE-Kennzeichnung
	Achtung	REF	Katalognummer		Vertriebspartner
	Herstellungsdatum		Nicht wiederverwenden		