

Chromogranin-A-RIA

REF KIPERB321



100

Instruções de utilização

Português



Por favor, leia atentamente este manual do utilizador antes de utilizar o aparelho.

É possível descarregar outras traduções deste Manual de Utilização a partir do nosso site: <https://www.DiaSource-diagnostics.com>



DIAsource ImmunoAssays S.A.

Rue du Bosquet, 2

1348 Louvain-la-Neuve (Belgium)

HISTÓRICO DAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO (IFU)

Versão: 1.0

Data: 14.08.2026. - Esta versão substitui todos os manuais de instruções anteriores.

Alterações ao conteúdo em relação à versão anterior:

Número da versão	Alterações em relação à versão anterior
1	• Reestruturado e reformulado para maior clareza e alinhamento com os requisitos do «Regulamento relativo aos dispositivos médicos de diagnóstico in vitro» (IVDR) (UE) 2017/746. • Em conformidade com os requisitos do IVDR, foram adicionadas informações/dados nas secções «Características de Desempenho Analítico», «Características de Desempenho Clínico», «Advertências e Precauções», bem como «Limitações». • Foram adicionadas as seguintes secções: «Aviso Importante» e «Símbolos». • A secção «Bibliografia» foi atualizada.

Chromogranin-A-RIA KIPERB321

Este dispositivo é um imunoensaio radiométrico (precipitação) para a determinação quantitativa do cromogranina-A (CgA) no soro humano.

APENAS PARA USO PROFISSIONAL

PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DO ENSAIO

Princípio do ensaio	radiométrico
Tipo de amostra	soro
Volume da amostra	100 µL (diluído 10x)
Tempo de incubação	20-24 horas + 30-60 min a 2-8 °C
Os resultados são apresentados em	nmol/L
Intervalo de medição linear direto	2,2 - 70 nmol/L
Número de calibradores	6

SERVIÇOS DiaSource

Informações	info@diasource.be	+32 (0) 10 84 99 11
Serviço de Apoio ao Cliente	customer.service@diasource.be	+32 (0) 10 84 99 00
Gestores de Produto	products.support@diasource.be	

1. FINALIDADE PREVISTA

O kit DiaSource Chromogranin-A-RIA é um radioimunoensaio (RIA) não automatizado destinado a ser utilizado para a medição quantitativa da cromogranina-A (CgA) no soro humano por profissionais qualificados em laboratórios médicos.

O dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico, na monitorização e no acompanhamento pós-operatório de tumores neuroendócrinos (TNE).

A medição da CgA é útil em doentes com suspeita ou confirmação de TNE.

2. INFORMAÇÕES GERAIS

Um tumor neuroendócrino é uma neoplasia heterogénea que surge das células neuroendócrinas do sistema endócrino difuso e que secreta uma série de substâncias (Bevere *et al*, 2023; Komarnicki *et al*, 2022; Ciobanu *et al*, 2021; Regolo *et al*, 2023; Koffas *et al*, 2023; Mukherjee *et al*, 2024). Entre elas, a cromogranina-A (CgA) é uma glicoproteína de 439 aminoácidos da família das graninas, libertada juntamente com hormonas peptídicas e aminas biogénicas como parte do sistema neuroendócrino (Bevere *et al.*, 2023; Komarnicki *et al.*, 2022; Ciobanu *et al.*, 2021; Koffas *et al.*, 2023).

Por conseguinte, representa um marcador de amplo espectro para os TNEs, tanto em tumores funcionantes como não funcionantes, apresentando diferentes níveis de sensibilidade e especificidade (variando entre 42-93% e 56-100%, respetivamente), dependendo do tipo, localização e carga tumoral (Komarnicki *et al.*, 2022; Koffas *et al.*, 2023). Além disso, a CgA revela grande valor na monitorização da progressão da doença e da resposta ao tratamento, bem como na previsão da recorrência (Komarnicki *et al*, 2022).

A cascata de diagnóstico deve ser iniciada assim que houver qualquer suspeita clínica. A avaliação inicial inclui a análise de peptídeos hormonais, como a cromogranina A, e, em doentes selecionados com sintomas indicativos de uma síndrome endócrina específica, o marcador específico em questão (embora esta questão não venha a ser abordada aqui). A imagiologia radiológica e funcional é então utilizada para complementar a abordagem diagnóstica, bem como para avaliar a extensão da doença (estadiamento), avaliar a resposta à terapia e localizar o foco primário. Em última análise, o método de referência para o diagnóstico continua a ser a histopatologia (Regolo *et al*, 2023; Koffas *et al*, 2023).

3. PRINCÍPIO DO TESTE

O princípio de funcionamento do radioimunoensaio (RIA) por precipitação baseia-se na competição entre o antigénio radioativo e o não radioativo por um número fixo de locais de ligação do anticorpo. A quantidade de ^{125}I -marcado que se liga ao anticorpo é inversamente proporcional à concentração de analito não marcado presente.

O analito ligado ao anticorpo é separado da fração não ligada utilizando uma técnica de precipitação com anticorpo duplo (DA). A radioatividade dos precipitados (correspondente à fração do analito marcado com ^{125}I ligado ao anticorpo) é medida com um contador gama.

4. MATERIAL FORNECIDO

O kit Chromogranin-A-RIA inclui os seguintes componentes principais:

Nome	Símbolo	Cor da etiqueta	Origem	Descrição	Reconstituição
Tracer (iodo 125 Ag)		Vermelho		1 frasco (12,5 mL) de ¹²⁵ cromogranina A humana recombinante marcada com iodo (56 kBq) em solução salina tamponada com fosfato, com albumina sérica bovina e azida de sódio (< 0,1%).	Pronto para utilização.
Antissoro		Azul		1 frasco de antissoro de coelho liofilizado contra a cromogranina A humana (aminoácidos 116-439) em solução salina tamponada com fosfato e albumina sérica bovina.	Adicionar 11 mL de água destilada.
DASP		Verde		1 frasco (52 mL) de Ig anti-coelho acoplada a partículas de celulose numa solução salina tamponada com fosfato, com albumina sérica bovina e azida de sódio (< 0,1%).	Pronto para utilização.
Calibrador		Amarelo		1 frasco de calibrador liofilizado em solução salina tamponada com fosfato, contendo CgA recombinante, albumina sérica bovina e azida de sódio (< 0,1%).	Reconstituir com água destilada, na quantidade indicada no rótulo do frasco.
Controlo 1		Cinzento		1 frasco de CgA recombinante liofilizado em solução salina tamponada com fosfato, contendo albumina sérica bovina e azida de sódio (< 0,1%). Consulte o valor exato no rótulo do frasco.	Adicionar 1 mL de água destilada.
Controlo 2		Cinzento		1 frasco de CgA recombinante liofilizado em solução salina tamponada com fosfato, contendo albumina sérica bovina e azida de sódio (< 0,1%). Consulte o valor exato no rótulo do frasco.	Adicionar 1 mL de água destilada.
Tampão de ensaio		Preto		1 frasco (50 mL) de solução salina tamponada com fosfato contendo albumina sérica bovina e azida de sódio (< 0,1%). A utilizar para a diluição de amostras, preparação de calibradores de trabalho e para a substituição do	Pronto para utilização.

Nome	Símbolo	Cor da etiqueta	Origem	Descrição	Reconstituição
				antissoro em controlos de ligação não específica.	

5. MATERIAL NÃO FORNECIDO

O seguinte material é necessário, mas não está incluído no kit:

- Pipetas para a dosagem precisa de diferentes volumes (recomenda-se a utilização de pipetas precisas com pontas de plástico descartáveis)
- Tubos de ensaio descartáveis de poliestireno: 11-13 x 55 mm
- Misturador de vórtice (vortex)
- Água destilada
- Centrífuga refrigerada, com capacidade mínima de 1700 x g
- Pode ser utilizado qualquer contador de raios gama capaz de medir a radiação do iodo-125 (com um rendimento mínimo de 70 %)
- Sistema de aspiração

6. COLETA, MANUSEAMENTO E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Apenas devem ser utilizados os seguintes tipos de amostra: soro humano.

É da responsabilidade do operador garantir que são utilizados os tipos de amostra corretos.

Respeite as seguintes recomendações para o manuseamento, processamento e armazenamento das amostras:

- A recolha de amostras é realizada de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (GCLP).
- A colheita de sangue humano é efetuada por punção venosa em tubos vermelhos sem aditivos ou em tubos contendo um ativador de coagulação.
- Deixe as amostras de soro coagularem completamente antes da centrifugação.
- O soro humano deve ser prontamente separado das células sanguíneas, de preferência numa centrífuga refrigerada.
- Devem evitar-se ciclos repetidos de congelamento/descongelamento.
- As amostras cuja leitura seja superior ao calibrador mais concentrado devem ser diluídas com o tampão do ensaio, de modo a que a sua concentração se situe dentro do intervalo de medição.

A seguinte estabilidade de amostras de soro humano é apresentada a título indicativo (Thirkettle *et al.*, 2023):

Temperatura	Tempo de armazenamento
Temperatura ambiente (20 - 25 °C)	24 horas
Refrigerado (2 - 8 °C)	3 dias
Congelado (preferencial) (-20 °C)	7 dias

7. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

Antes da abertura ou reconstituição, todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo, se mantidos a uma temperatura **entre 2 e 8 °C**, com base na avaliação da deriva do mensurando, de acordo com as orientações do documento CLSI EP25.

Após a primeira utilização, os componentes permanecem estáveis até à **data de validade do kit** (indicada no rótulo do kit), com base na avaliação da deriva do mensurando, de acordo com as orientações do documento CLSIEP25, desde que sejam armazenados e manuseados conforme indicado na tabela seguinte:

Nome	Temperatura de conservação após a primeira abertura	Instruções de manuseamento
Antissoro	2 - 8 °C	• Manter no frasco original, bem fechado.
DASP	2 - 8 °C	• Manter no frasco original, bem fechado. • Agitar continuamente durante a pipetagem.
Calibrador	-20 °C ou menos.	• Congelar imediatamente após a utilização. • É permitido apenas um ciclo de congelamento-descongelamento. • Manter no frasco original, bem fechado.
Controlo 1	-20 °C ou menos.	• Congelar imediatamente após a utilização. • É permitido apenas um ciclo de congelamento-descongelamento. • Manter no frasco original, bem fechado.
Controlo 2	-20 °C ou menos.	• Congelar imediatamente após a utilização. • É permitido apenas um ciclo de congelamento-descongelamento. • Manter no frasco original, bem fechado.
Tampão de ensaio	2 - 8 °C	• Manter no frasco original, bem fechado.
Tracer (iodo 125 Ag)	2 - 8 °C	• Manter no frasco original, bem fechado. • É permitido apenas um ciclo de congelamento-descongelamento.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

UTILIZADORES PREVISTOS

O dispositivo só deve ser utilizado por profissionais qualificados em laboratórios médicos equipados com procedimentos de segurança radiológica, em conformidade com a

CONSIDERAÇÕES DE QUALIDADE

- Não utilize o kit nem os seus componentes após a data de validade.
- Não misture componentes de lotes diferentes do kit.
- Deixe todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente (18 °C a 25 °C) durante 15 minutos antes da utilização.
- Misture bem todos os reagentes e amostras, agitando suavemente ou girando o tubo.
- Para evitar a contaminação cruzada, utilize uma ponta de pipeta descartável limpa para a adição de cada reagente e amostra.
- As pipetas de alta precisão ou os equipamentos de pipetagem automatizados irão melhorar a precisão do ensaio.
- Respeite os tempos de incubação.
- Prepare uma curva de calibração para cada ensaio; não utilize dados de ensaios anteriores.
- As amostras de doentes com uma concentração superior ao intervalo de medição devem ser classificadas como «> calibrador mais concentrado». O resultado não deve ser extrapolado. A amostra do doente em questão deve ser diluída e testada novamente.
- As amostras de doentes com uma concentração inferior ao LoQ devem ser classificadas como «< LoQ». O resultado não deve ser extrapolado.
- A água utilizada para a reconstituição dos reagentes liofilizados deve ser destilada num aparelho totalmente de vidro ou ter pureza equivalente. Dissolva o conteúdo dos frascos agitando-os suavemente e evitando a formação de espuma.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

- **Tracer (iodo 125 Ag)**
Pronto para utilização.
- **Antissoro**
Adicionar 11 mL de água destilada.
- **DASP**
Pronto para utilização.
- **Calibrador**
Reconstituir com água destilada, na quantidade indicada no rótulo do frasco.
- **Controlo 1**
Adicionar 1 mL de água destilada.
- **Controlo 2**
Adicionar 1 mL de água destilada.
- **Tampão de ensaio**
Pronto para utilização.

PROCEDIMENTO

1. Deixe os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes de os utilizar.
2. Reconstitua os reagentes liofilizados de acordo com as instruções.
3. Rotule os tubos em duplicado para contagens totais (TC), ligação não específica (NSB), calibradores 0-6, controlos e amostras.

4. Prepare os calibradores de trabalho de cromogranina A por diluição do **calibrador único** de 14 nmol/L com o tampão de ensaio, de acordo com o seguinte (armazenar a -20 °C ou a uma temperatura inferior, caso seja reutilizado):

a/ **Calibrador 6** = 0,40 mL de calibrador 14 nmol/L + 0,40 mL de tampão de ensaio = 7,00 nmol/L.

b/ **Calibrador 5** = 0,40 mL de calibrador a 7,00 nmol/L + 0,40 mL de tampão de ensaio = 3,50 nmol/L.

c/ **Calibrador 4** = 0,40 mL de calibrador a 3,50 nmol/L + 0,40 mL de tampão de ensaio = 1,75 nmol/L.

d/ **Calibrador 3** = 0,40 mL de calibrador a 1,75 nmol/L + 0,40 mL de tampão de ensaio = 0,88 nmol/L.

e/ **Calibrador 2** = 0,40 mL de calibrador a 0,88 nmol/L + 0,40 mL de tampão de ensaio = 0,44 nmol/L.

f/ **Calibrador 1** = 0,40 mL de calibrador a 0,44 nmol/L + 0,40 mL de tampão de ensaio = 0,22 nmol/L.

g/ **Calibrador 0** = Tampão de ensaio = 0 nmol/L.

5. Diluir as amostras na proporção de 1:10 com o tampão de ensaio (por exemplo, 50 µL de amostra e 450 µL de tampão de ensaio). Agitar cuidadosamente num vortex.

6. Dispense **100 µL** de calibradores (0,00-7,00 nmol/L), amostras diluídas e controlos nos respetivos tubos.

7. Introduza **200 µL** de tampão de ensaio nos tubos NSB.

8. Adicione **100 µL** de marcador (¹²⁵I-Chromogranin A) em todos os tubos. Os tubos TC são tapados e mantidos à parte até ao passo 15.

9. Adicione **100 µL** de antissoro a todos os tubos, exceto aos tubos NSB e TC

10. Agite cada tubo separadamente num Vortex e incube durante **20-24 horas** a **2-8 °C**.

11. Adicione **500 µL** de **fase sólida de anticorpos duplos bem misturada** a todos os tubos, exceto aos tubos TC. **Este reagente deve ser agitado continuamente com um agitador magnético durante a pipetagem.**

12. Misture por vórtice **cuidadosamente** cada tubo separadamente e incube durante **30-60 min** a **2-8 °C**.

13. Centrifugue durante **15 minutos** a, no mínimo, **1700 x g** a **4 °C**.

14. Aspirar o sobrenadante **imediatamente** após a centrifugação.

15. Conte todos os tubos, incluindo os tubos TC, num contador de gama durante **1 minuto**.

RESUMO DO PROTOCOLO

ETAPAS	CONTAGENS TOTAIS (µL)	NSB (µL)	CALIBRADOR 0 (µL)	CALIBRADORES 1-6 / CONTROLOS (µL)		AMOSTRAS (µL)
Tampão de ensaio	-	200 µL	100 µL	-		-
Calibradores/Controlos	-	-	-	100 µL		-
Amostras diluídas 10x	-	-	-	-		100 µL
Marcador	100 µL					
Antissoro	-	-	100 µL	100 µL	100 µL	
Incubação	Misture com o Vortex e incube durante 20-24 horas a 2-8 °C.					
Fase Sólida com Anticorpos Duplos	-	500 µL				
Incubação	Misture com um vortex e incube durante 30 a 60 minutos a 2-8 °C.					
Separação	Centrifugue durante 15 min (1700 g a 4 °C). Aspirar o sobrenadante.					
Contagem	Conte os tubos durante 1 minuto.					

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

As Boas Práticas de Laboratório Clínico (GCLP) exigem que as amostras de controlo sejam analisadas regularmente para garantir a exatidão e a precisão do ensaio. Recomenda-se a análise das amostras de controlo em cada lote de medições. Estas amostras devem ser processadas conforme indicado no procedimento de ensaio. Recomenda-se que os resultados sejam analisados utilizando métodos estatísticos adequados. Se os resultados obtidos para as amostras de controlo não se situarem dentro do intervalo especificado no rótulo do frasco, os resultados não podem ser utilizados, a menos que tenha sido apresentada uma explicação satisfatória para a discrepância.

Se desejável, cada laboratório pode criar os seus próprios conjuntos de amostras de controlo, que devem ser mantidos congelados em alíquotas. Não congele e descongele mais do que uma vez.

Os critérios de aceitação para a diferença entre os resultados duplicados das amostras devem basear-se nas Boas Práticas de Laboratório Clínico.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1. Calcule a taxa de contagem média (cpm) dos tubos de ligação não específica (NSB) e subtraia-a da taxa de contagem média (cpm) do calibrador, da amostra e dos tubos de controlo (B), bem como da contagem total (TC).
2. Calcule a percentagem $(B-B_{NSB})/(T-B_{NSB})$ para calibradores, amostras e controlos.
3. Uma curva de calibração é gerada através do traçado da percentagem $(B-B_{NSB})/(T-B_{NSB})$ (ordenada) em função da concentração dos calibradores (abscissa).
4. Interpolar as concentrações do analito nas amostras e nos controlos a partir da curva de calibração gerada. A redução de dados assistida por computador simplificará estes cálculos. Caso se opte pelo processamento automático dos resultados, recomenda-se o ajuste da curva através de uma função logística de 4 parâmetros.
5. Multiplique o resultado do teste da amostra por 10.

EXEMPLO DE CURVA PADRÃO

Os dados que se seguem têm carácter meramente ilustrativo e nunca devem ser utilizados em substituição da curva de calibração em tempo real.

		cpm	$(B-B_{NSB})/(T-B_{NSB}) \times 100 (\%)$
Contagem total		24658,0	/
Ligação não específica		617,7	/
Calibradores (nmol/L)	0,0	13 207,0	52,37
	0,22	11819,7	46,60
	0,44	11 354,0	44,66
	0,88	9950,0	38,82
	1,75	8113,0	31,18
	3,50	5756,3	21,37
	7,00	4069,0	14,36

9. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

	Descrição
	Consulte as instruções de utilização (IFU).
	Este kit contém ^{125}I (meia-vida: 60 dias), que emite radiações ionizantes X (28 keV) e γ (35,5 keV). Este produto radioativo só pode ser transferido para e utilizado por pessoas autorizadas; a aquisição, armazenamento, utilização e troca de produtos radioativos estão sujeitos à legislação do país do utilizador final. Em nenhum caso o produto deve ser administrado a seres humanos ou animais. Todas as manipulações de materiais radioativos devem ser realizadas numa área designada, afastada de vias de passagem habituais. Deve ser mantido no laboratório

	Descrição
	um registo de receção e armazenamento de materiais radioativos. O equipamento e a vidraria do laboratório, que possam estar contaminados com substâncias radioativas, devem ser isolados para evitar a contaminação cruzada entre diferentes radioisótopos. Quaisquer derrames radioativos devem ser limpos imediatamente, de acordo com os procedimentos de segurança radiológica. Os resíduos radioativos devem ser eliminados de acordo com os regulamentos locais e as diretrizes das autoridades com jurisdição sobre o laboratório. O cumprimento das regras básicas de segurança radiológica proporciona uma proteção adequada.
	Todos os produtos de origem animal e derivados foram obtidos de animais saudáveis. Os componentes de origem bovina provêm de países onde não foram registados casos de encefalopatia espongiforme bovina (EEB). No entanto, os componentes que contenham substâncias de origem animal devem ser considerados potencialmente infecciosos.
	Este produto contém concentrações de azida inferiores ao nível de perigo, o que, em caso de contacto repetido com o chumbo e o cobre normalmente presentes nos esgotos, pode resultar na formação de compostos sensíveis ao choque. A azida de sódio forma compostos explosivos com metais pesados.
	Não fume, beba, coma nem aplique cosméticos na área de trabalho.
	Para mais informações, consulte Ficha de Dados de Segurança (FDS).
	Respeite as precauções de segurança e as técnicas laboratoriais geralmente reconhecidas ao manusear reagentes e amostras de doentes.
	Não utilize após a data de validade indicada no rótulo (formato AAAA-MM-DD).
	Os reagentes de lotes diferentes do kit não devem ser misturados.
	A concentração do analito numa determinada amostra de um doente, determinada através de ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, na calibração e na especificidade dos reagentes. Os valores medidos com ensaios de diferentes fabricantes não podem ser utilizados de forma intercambiável.

10. LIMITAÇÕES

- Este produto **não** se destina a ser utilizado como **um teste de diagnóstico autónomo**. Os resultados deste teste só devem ser interpretados em conjunto com outras medidas de diagnóstico, sintomas e avaliação clínica.
- Os **componentes** do kit são estáveis até à data de validade, se mantidos nas condições de armazenamento indicadas, e podem ser **reutilizados apenas uma vez**. Prepare uma **curva de calibração para cada análise**; não utilize dados de análises anteriores.
Alterações na aparência física dos reagentes do kit podem indicar instabilidade ou deterioração, o que pode afetar o desempenho. Neste caso, os reagentes do kit **não devem ser reutilizados**.
- Os **anticorpos heterófilos** presentes no sangue humano podem reagir com as imunoglobulinas dos reagentes, interferindo com os *in vitro* imunoensaios. Os doentes que estão habitualmente **expostos a animais ou a produtos derivados de soro animal** podem estar sujeitos a esta interferência e **podem observar-se valores anómalos em caso de presença de anticorpos heterófilos**. Avalie cuidadosamente os resultados dos doentes com suspeita de possuírem estes anticorpos.
Se os resultados não forem consistentes com outras observações clínicas, devem ser solicitadas informações adicionais antes do diagnóstico.

- No contexto do **acompanhamento do doente**, os resultados da CgA devem ser interpretados com **cuidado** e em conjunto com o estado clínico do doente. A variabilidade observada nos níveis de CgA pode ser influenciada, em parte, pela **reprodutibilidade analítica do ensaio**.

11. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ANALÍTICO

Nesta secção são fornecidos dados de desempenho representativos. Os resultados dos ensaios obtidos em laboratórios individuais podem diferir dos dados apresentados.

EXATIDÃO DA MEDIÇÃO

VERACIDADE DA MEDIÇÃO

Na ausência de um procedimento de medição de referência reconhecido ou de material de referência certificado, a veracidade foi avaliada através da **concordância com um método comparador**.

Foi realizado um estudo de comparação de métodos entre o ensaio DiaSource Chromogranin-A-RIA e outro imunoensaio disponível no mercado que mede a CgA, utilizando **30 amostras de soro humano nativo**. As amostras foram classificadas como positivas ou negativas de acordo com os respetivos valores de corte do ensaio. A **Percentagem de Concordância Positiva (PPA) foi de 100%** (IC a 95%: [85,7–100]), e a **percentagem de concordância negativa (NPA) foi de 85,7%** (IC a 95%: [48,7–97,4]).

PRECISÃO DA MEDIÇÃO

3 amostras de soro humano foram analisadas por **3 operadores** ao longo de **5 dias**, com **2 análises por dia**, em **3 réplicas** utilizando **4 lotes de reagentes**, de acordo com as orientações do documento EP05-A3 do CLSI.

Os resultados deste estudo para amostras seleccionadas estão resumidos na seguinte **tabela**:

Lote	Amostra N°	Média (nmol/L)	Repetibilidade (%CV)	Intralaboratorial (%CV)	Reprodutibilidade (%CV)
A	1	3,69	12,8	16,0	24,9
	2	10,87	6,1	13,4	17,1
	3	33,09	9,2	15,1	16,3
B	1	3,65	13,8	16,8	24,0
	2	10,63	5,6	13,0	17,5
	3	32,71	5,3	12,2	14,7
C	1	3,93	7,7	13,1	21,4
	2	12,17	5,0	14,1	26,3
	3	31,06	5,1	13,9	28,3
D	1	3,95	6,8	12,3	23,5
	2	11,85	4,9	12,4	25,4
	3	31,29	4,7	15,0	30,3

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

LIMITE DO BRANCO (LoB)

O Limite do Branco (LoB) para o kit Chromogranin-A-RIA é de 0,26 nmol/L, determinado de acordo com as diretrizes do documento EP17-A2 do CLSI. **Quatro amostras em branco** (tampão de ensaio) foram analisadas por **1 operador** em **5 réplicas** por série em **2 lotes do kit** durante **3 dias**.

LoB	0,26 nmol/L
-----	-------------

LIMITE DE DETECÇÃO (LoD)

O Limite de Detecção (LoD) para o Chromogranin-A-RIA é de 0,71 nmol/L, determinado em conformidade com as diretrizes do documento EP17-A2 do CLSI e com proporções de falsos positivos (α) inferiores a 5% e de falsos negativos (β) inferiores a 5%; com base em **360 determinações**, com **4 amostras em branco** e **10 réplicas de baixo nível** (ou seja, **4 amostras em branco** em **5 réplicas** por execução e **10 amostras de soro humano** com níveis baixos de cromogranina-A em **4 réplicas** por execução, medidas por **1 operador** em **2 lotes do kit** durante **3 dias**); e um LoB de 0,26 nmol/L.

LoD	0,71 nmol/L
-----	-------------

LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LoQ)

O Limite de Quantificação (LoQ) para o kit Chromogranin-A-RIA é de 1,01 nmol/L, determinado em conformidade com as diretrizes do documento EP17 do CLSI, com base em **240 determinações** (ou seja, **10 amostras de soro humano** com baixos níveis de cromogranina-A, medidas por **1 operador** em **4 réplicas** por série em **2 lotes do kit** durante **3 dias**); o LoQ foi determinado como a concentração mais baixa de cromogranina-A que pode ser medida de forma reprodutível com um **objetivo de CV de precisão intermédia de 25%**.

LoQ	1,01 nmol/L
-----	-------------

ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As substâncias potencialmente interferentes foram determinadas de acordo com as orientações dos documentos EP07 e EP37 do CLSI. As substâncias testadas quanto ao seu potencial de interferência no desempenho do ensaio (ver **Tabela**) foram adicionadas a **3 amostras diferentes de soro humano** com concentrações de cromogranina-A entre 2,25 e 41,69 nmol/L. Demonstrou-se que estas substâncias **não apresentam interferência nas concentrações esperadas na população de doentes a que o ensaio se destina**, conforme **indicado** na **Tabela** seguinte:

Substância interferente	Concentrações testadas
Bilirrubina conjugada	40 mg/dL

Substância interferente	Concentrações testadas
Bilirrubina não conjugada	40 mg/dL
Glicose	1000 mg/dL
Fator reumatoide	100 UI/mL
Colesterol total	400 mg/dL
Triglicéridos	1500 mg/dL
Hemoglobina	250 - 1000 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	2,04 mg/dL
Paracetamol	15,6 mg/dL
Ibuprofeno	21,9 mg/dL
Omeprazol	0,84 mg/dL
Ranitidina	1,05 mg/dL
Hidrocortisona	30 µg/dL

SUBSTÂNCIAS COM REAÇÃO CRUZADA

As substâncias com potencial de reação cruzada (ou seja, interferentes estruturalmente semelhantes ao antigênio em questão) foram testadas de acordo com as orientações do documento EP07 do CLSI. As substâncias analisadas quanto ao seu potencial de interferência no desempenho do ensaio (ver **Tabela**) foram adicionadas a **3 amostras diferentes de soro humano** com concentrações de cromogranina-A entre 2,86 e 35,42 nmol/L. Demonstrou-se que estas substâncias **não apresentam reatividade cruzada significativa nas concentrações indicadas** na **Tabela** seguinte:

Substância interferente	Concentrações testadas
Cromogranina B (CgB)	12,76 nmol/L
Cromogranina C (CgC)	12,76 nmol/L

TRAÇABILIDADE METROLÓGICA DOS VALORES DOS CALIBRADORES E MATERIAIS DE CONTROLO

O kit Chromogranin-A-RIA é calibrado com proteína cromogranina-A humana recombinante disponível no mercado. Esta calibração é verificada regularmente através de uma análise de regressão e de uma comparação com os resultados teoricamente esperados, utilizando um lote de reagentes.

Os resultados da medição do cromogranina-A (CgA) são apresentados em nmol/L.

A incerteza dos valores atribuídos aos calibradores do kit Chromogranin-A-RIA é de %ru Cal = 15,7%.

INTERVALO DE MEDIÇÃO DO ENSAIO

LINEARIDADE

O kit foi avaliado quanto à linearidade no intervalo de **2,2 a 70 nmol/L** e demonstrou **ser linear**, com uma **não linearidade máxima admissível de 15%**, de acordo com as diretrizes do documento CLSI EP06.

DEFINIÇÃO DO VALOR DE CORTE DO ENSAIO

O valor-limite do ensaio foi determinado, com base numa pesquisa bibliográfica, em 4,7 nmol/L de concentração de cromogranina A (Belli *et al.*, 2009; Molina *et al.*, 2011; Stridsberg *et al.*, 2003; Hoej *et al.*, 2014).

12. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO CLÍNICO

INTERVALO DE REFERÊNCIA

Foi estabelecido um intervalo de referência com base em **amostras de soro humano provenientes de 133 indivíduos presumivelmente saudáveis**.

As características do intervalo de referência são apresentadas na seguinte **tabela**:

Identificação	N	Média (nmol/L)	Mediana (nmol/L)	Desvio-padrão (nmol/L)	Limite superior a 95% de referência (nmol/L)	IC de 90% (nmol/L)
Indivíduos presumivelmente saudáveis	133	2,820	2,600	0,878	4,46	3,90 - 5,00

Nesta secção são apresentados dados representativos de desempenho. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os valores dos analitos devem ser avaliados em conjunto com os sintomas clínicos e/ou outros parâmetros laboratoriais. Os valores superiores ao limite de referência superior de 95%, conforme indicado na tabela acima, devem ser considerados patológicos no que diz respeito à utilização prevista e tendo em conta as limitações.

Nota: Recomenda-se que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de referência com base em grupos representativos de doentes e/ou verifique a validade dos dados do kit de teste comercial do fabricante.

ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE DIAGNÓSTICAS

Vários estudos apoiam a utilização do teste da cromogranina A (CgA) com o kit Chromogranin-A-RIA para o diagnóstico, monitorização e acompanhamento pós-operatório de tumores neuroendócrinos (TNE). Em particular, o estudo de Belli et al. (Belli et al., 2009) relatou um elevado desempenho clínico, ressaltando uma especificidade (100%) e sensibilidade (92,3%) elevadas em diferentes populações, incluindo indivíduos saudáveis e doentes com TNE gastroenteropancreáticos (TNE-GEP) localizados ou metastáticos. Este estudo destacou a utilidade da medição da CgA tanto para o diagnóstico como para o acompanhamento dos TNEs-GEP. No entanto, Molina et al. (Molina et al., 2011), num estudo comparativo que avaliou três imunoensaios diferentes para a medição da CgA, relataram uma especificidade (88%) e sensibilidade (65,2%) mais baixas para o kit Chromogranin-A-RIA, indicando um desempenho diagnóstico mais moderado para fins de diagnóstico e rastreio.

Como uma boa correlação entre amostras de plasma e soro foi demonstrada por Glinicki et al. (Glinicki et al., 2015), estudos clínicos adicionais utilizando o kit Chromogranin-A-RIA com amostras de plasma também foram considerados. Estudos realizados por Stridsberg et al. (Stridsberg et al., 2003) e Hoej et al. (Hoej et al., 2014) demonstraram ainda que a cromogranina A é um importante marcador tumoral para os TNE. O primeiro estudo relatou uma sensibilidade diagnóstica de 93%, uma especificidade de 88%, um valor preditivo positivo de 93% e um valor preditivo negativo de 88%. O segundo estudo relatou uma sensibilidade de 79%; no entanto, este estudo incluiu apenas doentes com TNE e não incluiu um grupo de controlo.

De um modo geral, a média destes resultados é consistente com a meta-análise da CgA realizada por Yang et al. (Yang et al., 2015). No que diz respeito aos estudos baseados em RIA incluídos nesta análise, a medição da CgA em doentes com TNE e em controlos saudáveis demonstrou uma sensibilidade e especificidade combinadas de 0,74 e 0,95, respetivamente.

13. AVISO IMPORTANTE

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado à DIAsource ImmunoAssays S.A. e à autoridade competente do país em que o utilizador e/ou o doente se encontra.

O Resumo de Segurança e Desempenho está disponível mediante pedido.

14. BIBLIOGRAFIA

Belli, Susana Haydée, Adriana Oneto, Claudio Aranda, et al. 2009. "Chromogranin A as a Biochemical Marker for the Management of Neuroendocrine Tumors: A Multicenter Study Developed in Argentina". *Acta Gastroenterol Latinoam* 39 (3).

Bevere, Michele, Francesca Masetto, Maria Elena Carazzolo, et al. 2023. "An Overview of Circulating Biomarkers in Neuroendocrine Neoplasms: A Clinical Guide." *Diagnostics* 13 (17): 2820. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13172820>.

Ciobanu, Oana, Sorina Martin, and Simona Fica. 2021. "Perspectives on the Diagnostic, Predictive and Prognostic Markers of Neuroendocrine Neoplasms (Review)." *Experimental and Therapeutic Medicine* 22 (6): 1479. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10914>.

Glinicki, Piotr, Wojciech Jeske, Renata Kapuścińska, and Wojciech Zgliczyński. 2015. "Comparison of Chromogranin A (CgA) Levels in Serum and Plasma (EDTA2K) and the Respective Reference

Ranges in Healthy Males.” *Endokrynologia Polska* 66 (1): 53–56. <https://doi.org/10.5603/EP.2015.0009>.

Høj, Lise Brehm, Tina Parkner, Cindy Soendersoe Knudsen, and Henning Grønbaek. 2014. “A Comparison of Reel Chromogranin A Assays in Patients with Neuroendocrine Tumours.” *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases* 23 (4): 419–24. <https://doi.org/10.15403/jgld.2014.1121.234.3ca>.

Koffas, Apostolos, Alexandros Giakoustidis, Apostolis Papaefthymiou, et al. 2023. “Diagnostic Work-up and Advancement in the Diagnosis of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms.” *Frontiers in Surgery* 10 (March): 1064145. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2023.1064145>.

Komarnicki, Paweł, Jan Musiałkiewicz, Alicja Stańska, et al. 2022. “Circulating Neuroendocrine Tumor Biomarkers: Past, Present and Future.” *Journal of Clinical Medicine* 11 (19): 5542. <https://doi.org/10.3390/jcm11195542>.

Molina, Rafael, Elias Alvarez, Angeles Aniel-Quiroga, et al. 2011. “Evaluation of Chromogranin A Determined by Three Different Procedures in Patients with Benign Diseases, Neuroendocrine Tumors and Other Malignancies.” *Tumor Biology* 32 (1): 13–22. <https://doi.org/10.1007/s13277-010-0085-x>.

Mukherjee, Sreetama, Sunita Vagha, and Manish Mukherjee. 2024. “Various Markers of Neuroendocrine Tumor: A Narrative Review.” *Cureus, ahead of print*, August 22. <https://doi.org/10.7759/cureus.67493>.

Regolo, Matteo, Nicolas Cardaci, Clara Salmeri, et al. 2023. “Pancreatic Neuroendocrine Tumor (Pan-NET) Presented by Abdominal Pain: A Case Report and Literature Review.” *Journal of Clinical Medicine* 12 (20): 6617. <https://doi.org/10.3390/jcm12206617>.

Stridsberg, M., B. Eriksson, K. Oberg, and Et Janson. 2003. “A Comparison between Three Commercial Kits for Chromogranin A Measurements.” *Journal of Endocrinology* 177 (2): 337–41. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1770337>.

Thirkettle, Sally, Patrycja Blaszczyk, Rachel Evans, et al. 2023. “Stability Assessment of Serum Tumour Markers: Calcitonin, Chromogranin A, Thyroglobulin and Anti-Thyroglobulin Antibodies.” *Annals of Clinical Biochemistry* 60 (3): 212–16. <https://doi.org/10.1177/00045632231160371>.

Yang, Xin, Yuan Yang, Zhilu Li, et al. 2015. “Diagnostic Value of Circulating Chromogranin A for Neuroendocrine Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *PLOS ONE* 10 (4): e0124884. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124884>.

15. SÍMBOLOS

Os símbolos utilizados nas Instruções de Utilização e na rotulagem do produto do kit DiaSource Chromogranin-A-RIA estão resumidos na tabela seguinte, com exceção dos símbolos dos componentes do kit que se encontram na secção «4. MATERIAL FORNECIDO»:

Símbolo	Título	Descrição
	Produtos biológicos de origem animal	Indica um <i>dispositivo médico de diagnóstico in vitro</i> que contém tecidos ou células biológicas, ou elementos derivados de origem animal.

Símbolo	Título	Descrição
	Produto biológico de origem humana	Indica um <i>dispositivo médico de diagnóstico in vitro</i> que contém tecidos ou células biológicas, ou elementos derivados de origem humana.
	Fabricante	Indica o fabricante do dispositivo médico. Este símbolo é acompanhado pelo nome e endereço do fabricante, que figuram junto ao símbolo.
	Riscos biológicos	Indica que existem potenciais riscos biológicos associados ao dispositivo médico.
	Data de fabrico	Indica a data em que o dispositivo médico foi fabricado. A data é expressa no formato AAAA-MM-DD.
	Número de catálogo	Indica o número de catálogo do fabricante.
	Número do lote	Indica o número de lote do fabricante.
	Limite de temperatura	Indica as temperaturas mínima e máxima às quais o dispositivo médico pode ser exposto com segurança, por exemplo, 2 °C a 8 °C.
	Não reutilizar	Indica um componente ou kit destinado a utilização única.
	Contém o suficiente para	Indica o número total de testes que podem ser realizados com o dispositivo médico, por exemplo, 96.
	Tradução	Indica que a informação original do dispositivo médico foi traduzida, para além da informação original ou em substituição desta.
	Identificação Única de Dispositivos	Indica um portador que contém informações sobre uma identificação única do dispositivo.
	Radioactive	Indica a presença de uma substância radioativa.
	Produto liofilizado	Indica que o produto é liofilizado.
	Reconstituição	Indica que o produto deve ser reconstituído no volume indicado na caixa à direita.
	Marcação CE	Marcação de conformidade CE, em conformidade com o Regulamento (UE) n.º 2017/746 relativo a <i>dispositivos médicos para diagnóstico in vitro</i> , com o número de registo do organismo notificado.
	<i>Dispositivo médico de diagnóstico in vitro</i>	Indica um dispositivo médico destinado a ser utilizado como <i>dispositivo médico de diagnóstico in vitro</i> .
	Não se destina a autodiagnóstico	Indica que o produto não pode ser utilizado pelo próprio doente, devendo ser utilizado num laboratório.
	Data de validade	Indica a data a partir da qual o dispositivo médico não deve continuar a ser utilizado. A data é expressa no formato AAAA-MM-DD.

Símbolo	Título	Descrição
	Consulte as instruções de utilização	Indica que é necessário consultar o manual de instruções.
	Produtos derivados do sangue ou do plasma humano	Indica um dispositivo médico para diagnóstico in vitro que contém ou incorpora produtos derivados do sangue ou do plasma humano.
	Irritante, sensibilizante, nocivo	Trata-se de substâncias que, quando absorvidas pela pele, podem dar origem a uma reação de hipersensibilização (hipersensibilidade) tal que a exposição subsequente à substância ou ao preparado provocará efeitos adversos característicos.